

病毒学集刊

ACTA VIROLOGICA SINICA

中国科学院武汉病毒研究所编辑

5

科学出版社

病毒学导论

INTRODUCTION TO VIROLOGY

——

1

· · · · ·

病毒学集刊编辑委员会

高尚荫(主编)	王鸣歧	司穉东	田 波	田慕贞
朱既明	吴章琦(常编)	卢文钧	周家炽	庞其方
林放涛	张立人	郭辉玉	谢天恩(副主编)	裘维蕃
蔡宜权	廖延雄			

EDITORIAL BOARD OF ACTA VIROLOGICA SINICA

Gao Shangyin (Editor-in-Chief) Wang Mingqi Si Zhidong Tian Bo
Tian Muzhen Zhu Jiming Wu Zhangqi (Managing Editor) Lu Wenjun
Zhou Jjachi Pang Qi-fang Lin Fangtao Zhang Liren Guo Huiyu
Xie Tianen (Associate Editor) Qiu Weipan Cai Yiquan Liao Yanxiong

病毒学集刊

ACTA VIROLOGICA SINICA

中国科学院武汉病毒研究所编辑

5

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1987 年 6 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

1987 年 6 月第一次印刷 印张: 16 1/2

印数: 0001—1,800 字数: 353,000

统一书号: 13031·3528

本社书号: 4746·13—9

定价: 3.90 元

科技新书目: 144-32

目 录

专 论

- 正痘病毒属及其与啮齿类动物的关系.....张明丽 邓合黎 王权业 (1)
病毒囊膜的糖蛋白.....方思明 (11)

研 究 报 告

- 痘苗病毒在去核细胞中的复制与发生.....翟中和 何大澄 (19)
甜菜丛根病病原的研究
I. 甜菜坏死黄脉病毒的提取和电镜观察.....
.....张鹤龄 郭素华 邓 峰 翟惠萍 (29)
NFU₁-BHK 疫苗及其他实验条件对疱疹 II 型病毒诱发宫颈癌的影响
.....董长垣 陈敏海 (35)
太子参花叶病毒的研究
I. 病毒的分离纯化与血清学试验.....
.....陈绳亮 陈棣华 赵怀宇 张立人 刘清琪 (45)
某些理化因子对四株流感病毒血凝素 (HA) 活性的影响.....杨小平 柳元元 (51)
几株甲型流感病毒神经氨酸酶若干理化性状的研究.....王淑凤 柳元元 (59)
限制性内切酶分析用于杆状病毒的鉴定.....
.....蔡宜权 陈丽德 闵淑琴 柯丽华 陈少俊 赵毅文 (67)
森林脑炎减毒活疫苗的研究
III. 减毒株的生物学性状和地鼠口服免疫实验研究
.....黄永成 曹一鸣 **辛 钧** (73)
猪白细胞干扰素的产生及其抗病毒作用.....
.....罗 经 王汉中 杨学楼 吴旭初 黄文林 (81)
水稻矮缩病毒微量固相放射免疫分析法的建立及其介体昆虫带毒率的检测...
.....金子渔 倪竹如 黄水淼 林瑞芬 陈声祥 (89)
用 ELISA 法定量测定乙型肝炎病人含 HB_sAg 的循环免疫复合物 (HB_sIC)
.....汪利平 冯根宝 李 宁 武建国 (97)
牛溃疡性乳头炎疱疹病毒 (BHMV) 的形态发生学研究
.....杨盛华 武银莲 孙思贵 曹广强 (105)
巨细胞病毒感染人群免疫水平的检测.....王海江 房益兰 段明武 (113)
马传染性贫血病毒(弱毒)形态的电子显微镜研究.....

-李 成 王继科 谷宁林 刘树森 姜绍德 (121)
应用白纹伊蚊 C6/36 细胞悬浮培养增殖登革病毒
-张茂金 王 津 朱关福 (129)
从病人分离的肾综合征出血热 (HFRS) 病毒的理化及生物学性状研究.....
-李钟铎 宋光昌 何锦芳 李德荣 朱关福 (135)
用 A-549 细胞系直接从病人血清中分离肾综合征出血热 (HFRS) 病毒.....
-倪大石
杨造伦 沈宏开 余荣汉 周 宁 陈云华 朱昌福 杨世庄 张式其 (143)
用人二倍体细胞制备流行性乙型脑炎灭活疫苗的研究.....
-丁志芬 孙 勉 常振彦 庞成华 顾佩韦 (135)
红霉素链霉菌噬菌体的研究.....曹文伟 张楚佳 刘金屏 (159)
人腺病毒 5 型 DNA EcoRI-C 片段无性繁殖系的建立.....
-董永坤 杨小平 高亚军 李景赞 柳元元 蔡美英 (171)
用四种不同方法选育流感活疫苗毒种的观察.....王桂秋
高保兰 张育琴 佟忠维 孟志华 张海莲 戚艺华 李光利 章以浩 (177)
感染病毒的烟叶组织中双链 RNA 的放射免疫测定康良仪 陈开英 (181)
庆丰链霉菌温和性噬菌体的分离和特性.....郑幼霞 王洪洲 (191)
油桐尺蠖核型多角体病毒基因组的物理图谱.....
-丁达明 周咏芝 李先强 张益民 谭惠青 (197)
南瓜花叶病毒 (SqMV) 的某些性质及其酶联免疫吸附测定.....
-毕 圻 徐海燕 孙 怡 王志民 (209)
产生抗登革热 II 型病毒单克隆抗体杂交瘤细胞株的建立
-刘乐和 江丽芳 严咏楷 郭辉玉 罗瑞仙 林梅伦 邓衡娜 (215)
I 型单纯疱疹病毒亚单位疫苗对 II 型单纯疱疹病毒潜伏感染的预防作用...陈
敏海 吴建国 陈保平 陈 晓 刘汉燕 G. R. B. Skinner C. E. Hartley (221)
庆丰链霉菌烈性噬菌体 ϕ SQ1 的分离及其特性.....王洪洲 郑幼霞 (229)
家蚕、蓖麻蚕、柞蚕核型多角体病毒血清学研究.....智再新 朱必春 (235)

简 报

- 快速免疫电泳对乙型肝炎病毒携带者的筛选价值.....武建国 黄福林 (241)
胃酶消化法测定肝炎病人含 HB_sAg 循环免疫复合物
-齐 名 武建国 冯根宝 李 宁 (243)
弱毒疫苗 N₁₄ 对保护地番茄的免疫效果
-王先彬 周桂珍 姜宝泉 任 为 张秀华 田 波 (245)
烟台市应用弱毒疫苗 S₅₁ 和 N₁₄ 防治辣椒花叶病毒病的试验
-仲崇良 张秀华 田 波 (251)

ACTA VIROLOGICA SINICA No. 5

CONTENTS

MONOGRAPHS

- Orthopovirus and its Relation Between Rodents
 Zhang Mingli Deng Heli Wang Quanye (1)
 The Glycoproteins of Viral Envelopes Fang Siming (11)

RESEARCH PAPERS

- The Replication of Vaccinia Virus in Enucleated Cells
 Zhai Zhonghe He Dacheng (28)
 Studies on the Pathogen of Rhizomania of Sugar Beet I. Partial Purification
 and Electron Microscopy of Beet Necrotic Yellow Vein Virus
 Zhang Heling Guo Suhua Deng Feng Zhai Huiping (34)
 Effects of the NFU₁-BHK Vaccine and Other Experimental Conditions on Cer-
 vical Cancer Development Induced by Herpes Simplex Virus Type 2
 Dong Changyuan Chen Minhui (44)
 Study of *Taizishen mosaic* Virus I. Isolation, Purification and Serology Test of
 Virus
 Chen Shengliang Chen Dihua Zhao Huaiyu Zhang Liren Liu Qingqi (49)
 Effects of Some Physical and Chemical Agents on the HA Activities of Four
 Strains of Influenza A Virus
 Yang Xiaoping Liu Yuanyuan (57)
 Comparative Studies of Some Physical and Chemical Properties of Neuramini-
 dase of Four Strains of Type A Influenza Viruses
 Wang Shufeng Liu Yuanyuan (65)
 The Application of Restriction Endonuclease Analysis to Identify Baculoviruses...
 Cai Yiquan Chen Lide Min Shuqin Ke Lihua Chen Shaojun Zhao Yiwen (72)
 Studies on Attenuated Tick-borne Encephalitis Vaccine III. Biological Charac-
 teristics of Attenuated Strain and Experimental Oral Immunization in Hams-
 ters Huang Yongcheng Cao Yiming Xin Jun (80)
 Production and Antiviral Effect of Porcine Leukocyte Interferon
 Luo Jing Wang Hanzhong Yang Xueluo Wu Xuchu Huang Wenlin (88)
 Establishment of Micro-spria for Rice Dwarf Virus and the Detecting of Viru-
 liferous Insect Vector
 Jin Ziyu Ni Zhuru Huang Shuimiao Lin Ruifen Chen Shengxiang (96)
 Quantitative Detection of HB_sAg-Containing Soluble Immune Complexes (HB_sIC)
 by Elisa in Patients with Hepatitis B

- Wang Liping Feng Genbao Li Ning Wu Jianguo (103)
 A Study on Morphogenesis of Bovine Herpes Mammillitis Virus (BHMV)
- Yang Shenghua Wu Yinlian Sun Engui Cao Guangqiang (112)
 Measurement of Immune Levels in Cases Infected by CMV
- Wang Haijiang Fang Yilan Duan Mingwu (119)
 Electron Microscopic Studies on an Attenuated Strain of Equine Infectious
 Anemia Virus
- Li Cheng Wang Jike Gu Shoulin Liu Shushen Jiang Shaode (128)
 Suspension Culture of Mosquito Cells for Replication of Dengue Viruses.....
-Zhang Maojin Wang Jing Zhu Guanfu (133)
 A Study of Some Physico-chemical and Biological Properties of the Viruses Iso-
 lated from Patients with Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (HFRS)
- Li Zhongduo Song Guangchang He Jinfang Li Derong Zhu Guanfu (141)
 Direct Isolation of HFRS Virus from Patients' Sera with A-549 Cell Line ...
- Ni Dashi Yang Zaolum Shan Hongkai Yu Ronghan
 Zhon Ning Chen Yunhau Zhu Changfu Yang Shizhung Zhan Shiqi (151)
 Studies on Production of Inactivated Japanese B Encephalitis Vaccine from Hu-
 man Diploid Cells
-Ding Zhifen Sun Mian Chang Zhenyan Pang Chenghua Gu Peiwei (158)
 Studies on Phage of *Streptomyces erythreus*
- Cao Wenwei Zhang Chujia Liu Jinping (169)
 The Establishment of Cloning of Human Adenovirus Type 5 DNA EcoRI-C
 Fragment.....Dong Yongkun
- Yang Xiaoping Guo Yajun Li Jingzan Liu Yuanyuan Chai Meiyang (175)
 Observation on Selection of Live Flu Vaccine by Means of 4 Kinds of Method
-Wang Guiqiu Gao Baolan Zhang Yuqin Tong
 Zhongwei Meng Zhihua Zhang Hailian Qi Yihua Li Guangli Zhang Yihao (180)
 Radioimmunoassay of Double-stranded RNA in Virus-infected Tobacco Leaves...
- Kang Liangyi Chen Kaiying (189)
 Isolation and Characterization of Temperate Phage of *Streptomyces qingfengmy-*
ceticus.....Zheng Youxia Wang Hongzhou (196)
- Physical Maps of the Buzura Suppressaria Nuclear Polyhedrosis Virus Genome
 ...Ding Daming Zhou Yongzhi Li Xianqiang Zhang Yiming Tan Huiqing (208)
 Some Properties of SQMV and ELISA
- Bi Qi Xu Haiyan Sun Yi Wang Zhimin (214)
 Hybridoma Cell Lines Secreting Monoclonal Antibodies Specific for Dengue
 Virus Types 2..... Liu Lehe Jiang
- Lifang Yan Yongkai Guo Huiyu Luo Ruixian Lin Meilun Deng Hengna (219)
 Falling in Prevention of HSV-2 Latency in Sensory Ganglia of Mice with an
 Inactivated Subunit Vaccine Ac NFU-1 (S⁻) BHK Prepared from HSV-1
-Chen Minhui Wu Jianguo
 Chen Baopin Chen Xiao Liu Hanyan G. R. B. Skinner C. H. Hartley (227)
 Isolation and Characterization of a Virulent Actinophage ϕ SQ1 on *Streptomyces*
qingfengmyces..... Wang Hongzhou Zheng Youxia (234)

-
- Study on the Serology of Nuclear Polyhedrosis Virus of Silkworm *Bombyx mori*,
Ricini attacas and *Tussah anteraea pernyi*..... Zhi Zaixin Zhu Bichun (240)

SHORT COMMUNICATIONS

- Screening Value of Rapid Immunoelectron Microscopy for Carrier of HBV.....
 Wu Jianguo Huang Fulin (241)
- Detection of Circulating Immune Complex Contained HB_sAg by Pepsin Digesting Method in Patients with Hapatitis
Qi Ming Wu Jianguo Feng Genbao Li Ning (243)
- Vaccination of Tomato with Avirulent Isolate N₁₄ of Tomato Mosaic Virus in Greenhouses Wang
 Xianbin Zhou Guizhen Jing Baoquan Ren Wei Chang Xiuhua Tien Bo (245)
- Field Experiments of Control of Pepper Mosaic Diseases Using Vaccines S₅₁ and N₁₄ in Yantai
 Zhòng Chongliang Chang Xiuhua Tien Bo (251)

正痘病毒属及其与啮齿类动物的关系*

张明丽 邓合黎 王权业

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁)

ORTHOPOVIRUS AND ITS RELATION BETWEEN RODENTS

Zhang Mingli Deng Heli Wang Quanye

(Northwest Plateau Institute of Biology, Academia Sinica Xining)

正痘病毒是一类以天花病毒为代表,在血清学和生物学上有非常密切关系的病毒。国际病毒命名委员会的第一次报告中,把这一类病毒命名为痘病毒属的天花/痘苗亚属(Wildy, 1971)^[1]。1975年痘病毒属改为痘病毒科(Poxviridae),这一类病毒就成为这个科下面的一个属——正痘病毒属(Orthopoxvirus)(Fenner, 1976)^[2]。第四届国际病毒学代表大会上,痘病毒科进一步分为两个亚科,其中包括所有脊椎动物痘病毒的亚科是脊索痘病毒亚科(Chordopoxvirinae)(Matthews, 1979)^[3]。

正痘病毒除具病毒粒子大、似卵形和砖形,基因组由一个分子量为100万至200万的分子组成、在细胞浆内进行复制等痘病毒共有的基本点外(Fenner, 1979)^[4],这一属的主要特征还有:属于哺乳动物病毒,其中大多数引起伴随有发疹的全身性感染,病毒粒子耐受乙醚。不同种可进行遗传的重组,表现出广泛的血清学交互作用和核酸的同一性。感染细胞产生的血凝素有血清学上的特异性,血凝素是含类脂质的多形颗粒,直径50至60 nm,可与病毒颗粒分离来^[2]。

为配合世界卫生组织1967年开始执行的在世界范围内根除天花的计划,近年来对天花病毒的非人贮主进行了深入地研究,分离到了新的病毒,促进了对病毒特性的进一步了解,还开展了正痘病毒宿主和贮主的普查^[5]。本文就上面几点作一概述。

1. 正痘病毒属的组成(表1)

在国际病毒分类委员会的报告(1976)中,正痘病毒属共有8个正式成员,即天花病毒、兔痘病毒、鼠痘病毒、牛痘病毒、痘苗病毒、骆驼痘病毒、猴痘病毒和水牛痘病毒。其中,猴痘病毒是根据1958年在哥本哈根获得的一只全身性感染的猴体内分离到的一株痘病毒命名的^[5];骆驼痘病毒是1972年Mayr等根据积累的资料,阐明了它作为一个独立种的条件^[6],但对它研究得很少;^[7]水牛痘病毒的资料很少,对它研究最多的是印度^[8]。除

* 本综述承中国医学科学院病毒学研究所朱既明教授审阅,谨致深切谢意。

上述几种外,天花、牛痘、鼠痘、痘苗等病毒发现较早,也研究得相当多。痘苗病毒一般被认为是没有贮主的人工繁殖病毒。它有广泛的宿主范围,偶尔可以感染家养动物,如牛、猪、水牛和骆驼等^[9]。兔痘病毒在1934年就被Greene发现,但也是研究得比较少的一种病毒^[9]。

此外,近年来还从人及野生动物体内分离到不少属于正痘病毒的病毒,其中主要有以下几种。

(1) 白色痘病毒: 1970—1975年,从非洲的灵长类和鼠类的肾脏中分离出四株正痘病毒: ①代号 Chimp-9, 1971年从黑猩猩体内分离到^[10]。②代号 MK-7-37, 1973年从一种猴体中分离到^[11]。③代号 RZ-38-74, 1974年从老鼠 (*Helicobacter rufobrachium*) 体内分离到。④代号 RZ-10-74, 1973年从田鼠 (*Mastomys coucha*) 体内分离到^[12]。以上病毒株命名为白色痘病毒^[13]。

(2) 象痘病毒: 1961—1975年间,民主德国和联邦德国的动物园至少爆发了六次象痘。最初以为它们是由于给象接种痘苗而传播出来的痘苗病毒。1971年斯图加特和1975年纽伦堡象痘再次爆发后,对分离到的病毒进行研究,确定了它们不是痘苗病毒。由于这种疾病只在饲养象群中发生,而野生象群则没有类似感染,说明象不是这种病毒的贮主。关于这种病毒只有极少的报道^[14,15],没有更详细的资料。

(3) Lenny 病毒: 这株病毒是1969年在尼日利亚从一个患类似天花疾病的病人体内分离获得的,被命名为 Lenny 病毒。它既不是天花病毒,也不是痘苗病毒,但却具有这两种病毒的若干特征。因此,有人认为它是这两种病毒的杂种^[16]。

(4) 浣熊痘病毒: 这是1964年从美洲浣熊 (*Procyon lotor*) 体内分离到的一株痘病毒。近年对这株病毒的特性也进行了研究,证明应列入正痘病毒属^[17]。Alexander 等(1972)^[18]对切萨皮克海湾地区的野生哺乳动物进行了血清学调查,在92只浣熊中,有22只体内检出了血凝抑制抗体。从而说明,这种病毒在浣熊种群中,可能是一种地方性动物病病原体。这一株病毒是北美洲唯一的正痘病毒属的土著种。

表 1 正痘病毒属的组成¹⁾

天花病毒和在人群中引起类似天花疾病的病毒	从动物中分离的天花类似病毒	除天花病毒和天花类似病毒以外的病毒
天花病毒 (<i>Variola virus</i>) 严重型株 (major) 温和型株 (minor) 中间型株 (intermediates) 猴痘病毒 (<i>Monkeypox virus</i>) Lenny' 病毒	白色痘病毒 (<i>Whitepox virus</i>) 骆驼痘病毒 (<i>Camelpox virus</i>)	痘苗病毒 (<i>Vaccinia virus</i>) 兔痘病毒 (<i>Rabbit pox virus</i>) 牛痘病毒 (<i>Cowpox virus</i>) 脱足病病毒 (<i>Ectromelia virus</i> ²⁾) 水牛痘病毒 (<i>Buffalopox virus</i>) 浣熊痘病毒 (<i>Racconpox virus</i>)

1) 引自 Baxby, D. Identification and interrelationships of the variola/vaccinia subgroup of poxviruses. 1975. Progr. Med. Virol., vol. 19, pp. 215—246.
2) 即鼠痘病毒。

2. 正痘病毒属病毒的鉴别和它们之间的相互关系

由于本属病毒间有密切的血清学关系,所以通常都是以生物学特性来鉴别^[19](表2)。

(1) 天花病毒: 有两株天花病毒,一株是严重型,流行于亚洲中部和远东,疾病死亡率高;另一株是温和型,流行于美洲和非洲,疾病死亡率低。它们主要的生物学特性见表

2. 由于中间型株系的存在,只能把它们都看作天花病毒的变异株^[19]。

(2) 猴痘病毒: 猴痘病毒在鸡胚绒毛尿囊膜上产生两种痘疱, 一种是小而不透明的出血性痘疱; 一种是小而透明的痘疱。后来, 经研究证明是由于不同的鸡胚孵育温度所致。34.5℃ 的孵育温度产生前一种痘疱, 高于 34.5℃ 产生后者^[20]。人患猴痘疾病病例的出现, 促进了对这种病毒, 特别是它的自然发展史的研究。

(3) Lenny 病毒和水牛痘病毒: 近来, 直接比较了 Lenny 病毒和水牛痘病毒, 强调了它们之间的密切关系。除了表 2 所列的特性表明它们的相似性外, 热灭活试验和测定血凝效价的试验, 都分不开它们。因此, 可假定它们有同一起源——痘苗病毒的突变株。如果进一步的研究不能将这两种从不同宿主(人和水牛)、不同大陆(非洲和亚洲)分开, 那么, 从进化的观点来看, 这是很有价值的事情^[19]。也有人研究指出, 水牛痘病毒粒子的内核和亚表层不同于痘苗病毒^[21], 血清学反应不同于痘苗和牛痘病毒^[22,23]。

表 2 正痘病毒的生物学特性^{*)}

特 性	天花病毒及天花类似病毒							天花病毒及天花类似病毒以外的病毒			
	天花病毒			猴痘病毒	白色痘病毒	骆驼痘病毒	Lenny 病毒	痘苗病毒	牛痘病毒	脱足病病毒	水牛痘病毒
	严重型株	温和型株	中间型株								
鸡胚绒毛尿囊膜 (CAM) 上痘疱的形态 ¹⁾	SOW	SOW	SOW	SOH	SOW	SOW	PHU/LOW	PHU/LOW	H	ISOW	PHU/LOW
CAM 上痘疱形成的上限温度(℃) ²⁾	38.5	37.5	38.5	39.0	38.5	38.5	38.5	41.0	40.0	39.0	38.5
35—37℃ 的对数效价 (CAM 上)	0.2—0.5	2.0	0.3—1.4	0.05	0.3	1.2	0.2				
兔皮肤损伤 ³⁾	TrN	TrN	TrN	IPC	H—N	TrN	ERN	V	IPC	TrN	ERN
成鼠的死亡率	—	—	—	+	—	—	?			+	
血凝素的产生(组织培养)	高	低	低到高	高	高	高	高				
HeLa 细胞中的病变 ⁴⁾	RC	RC	RC	SC	RC	GC	SC	SC	SC	RC	SC
鸡胚死亡率	低	很低	很低或低	中等	低	很低或低	中等	很高	高	高	中等
A 型包涵体	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—
CAM 中的可溶性抗原								+	—	—	+
在 RK ₁₃ 或 VeRo 细胞中病变速度	慢	慢	慢	中等	—	—	—	快	中等	慢	慢

1) SOW = 小而不透明的白色痘疱; SOH = 小而不透明的出血痘疱; PHU = 苍白具出血性溃疡痘疱;

LOW = 大而不透明的白色痘疱; ISOW = 无规律、小、白色、不透明; H = 出血性痘疱。

2) 天花病毒中间型和骆驼痘病毒在 38.5℃, 产生的痘疱比天花严重型少。

3) IPC = 有紫色中心的硬结损伤; TrN = 迅速消失的小结, 病毒不增殖; V = 株系间存在差异, 在兔皮上不产生 IPC、ERN、TrN 等反应; ERN = 发红的小结; H—N = 出血性坏死损伤, 病毒不增殖。

4) RC = 圆细胞; SC = 索状细胞; GC = 巨细胞;

5) 引自 Baxby, D. Identification and interrelationships of the variola/vaccinia subgroup of poxviruses. 1975. Progr. Med. Virol., vol. 19, pp. 215—246.

(4) 白色痘病毒: 这种病毒只是在兔皮上产生出血性坏死, 对成年小白鼠的致死率稍有不同于天花病毒严重型株。因此, 目前要将它们区分开来, 几乎还不可能。如果说它就是天花病毒, 又没有它能感染人的证据。而且, 该病毒都是从健康的动物体内分离到

的^[19]。Marennikova 和 Shelukhina (1978) 经研究提出这样一个假说: 白色痘病毒是猴痘病毒的变异株^[24,25]。

(5) 骆驼痘病毒: 从表 2 可看出, 这种病毒在各方面的特性与天花病毒中间型株分开, 但它们在 BSC-1、GMK、HeLa、WISH 等细胞上产生巨细胞效应, 可与天花病毒分开。Marennikova 等(1974)报道, 骆驼病毒的痘疱也有中心出血点, 与猴痘病毒难于区分^[7]。除白色痘病毒外, 这种病毒与正痘病毒属的其他病毒相比, 更难与天花病毒区分开来, 因此, 需要进一步研究它的自然发展史和实验室特性^[19]。

(6) 痘苗病毒和兔痘病毒: 痘苗病毒的生物学特性存在着株系间的差异, 最重要的是对人和各种动物的不同的病原性^[26]。它的起源, 以 Bedson 和 Dumbell 的痘苗病毒是天花病毒与牛痘病毒的杂种这一假说最吸引人^[27]。

兔痘病毒和痘苗病毒的关系目前还不清楚。已经研究过的三株兔痘病毒都是实验动物体内分离出来的。它们对兔子的病原性十分类似于神经痘苗株, 目前还没有充足的理由能将它们分开。这三株兔痘病毒中, 至少有两株不完全相同, Utrecht 株不产生血凝素, Rockefeller 株产生血凝素; Rockefeller 株在 41.5℃ 孵育的鸡胚绒毛尿囊膜上不产生痘疱, 而 Utrecht 株仍然产生^[19]。

(7) 牛痘病毒: 牛痘病毒是正痘病毒属中, 除天花病毒及天花类似病毒以外的病毒中, 最为特殊的一种病毒。它以在鸡胚绒毛尿囊膜上和兔皮上产生强烈出血性反应, 在被感染的细胞浆内产生 A 型包涵体为其最显著的特征^[19]。可以说, 正痘病毒属病毒的生物学特性或者类似于天花病毒, 或者类似于牛痘病毒, 或者介于两者之间。

虽然 30 年代已经分离到这种病毒, 但是对它的流行病学, 除欧洲以外, 基本上没有什么了解。在欧洲, 牛患牛痘疾病是比较少见的, 而人和动物园的动物却较常出现牛痘疾病。同时, 与牛群没有任何接触的人也出现牛痘病例, 而牛群的临床和血清学调查表明, 在出现人牛痘患者地区的牛群中, 没有牛痘病毒存在。因此, Baxby (1977) 认为, 牛群不是牛痘病毒的贮主(至少在英国是如此)。他还希望, 通过对野生动物的调查, 能发现牛痘病毒的贮主^[28,29]。

(8) 鼠痘病毒: 鼠痘病毒在感染细胞浆内产生 A 型包涵体的特性使它与正痘病毒属其他病毒相比, 与牛痘病毒有更密切的血清学关系。除侵入机体的途径外, 鼠群的自然浸染过程与人类天花相似, 所以, 被用来作为天花致病机制的模式。鼠痘病毒隐性存在于许多试验小白鼠群中^[19]。它对小鼠鼠有一定的感染力^[30]。

从表 2 和上面的综述可以看出, 正痘病毒属病毒间有密切而又相互交叉的生物学特性, 因此, 不能靠一项或两、三项生物学特性来鉴别正痘病毒属的病毒。

同时, 每个正痘病毒属病毒的不同株系之间存在着生物学特性的差异。不同株系的细胞、试验鼠、鸡胚, 不同的孵育温度对其生物学特性也有显著影响。例如鼠痘病毒 Mill 株和 Hill 株在 37℃ 的鸡胚成纤维细胞上不产生蚀斑, 39℃ 的同种细胞上就产生蚀斑; 牛痘病毒 Brighton 株和 Amsterdam 株的 A 型包涵体不含病毒粒子, 而“53”、“58”、“60”等株系就含病毒粒子^[19]; 骆驼痘病毒在人胚肺、肾、LLc-MK₂ 细胞上产生与天花病毒相同的病变; 在 BSC-1, HeLa 细胞产生与天花病毒不同的病变^[24]。Marennikova 等(1972)认为骆驼痘病毒对鸡胚、小白鼠有毒性; Maye 等(1972)则认为没有; Marennikova 等进一步认为这是由于接种剂量不同所造成^[7]。由于许多稳定的牛痘病毒生物型的存在, 使

它的流行病学变得非常复杂^[29]。

由于上述原因,这些病毒必须靠它们在复杂的生物系统中的行为来鉴别^[31]。

3. 研究正痘病毒生物学的意义

由于正痘病毒是最古老的病毒,而且,相对而言又是研究得最多的病毒;又由于曾经对人类危害最大的天花根除以及这个属病毒间错综复杂的关系和起源^[32],使得正痘病毒的生物学研究在病毒学中有重大的意义。

了解病毒感染细胞的形态变化和病毒粒子的形态特征,取决于电子显微镜以及超薄切片技术。在这项工作中,痘病毒是最适宜的材料。对动物病毒形态最详细的研究就是 Deles 等用牛痘病毒作出的^[4]。用兔痘病毒经鼻腔接种进兔体,诱发兔病被作为人类天花致病机制最适宜的模式^[31]。

鼠痘病毒既作为全身性病毒感染的实验模式^[33,34];又用于康复机制的研究,来说明细胞介质免疫的重要性^[35,37]。70年代中期,以 Blanden, Gardner, Pang 等为首的一批人,继续以鼠痘病毒作为模式,对体内细胞免疫机制作了大量工作,发表了数十篇论文,主要从三个方面进行了报道:①病毒感染后,免疫的细胞变化、应答及其特异性;②二次应答及作用;③影响细胞免疫应答的因素及其调节^[38-41]。这一部分工作,由 Braciale 等(1978)在《现代分子免疫学》一书中加以初步概述^[42]。

正痘病毒属中研究得最多的是将痘苗病毒株用于预防天花病毒感染^[19]。近年来,又以它作模式就病毒的纯化^[43],生物化学^[44],病毒与宿主细胞的关系^[45],病毒复制^[46],病毒分子生物学^[47,48],辐射对病毒的影响^[49]以及人体对病毒感染的某些防御功能^[50]等作了大量工作。

从知道微生物引起传染病的时候起,微生物学者就幻想着根除传染病^[51]。天花的消灭就是一例。世界卫生组织把天花作为第一个人类要消灭的传染性疾病。从1967年开始执行这一计划,进行了大量治疗、种痘预防、流行病学和自然界贮主的调查,并于1977年宣布全球根除天花运动胜利地完成了^[4]。

尽管 Olakouski (1978)报道了1977年6月26日索马里的一例天花病是全球最后一例天花^[52], Arita (1979)也综述了天花根除计划成功的病毒学证据^[54]。但 Merklen (1978)^[53], Mayr, Danner (1979)^[55]和 Cavavicci (1979)^[56]等人还是对天花在全球被根除这一点持怀疑态度,并提出了他们自己的理由。因此,天花病毒的贮主(特别是啮齿类动物)和哺乳动物种群中的天花类似病毒仍受到极大的注意。

4. 正痘病毒鉴定技术的发展

基于正痘病毒属病毒间密切的血清学关系,它们的鉴定主要依靠一系列生物学特性的试验。其中包括:①鸡胚绒毛尿囊膜上痘疱形成的上限温度及痘疱特征。②鸡胚接种病毒后的死亡率和病毒在鸡胚肝中的积累率。③鸡胚成纤维细胞培养物上的蚀斑形态及血吸附能力,接种病毒适应的细胞株系范围及细胞病变效应类型和效应速度。④兔皮内接种的反应。⑤通过琼脂扩散、血凝试验分析抗原性。⑥小白鼠脑内接种,兔(10日龄)、大白鼠(120克至140克)、棉鼠(Cotton rats 70—90克)鼻腔内接种的病原性。⑦电子显微镜下的形态和结构观察^[7]。这些方法既复杂又费时,同时,各种病毒和不同株系之间的

生物学特性又有一些交叉,这就使得病毒学者不得不探索新的鉴定途径和技术,以求获得快速、简便、敏感、可靠的方法。对正痘病毒生物学的研究,也促进了这方面的发展。

Cispen 等人 1974 年应用免疫荧光技术对接种过痘苗的人群进行了血清学调查。接种在 10 年以内者,痘病毒抗体阳性率为 100%,10 年以上者达 74%。这一结果同时经平行进行的中和试验,证明是相当可靠的^[57],这就为快速奠定了基础。利用抗原交叉吸附的原理, Marennikova 和 Maltzeva (1975)用异硫氰酸荧光黄结合的兔抗痘苗病毒抗血清的荧光抗体,通过荧光显微镜来检出和区分密切相关的正痘病毒取得了成功^[58]。这一试验被 Berman 等人称之为新近发展起来的最有希望的试验^[59]。Maltseva 和 Marennikova (1976)又利用抗原交互吸附的同一原理,用两步法免疫扩散将正痘病毒属病毒区分开^[60]。随着正痘病毒特异抗原的发现^[61,62],上面两种方法将得到进一步发展。

另一个发展是电泳技术在正痘病毒鉴定上的应用。Harper 等人 1979 年用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳来分析正痘病毒感染的 Hela 细胞的晚期细胞浆内多肽。属内牛痘、猴痘、痘苗、天花等四种病毒在电泳图谱上都有一个特殊的晚期胞内多肽^[63]。Arita 和 Tagaya (1980)通过 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了痘病毒的结构多肽,发现在分子量 3 万至 4 万的范围内,天花、猴痘、牛痘和痘苗等病毒的电泳图谱是不一样的^[64]。这就为区分正痘病毒和解决它们分类上的难点提供了可以考虑的手段。

5. 正痘病毒的啮齿类动物贮主

(1) 贮主调查:病毒分离和血清学调查。正痘病毒贮主的调查,主要是为了弄清天花病毒是否有自然的野生动物贮主。1974 年 9 月和 1975 年 5 月世界卫生组织在 Tito 附近捕获 12 只老鼠 *Mastomys coucha*,从其中一只的肾组织内分离到一株痘病毒,代号为 RZ-10-74;在 Bmgelenta 捕获 30 只老鼠 *Hedioscorus rufobrachium*,从一只肾组织中分离到一株痘病毒,代号 RZ-78-75^[12]。1974 年苏联在土库曼对 1623 只捕获的野鼠进行了病毒分离,从老鼠 *Big gerbils* 和 *Yellow susliks* 体内分离到三株痘病毒,代号为土库曼-1,土库曼-2-74,土库曼-3-74^[65]。1964 年以来,由伊巴丹大学病毒研究室、耶鲁病毒研究室、Smithsonian 研究所共同进行西非野生动物群中病毒的调查,在采集的 505 只大沙鼠 *Tatera kempii* 中分离到一株痘病毒^[66],即 I_bA_n34325 。

已报道啮齿类动物群体痘病毒抗体水平的调查工作,进行了两项,一项是 1971 年 10 月象牙海岸一位儿童患类似天花的疾病,为此,对当地野生动物进行了血清学调查。其中,72 份啮齿动物血清标本中,有 15 份含血凝抑制抗体(20%),另外 15 份标本中,有 4 份含中和抗体(27%)^[67]。另一项是对苏联土库曼地区 570 只啮齿类动物进行了调查,其中 85 只(15%)含血凝抑制抗体,428 只老鼠中 55 只(13%)有中和抗体^[68]。此外,McKee 等人 1979 年在澳大利亚一种袋鼠 *Eastern grey kangaroo* 身上也观察到了痘病毒感染^[68]。

(2) 啮齿动物体内分离到的痘病毒的鉴定:已经进行了实验室鉴定的毒株有 RZ-10-74 和 RZ-38-75,土库曼-1-74 和 I_bA_n34325 。其中,RZ-10-74 和 RZ-38-75 株是白色痘病毒^[33]。土库曼-1-74 株血凝活性比牛痘病毒高,鸡胚绒毛尿囊膜上形成痘疱的上限温度比牛痘病毒低(38.6℃),对小白鼠的病原性比牛痘病毒强。但是,这些微小的差异,还不足以将土库曼-1-74 株作为正痘病毒属的一个独立的种^[69]。

I_bA_n34325 株在鸡胚绒毛尿囊膜上形成痘疱的上限温度及痘疱形态,对小白鼠相对的

无害性,在组织培养物上的细胞病变效应等方面不同于其他正痘病毒,但在细胞培养物上产生小的肥大病灶。 38°C 是痘疱形成的上限温度,能在兔皮上增殖等方面类似天花。Lourie 等人(1975)认为它仍有可能是正痘病毒的一个新种^[31]。

(3) 调查正痘病毒的啮齿动物贮主的意义: 非洲和欧洲大陆 5 种啮齿动物中分离出 5 株正痘病毒和 18 种啮齿动物中检出阳性率为 13% 至 27% 的血凝抑制抗体和中和抗体,充分说明啮齿动物是正痘病毒的自然贮主。这支持了 Marennikova 等人(1978)的观点: 啮齿动物作为正痘病毒带毒者的作用,远远大于以往的估计。还说明,正痘病毒可以在野生啮齿动物中以隐性感染方式存在下去^[69]。Lourie 等人也认为动物和人都可能有痘病毒的隐性感染^[31]。Shelukhina 等人(1979)经过试验证实,隐性感染可能是正痘病毒在自然界保存下去的原因^[70]。因此,天花病毒以及与它相类似的病毒有可能在野生动物种群中以隐性感染方式存在下去^[31]。

经 Marennikova 和 Shelukhina (1976)研究,白鼠 (white rat) 群中的痘病毒是莫斯科动物园中,1973 年和 1974 年两次爆发猫科食肉动物痘病毒疾病的原因。它们吃了有痘病毒疾病的白鼠发生感染。这些痘病毒与牛痘病毒有着密切关系,作者认为,白鼠起着与牛痘病毒密切相关的痘病毒贮主的作用。作者还认为,从正痘病毒生态学的观点来看,这是第一次确定了痘病毒感染从啮齿动物到系统发育相距甚远的食肉动物的传播。这是关于啮齿类动物保存正痘病毒并传播给其他动物的第一次报告^[71]。

Marennikova (1979)还进一步指出,啮齿类动物在牛痘病毒自然生态学中的作用是重要的。莫斯科的白鼠、食肉类,西欧动物园的象群,英国动物园的豹群以及土库曼啮齿动物中均发现与牛痘病毒类似的病毒。同时,这种病毒能感染鼠科的各个科,说明这种病毒的地理分布较广。他们还报道,有人在接触患痘病的象和食肉动物后,也曾出现轻度类似痘病毒的感染^[68]。

通过上面的概述,看出正痘病毒与人类有着密切的关系,在现代病毒学的研究中占有重要地位。同时,啮齿动物不但是报盖病毒科的甲病毒属和黄病毒属^[72]、疱疹病毒科^[73]、嵌沙样病毒科^[74]等病毒的天然贮主、也是正痘病毒的重要贮主,并且在正痘病毒的传播过程中起着重要作用。而啮齿动物与人类的关系又十分密切。所以,近年来,国外这方面的研究得到了迅速发展,而国内在这方面的研究工作几乎没有进行。我国幅员宽广,啮齿动物的种类和数量十分繁多,再加以我国的农牧业生产技术比较落后,很多地区农牧业鼠害较为严重。所以,我们认为,研究我国的啮齿动物与正痘病毒及其他病毒的关系,应该引起一定的重视。

根据国内外的现况,我们认为首先应当从以下几个方面着手这一研究。

1. 调查野生啮齿类中的正痘病毒,进行病毒分离,弄清它们的种类、分布与啮齿动物区系的相互关系,以及啮齿类动物在这些病毒的自然循环中所起的作用,并以此为野生啮齿动物病毒乃至野生动物病毒的研究奠定基础。

2. 进行分离鉴定的同时,开展对正痘病毒鉴定方法的研究,解决野生啮齿类正痘病毒研究的方法学问题,以促进这一工作的进展。

3. 在分离鉴定的基础上,研究正痘病毒的相互关系和遗传变异,为病毒的起源、进化和演变的研究提供基础资料。

4. 根据正痘病毒在自然界的分布、传播和循环情况,进一步研究天花被根除的理论基

础,为控制或根除其他人类病毒性疾病或与人类有关的病毒性疾病提供线索。

参 考 文 献

- [1] Wildy, P., 1971. *Monogr. Virol.* 5(Karger, Basel).
- [2] Fenner, F., 1976. *Intervirology* 7: 1—115.
- [3] Matthews, R. E. F., 1979. *Intervirology* 11: 133—135.
- [4] Fenner, F., 1979. *Intervirology* 11: 137—157.
- [5] Baxby, D., 1977. *Arch. Virol.* 55: 169—179.
- [6] Mayr, A., Mahnel, H. and Munz, E., 1972. *Zbl. Vet. Med.* B19: 69—88.
- [7] Marennikova, S. S., Shenkman, L. S., Akatova-Shelukhina, E. M. & Maltseva, N. N., 1974. *Acta Virol.* 18: 423—428.
- [8] Baxby, D. and Hill, B. J., 1971. *Arch. ges. Virusforsch.* 35: 70—79.
- [9] Andrewes, C. H. and Pereira, H. G., 1972. *Viruses of vertebrates*, 3rd ed. Balliere and Tindall, London.
- [10] Marennikova, S. S., Shelukhina, E. M., Maltseva, N. N. and Ladnyi, I. D., 1972. *Bull. WHO.* 46: 613—620.
- [11] Shelukhina, E. M., Maltseva, N. N., Shenkman, L. S. *et al.*, 1975. *Brit. Vet. J.* 131: 746—748.
- [12] Marennikova, S. S., Shelukhina, E. M. and Shenkman, L. S., 1976. *Acta Virol.* 20: 80—82.
- [13] Arita, I. and Henderson, D. A., 1976. *Bull. WHO.* 54: 347—353.
- [14] Baxby, D. and Ghaboosi, B., 1977. *J. gen. Virol.* 37: 407—414.
- [15] Mahnel, H., 1974. *Zbl. Vet. Med.* B21: 242—248.
- [16] Bourke, A. T. C. and Dumbell, K. R., 1972. *Bull. WHO.* 621—623.
- [17] Thomas, E. L., Palmer, E. L., Obijeski, J. F. and Nakano, J. H., 1975. *Arch. Virol.* 49: 217—227.
- [18] Alexander, A. D., Flyger, V., Herman, Y. F. *et al.*, 1972. *J. Wildl. Dis.* 8: 119—126.
- [19] Baxby, D., 1975. *Progr. Med. Virol.* vol. 19, pp. 215—246.
- [20] Marennikova, S. S., Gurvich, E. B. and Shelukhina, E. M., 1971. *Arch. ges. Virusforsch.* 33: 201—210.
- [21] Hill, B. J., Baxby, D. and Douglas, H. W., 1972. *J. gen. Virol.* 16: 39—46.
- [22] Kataria, R. S. and Singh, I. P., 1970. *Acta Virol.* 14: 307—311.
- [23] Lal, S. M. and Singh, I. P., 1973. *Arch. ges. Virusforsch.* 40: 390—391.
- [24] Marennikova, S. S. and Shelukhina, E. M., 1978. *Nature* 276(5685): 291—292.
- [25] Marennikova, S. S., Shelukhina, E. M., Maltseva, N. N. and Matsevich, C. H., 1979. *Intervirology* 11: 333—340.
- [26] Galasso, G. J., Mattheis, M. H., Alling, D. W. *et al.*, 1973. Clinical evaluation of four smallpox strains. Int. Symp. Smallpox Vaccine, Symp. Ser. Immunobiol. Standar, vol. 19, pp. 167—177 (Cambridge Univ. Press, London).
- [27] Bedson, H. S. and Dumbell, K. R., 1964. *J. Hyg.* 62: 147—158.
- [28] Baxby, D., 1977. *Brit. Med. J.* 1, 1379—1381.
- [29] Baxby, D., 1975. *Vet. Rec.* 96: 388.
- [30] 王祖望、黄永昭、王基琳、何新桥, 1975. 野外条件下鼠痘病毒在小家鼠中的传播试验。灭鼠和鼠类生物学研究报告(第二集) 38—51。
- [31] Lourie, B., Nakano, J. H., Kemp, G. K. and Setzer, H. W., 1975. *J. Inf. Dis.* 132: 677—681.
- [32] Downie, A. W., 1970. Smallpox; in Mudd infectious agents and host reactions, pp. 487—518.
- [33] Miss, C. A., 1964. *Bact. Rev.* 28: 30—71.
- [34] Miss, C. A., 1966. *Bact. Rev.* 32: 739—760.
- [35] Blanden, R. V., 1970. *J. exp. Med.* 132: 1035—1054.
- [36] Blanden, R. V., 1971. *J. exp. Med.* 133: 1074—1089.
- [37] Blanden, R. V., 1971. *J. exp. Med.* 133: 1090—1104.
- [38] Blanden, R. V., 1977. *J. exp. Med.* 146: 869—880.
- [39] Gardner, I. D. *et al.*, 1976. *Cell. Immunol.* 22: 283—296.
- [40] Pang, T. *et al.*, 1975. *J. exp. Med.* 143: 469—481.
- [41] Pang, T. *et al.*, 1977. *Aust. J. exp. Biol. Med. Sci.* 55: 39—48.
- [42] Braciale, T. J., Ada, G. L. and Yap, K. L., 1979. Functional and structures considerations in the recognition of virus-infected cell by cytotoxic T lymphocytes. In "Contemporary topic in Molecular immunology" (ed Reisfeld, R. A., Inman, F. P.) Publ. by plenum press, 227 west 17st., New York, N41001, USA, pp. 319—364.
- [43] Madaliski, W., Bankovski, A. and Korbeck, M., 1977. *Acta Virol.* 21: 104—110.

- [44] Hruby, D. E., D. L. Lynn and J. R. Kates, 1980. *J. gen. Virol.* **47**: 293—299.
- [45] Bolden, A., Pendrall-Noy, C. and Weissbach, A., 1979. *Virology* **94**: 138—145.
- [46] Hruby, D. E., Guarino, D. A. and Kates, J. R., 1979. *J. Virol.* **29**: 705—715.
- [47] Pogo, B. G. T., 1980. *Virology* **101**: 520—524.
- [48] Pogo, B. G. T., 1980. *Virology* **100**: 339—347.
- [49] Weimar, W., Stizz, L., Billiau, K., Cantell, K. and H. Chellekens, 1980. *J. gen. Virol.* **48**: 25—30.
- [50] Werner, G. T., Jentzse, U., Metzger, E. and Simom, 1980. *Arch. Virol.* **64**: 247—256.
- [51] Cockburn, A., 1967. Infectious diseases. Their evolution and eradication (Thomas, Springfield).
- [52] Olakouski, T., 1978. *Przegl. Epidemiol.* **32**: 447—454.
- [53] Merklen, F. P., 1978. *Bull. Soc. Path. Exot.* **71**: 11—19.
- [54] Arita, I., 1979. *Nature* **279**(5711): 293—298.
- [55] Mayr, A. and Danner, K., 1979. *Munch. Med. Wochenschr* **121**: 1675—1678.
- [56] Cavavicci, A., 1979. *Mineeva Med.* **70**: 2583—2594.
- [57] Gispén, R., J. Huisman, B. Brand-sathof and A. C. Hekker, 1974. *Arch. ges. Virusforsch.* **44**: 391—395.
- [58] Marnnikova, S. S. and Maltzeva, N. N., 1975. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **254**: 349.
- [59] Breman, J. G., J. Bernadou and J. H. Nakano, 1977. *Bull. WHO.* **55**: 605—612.
- [60] Maltseva, N. N., Marennikova, S. S., 1976. *Acta Virol.* **20**: 250—252.
- [61] Gispén, R. and B. Brand-sathof, 1974. *J. Inf. Dis.* **129**: 289—295.
- [62] Amano, H., Y. Ueda and I. Tagaya, 1979. *J. gen. Virol.* **44**: 256—269.
- [63] Harper, L., H. S. Bedson and A. Buchan, 1979. *Virology* **93**: 435—444.
- [64] Arita, M. and I. Tagaya, 1980. *Arch. Virol.* **63**: 209—225.
- [65] Kemp, G. E., O. R. Causey, H. W. Setzer, and D. L. Moore, 1974. *J. Wildl. Dis.* **10**: 279—293.
- [66] Marennikova, S. S., 1979. *Bull. WHO.* **57**: 461—464.
- [67] Breman, J. G., J. H. Nakaya and E. Coffi, 1977. *J. Trop. Med. Hyg.* **26**: 273—281.
- [68] Mckenzie, R. A., Fay, F. R. and Prior, H. C., 1979. *Aust. Vet. J.* **55**: 188—190.
- [69] Marennikova, S. S., Ladnyj, I. D. and Z. I. Ogorodnikova *et al.*, 1978. *Arch. Virol.* **56**: 7—14.
- [70] Shelukhina, E. M., Shenkman, L. S., Rozina, E. E. and Marennikova, s. s., 1979. *Vopor. Viosol.* **24**: 368—372.
- [71] Marennikova, S. S. and E. M. Shelukhina, 1976. *Acta Virol.* **20**: 442.
- [72] Hardy, J. L., Reeves, W. G., Scrivani, R. P. and Roberts, D. R., 1974. *Am. J. Vet. Res.* **3**: 1495—1500.
- [73] Imam, I. Z. E., EL-Karamany, R. and Darwish, M. A., 1979. *Bull. WHO.* **57**: 441—443.
- [74] Wulff, H., McIntosh, B. M., Hamner, D. B. and Johnson, K. M., 1977. *Bull. WHO.* **55**: 441—444.