

## 动物实验感染恙虫病立克次氏体后对变形杆菌 OXK 血清学反应的观察

李 洸 何南祥 馬 瑤 楊領招

(浙江医学科学院微生物学研究所, 杭州)

近年来, 许多人以动物血清对 OXK 菌株之凝集反应作为恙虫病自然疫源地调查或作为立克次氏体分离的指征之一。

本文选泽浙江株恙虫病立克次氏体 2 株, 感染小白鼠、大白鼠、豚鼠及家兔。在感染后每隔 1 星期取血 1 次, 其血清对立克次氏体补体结合试验均呈阳性反应, 而对变形杆菌 OXK 菌株凝集反应则为阴性。

根据上述结果, 我们认为外斐氏 (OXK 菌株) 反应用于恙虫病自然疫源地动物宿主的调查, 或作为分离立克次氏体的一种初步指征的价值十分有限, 并且还是可疑的。

早在 1916 年, Weil 与 Felix<sup>[1]</sup> 从斑疹伤寒患者尿中分离出变形杆菌 X 菌株, 并发现患者的血清与变形杆菌 OX<sub>19</sub> 与 OX<sub>2</sub> 两菌株可发生凝集反应, 特别是与前者凝集效价较高。继后 Kingsbury 及 Fletcher<sup>[2]</sup> 分离得能与恙病患者血清发生凝集反应之另一株变形杆菌, 并定名为 OXK 菌株。

斑疹伤寒及恙虫病均由立克次氏体所引起, 此等患者血清能与变形杆菌发生非特异性凝集反应, 认为是由于立克次氏体与变形杆菌之间含有碳水化合物之共同成分所致<sup>[3]</sup>, 故至今实验室中尚以外斐氏反应作为临床上血清学诊断之方法。

近年许多工作者, 以动物血清对 OXK 菌株之凝集反应作为恙虫病自然疫源地调查或其立克次氏体分离之指征之一。赵树萱等<sup>[4]</sup> 在调查恙虫病自然疫源地时, 选择血清对 OXK 凝集效价在 1:40 以上的鼠类之脾脏, 作为立克次氏体的分离。丘福禧等<sup>[5]</sup> 认为捕获鼠体血清中具有 OXK 凝集素系与其感染恙虫病之立克次氏体有关。

据文献报告, 豚鼠感染斑疹伤寒立克次氏体后, 并不产生对 OX<sub>19</sub> 凝集素<sup>[6]</sup>, 至于动物受恙虫病立克次氏体实验感染后, 其血清中究竟能否产生对变形杆菌 OXK 之凝集素, 则有助于阐明该反应对恙虫病疫源地调查中之意义。本文即报告此实验结果。

## 材料与方法

### 一、实验动物感染用菌株

恙虫病立克次氏体第 210 株, 系 1956 年从某地区恙病患者分离, 试验时通过小白鼠 74 代, 鼠脾悬液的腹腔 50% 致死量 (LD<sub>50</sub>) 10<sup>-6.3</sup>/0.3 毫升。第 61105 株, 系 1961 年从某地区鼠体中分得, 试验时通过小白鼠 58 代, 鼠脾悬液的腹腔 50% 致死量 (LD<sub>50</sub>) 10<sup>-7.36</sup>/0.3 毫升。

### 二、实验动物感染方法

1. 小白鼠 体重 18—22 克, 雌雄不分, 共计用小白鼠 250 只, 分成 2 批。共 125 只, 分 3 次皮下注射第 61105 株恙虫病立克次氏体之鼠脾悬液, 感染剂量依次为 0.5、100 及 1 万

本文 1964 年 2 月 18 日收到。

LD<sub>50</sub>/0.3 毫升, 每次间隔 10 天, 第三次感染后, 取其中 100 只按常法用于 50% 致死量 (LD<sub>50</sub>) 保获指数测定; 另 25 只分作 5 组, 每组 5 只, 用作血清学检查。另一批 125 只为正常对照组。

2. 家兔 白色短毛, 体重 1.5 公斤, 购自农村并在本院动物室饲养 2 星期后使用, 共用 4 只, 每只皮下感染 1 次 50 万 LD<sub>50</sub>/0.3 毫升的鼠脾悬液 2 毫升, 1 号及 2 号家兔感染第 210 株恙虫病立克次氏体, 3 号及 4 号感染第 61105 株恙虫病立克次氏体。

3. 大白鼠 体重 330—350 克, 本院动物室繁殖饲养, 雌雄不分。皮下感染 1 次 10 万 LD<sub>50</sub>/0.3 毫升第 61105 株恙虫病立克次氏体的鼠脾悬液 1.5 毫升, 共计 4 只。

4. 豚鼠 共 10 只, 本院动物室繁殖, 体重 400—470 克, 雌雄不分, 4 只感染第 210 株, 6 只感染第 61105 株恙虫病立克次氏体。感染量及方法同大白鼠。

上列实验动物除家兔在感染前取血, 其余均于感染后每隔 7 天分别取血, 进行外斐氏试验及恙虫病立克次氏体补体结合反应, 以观察抗体反应情况。

三、血清学反应应用抗原

1. 外斐氏抗原 变形杆菌 OXK, OX<sub>19</sub> 及 OX<sub>2</sub> 菌株于 1956 年得自卫生部生物制品研究所, 按照生物制品制造检定规程培养制备<sup>[7]</sup>; 并以上海生物制品研究所制造之外斐氏诊断抗原, 进行实验对照, 上述二种抗原所呈血清反应结果相同。

2. 恙虫病立克次氏体抗原 以第 61105 株感染人胚肾细胞第三代培养物, 收获时在细胞内有丰富之立克次氏体, 并经低温冰冻及低速离心沉淀, 除去细胞, 取其上清液, 作为补体结合抗原, 其滴定效价为 1:8。

结 果

上述动物实验感染恙虫病立克次氏体后之血清学反应如下:

一、小白鼠经感染恙虫病立克次氏体后, 间隔 7—35 天, 分批放血, 其血清对外斐氏 (OXK 菌株) 反应均为阴性, 而对人

胚肾细胞立克次氏体抗原补体结合效价则达 1:8—1:16。

此外, 小白鼠同上法经恙虫病立克次氏体皮下免疫后, 可耐受对同株立克次氏体之 10<sup>-1</sup>—10<sup>-5</sup> 鼠脾悬液 0.3 毫升之腹腔攻击 (保获指数 >10<sup>-4</sup>), 表明免疫后之小白鼠已产生特异性抗体。结果见表 1, 2。

表 1 小白鼠感染恙虫病立克次氏体后之血清抗体反应

组 别		末次感染后之天数	对变形杆菌 OXK 凝集效价	对恙虫病立克次氏体补体结合效价
1	实验组	7	1:10(—)	1:8
	对照组		1:10(—)	0
2	实验组	14	1:10(—)	1:16
	对照组		1:10(—)	0
3	实验组	21	1:10(—)	1:16
	对照组		1:10(—)	0
4	实验组	28	1:10(—)	1:16
	对照组		1:10(—)	0
5	实验组	35	1:10(—)	1:16
	对照组		1:10(—)	0

表 2 小白鼠感染恙虫病立克次氏体后保护指数

组 别	末次感染后之天数	LD <sub>50</sub> 指 数 测 定		
		感 染 组	对 照 组	保护指数
6	7	0	>5.0	>5.0
7	14	<1.0	>5.0	>4.0
8	21	0	>5.0	>5.0
9	28	0	>5.0	>5.0

注: 表中数字均为负对数。

二、1 号及 2 号 2 只家兔在感染前的血清对外斐氏反应均呈阴性, 感染后仍为阴性, 而对立克次氏体补体结合试验在感染前为阴性, 于感染后效价升为 1:8 及 1:16。另 3 号及 4 号 2 只家兔血清在感染前对 OXK 及 OX<sub>2</sub> 抗原有 1:80 及 1:20 之效价, 而感染后之效价并未见上升。但对立克次氏体补体结合试验则由感染前之阴性而上升至 1:8 及 1:16。

三、4 只大白鼠及 10 只豚鼠之血清于感染后对立克次氏体抗原行补体结合试验, 出现不同程度的阳性, 而对 OXK 抗原的凝集反应, 则均为阴性。

## 讨 论

实验结果指出, 某地区所分离的第 210

株及第 61105 株恙虫病立克次氏体, 经皮下感染小白鼠、大白鼠、家兔及豚鼠 7—35 天后, 其血清对立克次氏体补体结合试验均呈阳性反应, 效价在 1:4—1:16 之间。此外, 小白鼠同上法实验感染后, 具有对同株立克次氏体的保护作用, 保护指数  $> 10^{-4}$ 。说明这些动物体内已产生特异性抗

表 3 某地区鼠类血清之外斐氏试验

受检份数	OXK						OX <sub>19</sub>				OX <sub>2</sub>			
	阳 性		1:20	1:40	1:80	1:160	1:20	1:40	1:80	1:160	1:20	1:40	1:80	1:160
	份数	%												
412	220	53.4	42	76	89	13	25	67	90	4	5	9	23	16

体。而同样的上述血清, 对变形杆菌 OXK 菌株凝集反应则为阴性。此外, 本实验之 4 只家兔中, 有 2 只之血清于实验前对外斐氏反应已呈阳性, 经实验感染恙虫病立克次氏体后, 其血清对变形杆菌凝集效价仍无变化。而对立克次氏体抗原补体结合效价, 则由阴性而升高为 1:16。由此说明, 本次实验所用动物经皮下感染恙虫病立克次氏体后, 并不产生对变形杆菌 OXK 菌株的凝集素, 这与豚鼠感染斑疹伤寒立克次氏体后并不产生对变形杆菌 OX<sub>19</sub> 凝集素的结果相同<sup>[6]</sup>。Shosaku Ishikawa<sup>[8]</sup> 用 8 株恙虫病立克次氏体加佐剂多次接种小白鼠后, 其中 2 株出现 OXK 凝集素, 而其余 6 株均为阴性。由此可以看出动物实验感染恙虫病立克次氏体后, 一般并不产生 OXK 凝集素, 但可能少数菌株在加佐剂后则可产生 OXK 凝集素, 于恩庶等<sup>[9-11]</sup> 报告豚鼠及家兔多次实验感染恙虫病立克次氏体后, 血中可出现低度 OXK 凝集素, 这与本实验结果不同, 可能是由于所用之菌株不同, 或是感染方法不同所致。但该文并未指出 OXK 阳性的动物血清中同时对立克次氏体补体结合抗原之反应及保护指数情况如何。

我们曾于 1955 年自某地野外捕获的鼠类 412 只中对 OXK 菌株呈阳性者 220 只, 阳性率 53.4% (见表 3), 但并未从这些鼠类中分离得恙虫病立克次氏体。继后我们又在某地区, 自野外捕捉的鼠类 608 只中, 对 OXK 菌株呈 1:20 以上凝集效价者有 383 只, 阳性率为 63%。将该 383 只以 3—8 只为一组, 分为 48 组, 结果分离得恙虫病立克次氏体 13 株, 阳性率 27% 强。而将 225 只对 OXK 凝集阴性者分为 35 组, 分离得恙虫病立克次氏体 9 株, 阳性率 25% 强。由二者分离之立克次氏体阳性率相近。从以上现场调查的结果, 似乎可说明鼠类血清中具有变形杆菌凝集素, 与感染恙虫病立克次氏体无关。至于动物血清中出现对变形杆菌 OXK 菌株凝集素之原因尚待研究, 或由于动物本身感染变形杆菌所致。

综上所述, 我们认为外斐氏 (OXK 菌株) 反应来用于恙虫病自然疫源地动物宿主的调查, 或作为分离立克次氏体的一种指征, 其价值是十分有限或很是可疑的。

## 参 考 文 献

- [1] Weil, E., and Felix, A.: *Wien Klin Wchnschr.*,

- 29: 33—35, 1916.
- [2] Fletcher, W., Lesslar, J. E. and Lewthwaite, R.: *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **23**: 57—70, 1929.
- [3] Castaneda, R. A. and Zia S.: *J. Exp. Med.*, **58**: 55—62, 1933.
- [4] 赵树党、赵春芳、许兆奎、吴启文、杨淑英: 微生物学报, **1**: 42—56, 1953。
- [5] 丘福祿、鍾惠瀾、杨建理、郑哈才、贺联印、罗有汉: 微生物学报, **8**: 65—72, 1960。
- [6] И. Ф. Здродовский и Е. М. Голиневиц: *Учение о Риккетсиях и Риккетсиозах.*, 178, Медгиз—195. Москва, 1956.
- [7] 中华人民共和国卫生部生物制品委员会: 生物制品制造及检定规程, 73, 1959。
- [8] 石川正策: *Virus*, **6**: 488—492, 1956.
- [9] 于恩庶、林师敬: 微生物学报, **5**: 45—48, 1957。
- [10] 于恩庶、林师敬: 微生物学报, **5**: 425—432, 1957。
- [11] 于恩庶、林师敬、陈锦良: 微生物学报, **5**: 183—188, 1957。

## OBSERVATION ON WEIL-FELIX REACTION IN EXPERIMENTAL *RICKETTSIA ORIENTALIS* INFECTION

LI GUANG, HE NAN-XIANG, MA YAO AND YANG LING-ZHAO

(Institute of Microbiology, Chekiang Medical Academy, Hangchow)

Various types of laboratory animals, including rabbits, guinea pigs, rats and mice, were infected with two strains of *Rickettsia orientalis*, Strain No. 210 from a human case, and Strain No. 61105 from a rat. The blood sera of these animals, which were all positive by the specific C. F. test, were used to examine for the agglutinin against *Proteus* OXK. In no case, was agglutinin in significant titre found, which corresponds to the negative

finding of *Proteus* OX<sub>19</sub> agglutinin in the case of experimental typhus infection in the guinea pigs. It may be mentioned that although positive Weil Felix reaction was found among the wild rats caught in this area, the finding bore no relationship with the percentage of positive isolations of the scrub typhus rickettsia. It is therefore concluded that care should be exercised in evaluating the W. F. reaction among the wild rodents.