

# 犬副流感病毒鼻内感染雪貂的研究

Beate Durchfla

Durchfla, B

周新 16

5858.292.5

犬副流感病毒 (CPIV) 于1976年首次分离于患呼吸道病的犬, 为副粘病毒科副粘病毒属, 与猿猴的病毒5 (SV5)、人SV5及人副流感病毒有近缘关系。这些副粘病毒有广泛的宿主, 包括豚鼠、仓鼠和大鼠。

家养雪貂是重要的实验动物, 并且作为家庭宠物不断受到欢迎。雪貂对犬瘟热、狂犬病、人流感的几个病毒株和阿留申病易感。此外, 有人已进行了用伪狂犬病和牛传染性鼻气管炎 (IBR) 病毒实验感染雪貂。此外, 已从临床正常的雪貂分离到IBR病毒。

以前使用非肠道途径感染CPIV研究表明, 雪貂易感CPIV, 出现轻微的呼吸道综合症。因此, 这表明, 雪貂对气溶胶感染CPIV可能具有自然的易感性。

本研究目的是进一步确定CPIV实验感染的宿主范围, 特别是对雪貂的感染, 以及通过鼻腔途径实验感染所引起的疾病的临床和病理特征。

## 材料和方法

**病毒株和血清学** 本研究使用的犬副流感病毒株 (CPIV, 78—238株), 分离于后肢局部麻痹的患犬脑脊髓液的犬, 病毒传代和体外培养方法按其他人描述的在非洲绿猴肾 (Vero) 细胞上进行。用血凝抑制 (HI) 试验确定血清样本中特异抗体。

**雪貂的饲养和接种** 使用雌、雄37只7周龄雪貂。在实验室饲养, 喂以标准的商品饲料。这些雪貂未接种CPIV疫苗, 也无CPIV特异HI抗体。24只雪貂用酮亚胺甲苯噻嗪制剂麻醉后, 用 $0.3\text{ml}10^{7.5}\text{TCID}_{50}\text{CPIV}$ 两侧鼻内接种。12只接种CPIV的雪貂

在感染前3天和感染后2, 4, 6和9天按1kg体重腹膜内注射10mg环磷酰胺。8只对照雪貂隔离饲养; 其中5只模拟感染 $0.3\text{ml}$ 正常Vero细胞破碎物, 3只单独给以环磷酰胺。

**病理组织学** 在感染后4, 8, 14, 17, 23和36天, 以酮亚胺甲苯噻嗪制剂麻醉后, 随即静脉注射大剂量的巴比妥酸盐, 每天杀死2只。解剖时, 取鼻腔、气管和肺, 并以10%非缓冲福尔马林固定。10只雪貂用4%的三聚甲醛灌服, 随即用pH7.4的米隆氏缓冲戊二醛灌服。摘下的器官于 $4^\circ\text{C}$ 贮存在2%戊二醛液中, 对组织学检查的组织脱水, 石蜡包埋, 切成 $5\mu\text{m}$ 厚切片, 用HE染色, 矿物组织以10%的EDTA— $\text{Na}_2$ 脱钙2天。

**免疫细胞化学** 免疫细胞化学证实固定组织切片中的病毒抗原按BAUMGARTNER等描述的方法进行并稍加改进。主要方法为: 福尔马林固定和石蜡包埋, 制成 $5\mu\text{m}$ 厚切片, 在二甲苯中脱蜡, 然后于酒精中再水化。内源性过氧化物酶以0.5%甲醇液于室温30分钟阻断。然后将切片用Tris缓冲盐水 (TBS) 冲洗20分钟。所有的抗体都以TBS稀释。切片用1:10稀释的正常小鼠血清孵育10分钟, 随即用一级大鼠单克隆抗CPIV抗体于 $4^\circ\text{C}$ 孵育24小时。切片用TBS冲洗, 然后以1:10稀释的小鼠抗大鼠IgG(H+L)孵育30分钟, 以TBS冲洗, 然后以1:500倍稀释的大鼠抗氧化物酶-抗过氧化物酶复合物孵育30分钟, 再以TBS冲洗。阳性反应通过二氨基联苯胺四盐酸盐 (DAB)— $\text{H}_2\text{O}_2$ 沉淀证实。切片在TBS、蒸馏水中冲洗, 然后以帕帕尼科拉乌氏染色20秒

18377

钟,以自来水冲洗20分钟,脱水后,加上盖玻片,在普通显微镜下检查切片,阴性对照切片以同样方式处理,并以对照腹水代替一抗。

**扫描电镜** 扫描电镜观察选择气管腹侧面前后三个部位,在乙醇和醋酸异戊酯混合液中进行逐级脱水,然后在Balzers联合临界点干燥器上从纯醋酸异戊酯中通过液体二氧化碳进行临界点干燥。然后,标本在铝膜上固定,并且在Balzers联合喷镀仪上进行镀金,用西门斯自动扫描仪检查。

## 结 果

**临床、血清学和组织病理检查** 实验的两组雪貂,约50%的临床症状是轻微的,并且局限于上呼吸道。几乎没有喷嚏和咳嗽症状。常见到的临床症状是在感染后3和7天由气管压缩刺激引起的咳嗽。对照组正常。

两组实验雪貂,未见眼观病变。镜检可见明显的气管炎症和变性,而鼻腔病变不明显。支气管细支气管和肺组织未见病变。同样,对照组包括气管组织,未见病变。

单独感染CPIV的雪貂,于感染后4,8和14天,仅有轻微的病变。这些变化包括渗出扩散或在气管上皮和粘膜下病灶积聚淋巴细胞和巨噬细胞。此外,在感染后8天,气管上皮细胞的空泡变性最明显。在感染后17天或以后,见不到组织学病变。

感染CPIV并给以环磷酰胺的雪貂,于感染后4和8天,气管有明显的病变,且于感染后36天仍可见到中等程度病变。病灶上皮内淋巴细胞、巨噬细胞和不清楚的单个上皮细胞浸润。还发现粘膜下不同数量的散在的单核细胞浸润,上皮细胞空泡变性和纤毛损失。于感染后14天到23和36天,可见中等程度的上皮内中性细胞浸润。病灶粘膜下和上皮内仍有单核细胞和中性细胞积聚。

接种前,所有雪貂血清CPIV特异HI抗

体为阴性。单独感染CPIV的雪貂于感染后第二周产生HI抗体,滴度为1:16到1:32。给环磷酰胺制剂并用CPIV感染的雪貂未检测到HI抗体。

**免疫细胞化学** 两组实验雪貂,CPIV抗原局限于气管上皮细胞;鼻腔和肺缺乏病毒抗原。阳性反应标志是,于细胞质内呈现黑褐色的、粗糙到颗粒状的DAB反应产物,多局限于气管上皮的顶端。在气管的背侧壁,此处软骨被一层厚的平滑肌带取代,容易察到病毒抗原。单独感染CPIV的雪貂,仅于感染后4天能检测到CPIV抗原。呈弱染色并且很少局限于气管上皮细胞。给以环磷酰胺的雪貂,感染CPIV4和8天,呈现阳性反应。两实验组和对照组雪貂气管横切面CPIV抗原阴性。

**扫描电镜** 对照雪貂,气管腔表面由无数的纤毛细胞组成。此外,几乎没有无纤毛的充填细胞,很可能见到杯状细胞和刷状细胞。杯状细胞在细胞边缘而不在中央凸出部,以短的微绒毛为其特征,而刷状细胞有更明显的微绒毛边缘。免疫活性雪貂,病变是微小的并仅于感染后4和14天检测到。这些雪貂,多数上皮细胞和纤毛的数量有轻微的减少,可见几个细胞纤毛完全缺损。偶尔可见类巨噬细胞粘附于腔的表面。感染后17、23和36天,康复动物没有病变痕迹。相反,给以环磷酰胺并感染CPIV的雪貂,于感染后4和17天之间,呈现中等程度的多病灶和纤毛不愈合。然而,微绒毛腔的凸出物仍存在。到感染后23和36天,可见纤毛重新出现,但纤毛损伤的残迹可见。免疫抑制雪貂比免疫活性雪貂,更常见类巨噬细胞粘附于腔表面。

## 讨 论

研究表明,雪貂对CPIV鼻内易感。免疫活性和给以环磷酰胺的雪貂发展为轻微的自限性上呼吸道感染。感染而引起的病变

# 家兔饲料成分—聚氨基葡糖

翼抗生

5829.1

**摘要** 探讨一种家畜饲料的成分—聚氨基葡糖。1. 每kg体重计每天饲喂家兔<0.8g的聚氨基葡糖,未发现异常现象;2. 家兔能消化聚氨基葡糖;35~83%每kg体重计每天饲喂家兔0.7~0.8克聚氨基葡糖可抑制家兔血浆中胆固醇、甘油三脂和游离脂肪酸值的增加,但不饲喂甲壳质。甲壳质是1-4链-2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-葡萄糖,聚氨基葡糖是甲壳质脱n-乙酰胺的产物,两者均无毒性。聚氨基葡糖具有降低血浆胆固醇、免疫调理和对传染病的免疫等活

性。

最新的报导证实,以适宜的口服剂量饲喂家兔聚氨基葡糖是安全的,易消化和能降低血脂。但因聚氨基葡糖不能被完全消化,饲喂过量还会引起家畜生理机能的紊乱。

## 材料与方 法

蟹壳的聚氨基葡糖(flonac-N)从Kyowa yushi, Chiba中获得,n-乙酰胺基的取代程度为0.25,实验中通过聚氨基葡糖与硬脂酸的乙酰化作用,制备聚氨基葡糖。

在免疫活性雪貂是轻微的,而给以环磷酰胺免疫抑制剂的感染雪貂是中等程度的。病变以单核细胞在气管内而很少在鼻腔内浸润为特征。在支气管和肺未见病变。同样,病毒传播局限于气管上皮,而鼻腔、支气管、细支气管和肺缺乏病毒抗原,而且,包括脑在内的其他器官没有经血传播病毒的免疫细胞化学证据。

单独感染CPIV的雪貂,气管病变是轻微的,并以单核细胞积聚和纤毛的微小损失为特征。于感染后17天或以上,处于康复期的雪貂,正常的上皮组织和纤毛得到重新修补。感染CPIV雪貂的症状、病程和引起病变的程度和特征及病毒抗原的分布,可使人联想到犬的CPIV感染。在犬,人工鼻内感染CPIV临床症状由不易察觉到轻微表现。这些差异很可能是由于各种因素包括病毒株不同,病毒剂量或环境因素所致。相反,自然感染CPIV的犬常由于合并感染而显得复杂,患犬呈现更严重的临床症状。在雪貂,病毒传播局限于气管上皮细胞,而在犬,证实了病毒抗原在鼻粘膜的纤毛上皮、气管和

肺。本研究未能证实CPIV抗原在鼻粘膜和肺是未料到的。一般地说,CPIV抗原不会因采用脱钙程序、组织处理和加工而改变引起免疫细胞化学阴性结果。

给以环磷酰胺并感染CPIV的雪貂,病毒抗原存在的时间是较长的,而且更明显,并伴随着组织病变,而且扫描电镜变化是明显的。因此,检查到的气管粘膜中性细胞浸润,很可能是由于细菌感染。这些结果说明,免疫抑制雪貂对CPIV感染比免疫活性雪貂更易感,同样,由于内源性高雌激素血症而引起的骨髓机能障碍和伴随的再生障碍性贫血是未繁殖母雪貂的常见病。以前研究表明,这些雪貂对病原更易感。

本研究资料虽是初步的,但说明雪貂对CPIV易感,并且这种犬病毒能感染其它动物。然而,很有必要进一步进行血清流行病学调查和病毒传播的研究,以确定本文结果的意义及雪貂是否也发生CPIV自然感染。

阎新华 译自: J. Vet. Med. B. 38. 505~512  
(1991)

曲维江 校

10378