

两型钩端螺旋体在机体内相互关系的研究

II. 两型同时感染的研究

于恩庶 吴熙仪

(福建省流行病研究所, 福州)

在前文^[1]报告了钩端螺旋体两型之间在试管内的拮抗现象。本文继续研究了两型同时感染在机体内相互的关系。

材 料 和 方 法

菌株 本实验所用者除国内常用的 12 型标准菌株供血清学检查外, 动物感染试验均用本省的地方菌株, 其编号和来源如下:

- (1) 澳洲甲型 3 号株: 1958 年 8 月从罗赛鼠分离。
- (2) 巴达维亚型 6 号株: 1959 年 2 月从褐家鼠分离。
- (3) 秋季热型 24 号株: 1959 年 9 月从患者血液分离。
- (4) 澳洲乙型 30 号株: 1959 年 8 月从刺毛黄鼠分离。
- (5) 396 型 19 号株: 1959 年 7 月从患者脊髓液分离。
- (6) 福建二型 40 号株: 1959 年 9 月从罗赛鼠分离。

以上各株保存于柯氏培养基内, 毒力有减弱, 在试验前未通过动物, 以免增强毒力, 引起动物的死亡。

两型感染 使用上述 6 型菌株, 任取 2 株为一组, 共组成 15 个组, 每组注射 2 只豚鼠, 每型均用 0.5 毫升柯氏培养物(每高倍视野有 100 条以上钩端螺旋体), 混合后共 1 毫升, 皮下注射。感染后第 3 天采心血, 一部分接种正常血清柯氏培养基, 分离钩端螺旋体; 另一部分分离血清做凝集溶解试验, 鉴定血清型。至第 28 天杀死解剖, 除采血供血清学检查外, 取肾和尿分离钩端螺旋体。观察血清抗体型别与从血肾尿分离的菌株的型别之间的关系。

結 果 及 討 論

(一) 取本省 6 型地方菌株, 任取两型为一组, 各感染两只豚鼠, 共 30 只。从感染后第 3 天血液和第 28 天肾尿, 按常规方法分离钩端螺旋体, 结果是: 血液分离阳性 29 只, 肾阳性 15 只, 尿阳性 20 只。这些菌株按常规方法鉴定, 结果列于表 1。从表 1 可以看出: (1) 从各种材料分离的菌株只有 1 型。(2) 从同一只动物血液和肾尿所分离的菌型不完全一致, 而从肾和尿分离的菌型基本是相同的, 只有 1 只豚鼠 (24 + 6) 例外, 从肾分离者为秋季热型, 从尿分离者为巴达维亚型。同样材料感染的两只豚鼠同一种脏器所分离的菌型, 也有不同。(3) 豚鼠受感染后第 3 天, 血中凝集抗体尚未出现, 第 28 天转为阳性, 效价

在 1:10—1:200 以上(豚鼠血清抗体效价一般不高)。血清型别与感染菌型基本一致,但也出现一些与注射菌型不同的血清型别,这里有牛型和流感伤寒型。(4) 1 只动物受两型双重感染,有时只出现 1 种抗体,或者虽出现两型抗体,往往有一型效价高,一型效价低的现象。以上结果说明每个机体对各型钩端螺旋体的反应并不完全相同,由此可见只以凝集效价最高的一型判定为受感染的血清型,并不能真正代表该机体感染的所有菌型,所

表 1 两型同时感染豚鼠的血清学和病原学检查结果

两型感染 菌株号	豚鼠号	血清凝集溶解试验				病原分离		
		第 3 天	第 28 天			3 天血	28 天肾	28 天尿
			甲 1:100	巴 1:50		巴	甲	
3 + 6 3 + 6	1 2	— —	甲 1:200	巴 1:50		巴	甲	
3 + 24 3 + 24	1 2	— —	甲 — 甲 1:200	秋 — 秋 1:100	伤 1:100	秋	甲	甲
3 + 40 3 + 40	1 2	— —	甲 1:200 甲 1:200	福 1:200 福 1:200		福	甲	甲
3 + 30 3 + 30	1 2	— —	甲 — 甲 1:100	乙 — 乙 —		乙		甲
3 + 19 3 + 19	1 2	— —	甲 1:100 甲 1:200	396 1:200 396 1:100		396	甲	甲
24 + 6 24 + 6	1 2	— —	秋 1:50 秋 1:50	巴 1:10 巴 1:10	伤 1:10, 牛 1:20 伤 1:50, 牛 1:10	巴	巴	巴
24 + 40 24 + 40	1 2	— —	秋 1:50 秋 1:200	福 1:200 福 1:200	伤 1:50, 牛 1:200 伤 1:10, 牛 1:100	福		秋
24 + 30 24 + 30	1 2	— —	秋 1:100 秋 —	乙 1:10 乙 —	牛 1:100	乙		乙
24 + 19 24 + 19	1 2	— —	秋 — 秋 1:100	396 1:100 396 1:50	牛 1:50 牛 1:50	秋		秋
6 + 30 6 + 30	1 2	— —	巴 1:50 巴 1:50	乙 — 乙 —		乙	乙	乙
6 + 19 6 + 19	1 2	— —	巴 1:50 巴 1:50	396 1:100 396 1:200	伤 1:50 伤 1:10	396	巴	巴
6 + 40 6 + 40	1 2	— —	巴 1:10 巴 1:10	福 1:200 福 1:200		巴		巴
30 + 19 30 + 19	1 2	— —	乙 — 乙 —	396 396 1:200	伤 1:50, 牛 1:50	乙	乙	
30 + 40 30 + 40	1 2	— —	乙 1:10 乙 —	福 1:200 福 1:100		福	乙	
19 + 40 19 + 40	1 2	— —	396 396 1:100	福 福 1:200		396		

注：甲、乙、巴、秋、396、牛、伤和福分别代表澳洲甲型、澳洲乙型、巴达维亚型、秋季热型、牛型、流感伤寒型和福建二型，以下同。

以,如何区分两型的双重感染和单型的类属反应所出现的血清型别是很重要的。

在两型同时感染试验中,还发现以血清学方法(凝集溶解试验)检查的血清型别,与从血液以通常的病原分离法和血清学定型方法所判定的菌型有不符合的。从表 1 看,3 + 30 两型菌株感染的 1 只豚鼠(B),血清抗体检查为澳洲甲型,而从血液分离的菌型为澳洲乙型。24 + 19, 6 + 30, 30 + 40 等两型感染者,得到同样结果。

(二) 为了查明按常规方法分离所得的培养物内是否有两型存在,特对两型双重感染的材料,在正常血清柯氏培养基分离成功后,经过鉴定为某型者,再移植于原感染菌型的两种免疫血清培养基内继续培养,并以正常血清培养基为对照,经过再定型后出现两种情况:(1)分离出两型菌株,除原来鉴定的型别外,还有另一型存在。(2)只分离出一型菌株,与原鉴定的型别相同。这里指出一个很有意义的问题,即按目前常规培养和鉴定方法,判定为某型的培养物内,还有另外一型存在,鉴定时所以未发现,是因受型间拮抗作用,只有一型大量繁殖,菌数增多,另外一型受到压制,不能发育,菌数很少,用凝集溶解试验不能发现,但未死亡,所以当移植于不同型免疫血清培养基时,受到同型免疫血清的作用,不能生长,结果异型菌株发育起来,所以分离出两型菌株。从表 2 还可看出另外一种情形,即从两型感染材料新分离的菌株,经鉴定为某型者,移于同型免疫血清内,仍能发育,这种现象是很有意义的,将于另文报告。

表 2 从两型感染豚鼠血液分离的菌株通过免疫血清培养后定型结果

两型感染菌株号	豚鼠号	按常法培养和鉴定菌型	通过免疫血清培养后再鉴定菌型	
3 + 6	1	巴达维亚型	巴达维亚型 (甲)	澳洲甲型 (巴)
3 + 6	2	巴达维亚型	巴达维亚型 (甲)	巴达维亚型 (巴)
3 + 24	1	秋季热型	秋季热型 (甲)	秋季热型 (秋)
3 + 24	2	秋季热型	秋季热型 (甲)	秋季热型 (秋)
3 + 30	1	澳洲乙型	澳洲乙型 (甲)	澳洲乙型 (乙)
3 + 30	2	澳洲乙型	澳洲乙型 (甲)	澳洲乙型 (乙)
3 + 19	2	396 型	396 型 (甲)	396 型 (396)
24 + 6	1	巴达维亚型	巴达维亚型 (巴)	巴达维亚型 (秋)
24 + 6	2	秋季热型	秋季热型 (巴)	巴达维亚型 (秋)
24 + 40	1	福建二型	福建二型 (秋)	秋季热型 (福)
24 + 30	1	澳洲乙型	秋季热型 (乙)	澳洲乙型 (秋)
24 + 30	2	澳洲乙型	秋季热型 (乙)	
24 + 19	1	秋季热型	秋季热型 (秋)	秋季热型 (396)
24 + 19	2	396 型	396 型 (秋)	秋季热型 (396)
6 + 30	1	澳洲乙型	澳洲乙型 (巴)	澳洲乙型 (乙)
6 + 19	1	396 型	396 型 (巴)	396 型 (396)
6 + 19	2	巴达维亚型	巴达维亚型 (巴)	巴达维亚型 (396)
6 + 40	1	巴达维亚型	福建二型 (巴)	巴达维亚型 (福)
6 + 40	2	福建二型	福建二型 (巴)	巴达维亚型 (福)
3 + 19	1	澳洲乙型	澳洲乙型 (乙)	澳洲乙型 (396)
3 + 19	2	澳洲乙型	澳洲乙型 (乙)	澳洲乙型 (396)
19 + 40	1	396 型	福建二型 (396)	396 型 (福)
19 + 40	2	396 型	福建二型 (396)	396 型 (福)

注: 括号内菌型系指加入培养基内免疫血清的型别。

關於兩型鉤端螺旋體的自然雙重感染，Alexander 氏等^[2]做了討論，引証一些學者從同一患者和同一只動物分離出兩型菌株，這要求我們對混合感染給予應有的注意。

結 論

(一)兩型鉤端螺旋體同時侵入機體後，各自存在，用培養基內添加免疫血清的培養方法，可從一種材料中分離出這兩型菌株。兩型菌株在機體內產生各自抗體，但兩型抗體效價可能有高低差別。

(二)在兩型雙重感染試驗中發現，以現行血清學方法檢出的血清型別與病原學方法分離的菌型不相符合，是由於兩型抗體產生的差異以及病原分離方法的缺陷所致。

(三)試驗結果指出，目前採用的鉤端螺旋體分離培養和定型方法，只適用於單型感染，却不能認識兩型的雙重感染，故需加以改進。

參 考 文 獻

- [1] 于恩庶等：微生物學報，11(1)：1965。
[2] Alexander, A. D. et al.: *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 6:371, 1957.

RELATIONSHIP BETWEEN TWO TYPES OF LEPTOSPIRA IN VITRO AND VIVO

II. A STUDY ON THE STATE OF GROWTH OF TWO TYPES OF LEPTOSPIRA IN MIXED INFECTIONS

YU EN-SHU AND WU HSI-YI

(Fukien Research Institute of Epidemic Diseases, Foochow)

In this paper, the authors described the state of growth of two types of leptospira, simultaneously infecting a guinea pig. Six types of leptospira were divided into 15 groups, each of which was used to infect two guinea pigs. After a lapse of time it was shown that both types could grow and reproduce in the same animal without appearance of mutual suppressive effect shown *in vitro*. But could be easily isolated from the same material with medium incorporated with anti-serum.

However, in addition, some of the leptospira strains with which the sera of the infected animals reacted were found to differ from the types of strains inoculated. It was considered to be due to a special immunological response by the animals to the combined antigenicity of the two types.

From the data obtained, the authors concluded that the currently employed culture procedure can only be used in an animal or man with a single type infection and is not suitable for the examination of cases with dual infections. A more sensitive laboratory test has been developed and successfully tried out in practice for the detection of leptospiral diseases in man and animals with infections of more than one sero-types.