

紫外线对单纯疱疹病毒 II 型灭活作用的研究

张见麟 黄学明 张雁滨 肖永进

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉)

单纯疱疹病毒 II 型(以下简称 HSV-II)与宫颈癌的密切关系以及对正常细胞的转化作用已经肯定^[1,2]。用于 HSV-II 转化试验以紫外线灭活方法为最好^[3]。合适灭活剂量的标志是 HSV-II 基本上完全灭活的最小剂量^[2]。一般为 $17-46 \text{ erg/mm}^2/\text{sec}^{[3,4,6]}$ 。本试验目的在于找到一个合适范围和剂量, 作为正式转化试验的参考, 在仅有普通紫外灯条件下, 经过一年多试验获得如下初步结果。

材料与 方法

一、供试细胞

1. 乳兔肾原代细胞
2. 金地鼠胚细胞

以常规方法将上述两种细胞制成 80 万/ml 浓度的悬液, 分装每瓶 1 ml, 37℃ 培养长成单层后备用。

二、病毒

1. HSV-II: 世界卫生组织供应的标准株。
2. 从宫颈癌病人标本中分离, 经湖北医学院鉴定为 HSV-II。

该两株病毒在乳兔肾原代细胞上活化传代用 TCID₅₀ 测定效价, 一般在 $10^{-5}-10^{-7}$ 之间方可用于灭活试验。

三、灭活试验

方法见文献^[1,3], 一般程序: 将新近测过效

价 TCID₅₀ 在 10^{-5} 以上的病毒, 取 2ml 置于石英玻璃平皿($\phi 60\text{mm}$) 中, 在 30W 直管紫外灯下, 不同距离照射, 每分钟将病毒摇动一次, 然后将照射过的病毒及未照射的对照病毒, 分别接种在单层细胞上, 每瓶细胞接种 0.1—0.2ml, 37℃ 吸附 1 小时, 用胰酶消化, 加 199 培养基吹打分散, 传代, 37℃ 培养 24、48、72 小时后分别观察, 如细胞长成单层而又无病变发生, 则再进行传代培养。

试 验 结 果

1. 距离 36cm 照射 4—30 分钟的病毒, 接种于地鼠胚原代细胞的结果见表 1。

表 1 结果说明距离 36 cm 照射 6—12 分钟部份灭活, 照射 16—20 分钟则大部份灭活, 照射 30 分钟即全部灭活。

2. 距离 6 cm 照射 1—8 分钟的病毒接种于地鼠胚原代细胞, 其结果见表 2。

从表 2 结果看, 6—8 分钟可使病毒完全灭活, 直至传到 8 代仍未出现细胞病变。

讨 论

1. 用国产 30W 紫外线杀菌灯, 距离 36 cm 照射 16—20 分钟, HSV-II 大部份灭活, 30 分

武汉大学及湖北医学院供给毒株, 特此致谢。

表 1 紫外线 36 cm 不同时间照射对 HSV-II 的灭活作用

紫外线照射时间 (分)	传代数 观察时间 (小时)	F ₁			F ₂			F ₃			F ₄		
		48	72	96	24	48	72	24	48	72	24	48	72
4		-	+	++	++++								
		-	+	++	++++								
6		-	++	+++	++++								
		-	-	-	-	++	++++						
8		-	-	++	++	++	++++						
		-	-	-	-	++	++++						
10		-	-	++	++	++	+++						
		-	-	-	-	-	+++						
12		-	-	++	++	++	++		++		+++	++++	
		-	-	-	-	-	-		-		+	+++	
16		-	-	-	-	-	-		+		++	++++	
		-	-	-	-	-	-		-		+	+++	
20		-	-	-	-	-	-		+		+++	++++	
		-	-	-	-	-	-		+		++++	++++	
30		-	-	-	-	-	-		-		-	-	-
		-	-	-	-	-	-		-		-	-	-
不照射病毒对照		+++	++++										
		+++	++++										
细胞对照		-	-	-	-	-	-		-		-	-	-
		-	-	-	-	-	-		-		-	-	-

注: F₁, 示传一代, 数字指传代数, (-) 无病变, (+) 25% 病变, (++) 50% 病变, (+++) 75% 病变, (++++) 100% 病变。

表 2 紫外线 6cm 不同时间照射对 HSV-II 的灭活作用

照射时间 (分)	观 察 代 数 及 时 间 (小 时)															
	F ₁		F ₂		F ₃		F ₄		F ₅		F ₆		F ₇		F ₈	
	48	72	48	72	48	72	48	72	48	72	48	72	48	72	48	72
1	-	-	++	++++												
	-	-	++	++++												
2	-	-	+	+++												
	-	-	+	++												
4	-	-	-	-	-	+++										
	-	-	-	-	+	++++										
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
不照射病毒对照	+++	++++														
	+++	++++														
细胞对照	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

钟可以全部灭活。当距离为 6cm 时, 4 分钟可大部份灭活, 6—8 分钟完全灭活。根据 Rapp 的意见^[2]能使 HSV-II 灭活的最小剂量就是可试用于转化试验的合适紫外线剂量。在这个剂量时病毒的感染不使细胞出现病变, 但仍含有少量可使细胞发生转化的基因。所以我们认为 36 cm, 30 分钟或 6 cm, 6—8 分钟, 这个范围均可试用于转化试验。同时也说明在缺乏紫外线剂量测定仪及球形紫外灯条件下用一般长管型紫外灯也可进行转化试验。

2. 由于紫外线剂量不同, 病毒在照射后有的在第一代不出现病变, 经过传代, 病变逐渐出现或增强。这可能是病毒受照射后大部份灭活而少部份受抑制而不能复制出病毒粒子, 经过

传代, 这部份病毒逐渐活化, 又恢复了复制及杀细胞作用, 因而逐步出现细胞病变。

3. 本试验结果也为紫外线用于 HSV-II 的消毒作用提供了参考资料。

参 考 文 献

- [1] Rapp, F.: *Cancer*, 40: 419—429, 1977.
- [2] Duff, R. and F. Rapp: *J. Virol.*, 8: 469—477, 1971.
- [3] Rapp, F. & N. Turner: *Arch. Virol.*, 56(1—2): 77—87, 1978.
- [4] Duff, R. and F. Rapp: *J. Virol.*, 15: 490—496, 1975.
- [5] Rapp, F.: *Tiss. Cul. Meth. and Appl.*, p. 653—655, 1973.
- [6] Macnab, J. C. M.: *J. Gen. Virol.* 24: 143—153, 1974.