

钩端螺旋体膨胀试验用于快速鉴定菌群的研究*

浙江人民卫生实验院卫生学微生物研究所

(杭州)

本文报导的膨胀试验,为一种鉴定钩端螺旋体菌群的快速而可靠的方法,经近二年的实验研究和现场考核应用,其结果可归纳如下:

1. 据我们实验研究,膨胀试验的抗血清浓度以 1:500 倍稀释为宜(指血清凝溶效价为 1:12800 之通常定群用诊断血清)。当此稀血清与同群钩端螺旋体各一接种环在玻片上加以混和,并覆以盖玻片,置于 400 倍暗视野下,于 10 分钟内观察结果,阳性时,可见钩端螺旋体发生膨胀、伸长和部分溶解等显著形态学变化。

2. 对 304 株不同群别的钩端螺旋体地方株(病人 37,猪 16,鼠 251)和国内 13 群 14 型标准菌分别进行了膨胀试验定群鉴定,并同时以凝溶试验作对照,结果两者完全相符。

3. 膨胀试验具有快速、简单、特异性高等优点。本文结果表明该法较凝溶试验更为优越,特别是可在“非常”条件下用于快速鉴定钩端螺旋体菌群。

通常在钩端螺旋体凝集溶解试验中,随着抗血清浓度的改变,可见到与其同群的钩端螺旋体有不同程度的溶解和凝集现象发生。我们从实践中发现如将钩端螺旋体置于一定浓度的相应抗血清中,菌体可迅速出现疏松、膨胀以至溶解等一系列特异而有规律的形态学改变。从而设想将此用于钩端螺旋体血清群别的快速鉴定。经近两年来的研究和实践,表明此种膨胀试验用在钩端螺旋体群别检定上,具有高度的特异性,与常规之凝溶试验相比,具有快速、微量、灵敏等优点。

一、膨胀试验

在洁净玻片上,加一接种环量之待检钩端螺旋体的培养物,再加同量的经 1:500 倍稀释的标准群血清(此血清浓度是在固定时间因素的条件下,以优选法求出,同群钩端螺旋体发生特异形变),混匀后覆以盖玻片,置 400 倍放大的暗视野显微镜下,于 10 分钟内观察被检钩端螺旋体之形态学

变化(温度要求为 15—37℃)。如菌体出现显著膨胀和蝌蚪状溶解形变,即为阳性结果[图(2)],而定为相应血清群别之钩端螺旋体。无此类形态学变化者判为阴性[图(1)]。

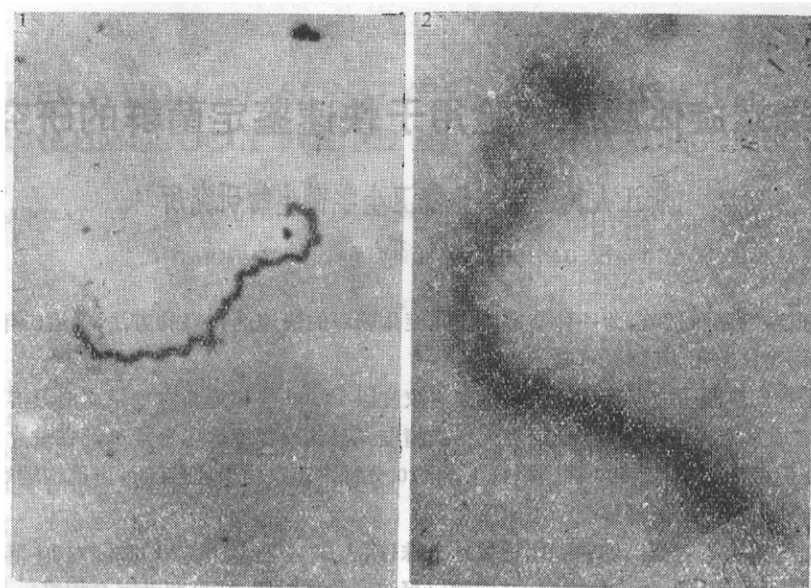
在普通暗视野显微镜下观察膨胀试验,如为阳性,最早可见钩端螺旋体行动变慢,旋转运动消失,随后为菌体疏松,膨胀变粗,可达原菌体 3—4 倍,各螺旋间界线模糊。溶解发生快的可看到尾部卷曲呈蝌蚪状,放置时间延长,有时可出现团块状凝集。

二、膨胀试验的特异性

标准钩端螺旋体群血清: 共为 12 群 13 型,系用不同血清群的抗原免疫家兔制成之诊断血清作凝溶试验,供钩端螺旋体定群之用,其凝溶效价为 1:12800,由上海

本文于 1974 年 11 月 6 日收到。

* 部分工作承余姚、鄞县、镇海、奉化、乐清、临海、绍兴及宁波地区防疫站协助,谨此致谢。



钩端螺旋体电子显微镜照片(6000×)
(1) 膨胀试验阴性; (2) 膨胀试验阳性。

表 1 两种方法用于钩端螺旋体血清群别鉴定的结果

菌株来源	菌株数	鉴定方法	鉴定结果				
			黄疸出血群	爪哇群	波蒙那群	七日热群	犬群
病人	37	膨胀试验	7	29		1	
		常法	7	29		1	
鼠	251	膨胀试验	217	33			1
		常法	217	33			1
猪	16	膨胀试验			16		
		常法			16		

生物制品研究所生产。

标准钩端螺旋体菌株: 13 群 14 型, 菌号为 56601—56610, 67028, 56612, 56613, 67020, 系上海生物制品研究所供给。

结果: 将标准菌株与相应的群血清作膨胀试验, 结果均为阳性, 而在不同群间均为阴性, 未见有交叉反应。表明具有严格的群特异性。

三、膨胀试验的实际应用

菌株: 分离自我省 1973 年以来钩端螺旋体病患者及其储存寄主猪、鼠体内, 共 334 株。

凝溶试验: 仍按常规方法进行定群, 作为对照。

结果: 以膨胀试验对被检菌株定群, 和常法(凝溶试验)作的结果完全一致(表 1)。

有 30 株钩端螺旋体由于种种原因(指菌数太少, 杂菌污染严重, 菌液量少有失传

表 2 30 株钩端螺旋体膨胀试验定群结果

菌株来源	菌株数	鉴定结果		
		黄疸出血群	爪哇群	波蒙那群
病人	6	3	3	
鼠	23	23		
猪	1			1

危险等),无法应用凝溶试验定群,经用膨胀试验后定出了群别(表2)。

四、讨 论

钩端螺旋体的定群迄今习用凝溶试验,不但费时2—3小时,而且要求适宜的菌数和菌龄,在试验条件要求上比较严格,因而有待改进。对此,近年来已见有应用钩端螺旋体免疫炭血清进行快速定群的报导^[1]。本文介绍的膨胀试验系在凝溶试验基础上,应用优选法,固定反应时间为10分钟,优选抗血清的合适滴度而成,故无需其他载体参加。此法经近二年实际应用,发现在菌群鉴定上有高度特异性,快速、微

量、灵敏操作简易,结果清晰,易为基层工作者掌握和应用。一批由于种种原因而无法用常规凝溶试验定群的钩端螺旋体也用此法鉴定出结果,从而显示了比凝溶试验具有更大的实用价值。凝溶试验要有一定的菌液浓度才能进行,而以个体为观察对象的膨胀试验,对此要求就比较低些。此外,就免除群间交叉来看,短时间观察反应,无疑将更为有利些。膨胀试验特异性较高,可能用于分型,待今后验证。

参 考 资 料

- [1] 鲍行豪:微生物学报,14(1):112,1974。

APPLICATION OF SWELLING TEST FOR THE IDENTIFICATION OF *LEPTOSPIRA* GROUPS

INSTITUTE OF HYGIENE AND MICROBIOLOGY, ZHEJIANG PEOPLE'S HYGIENIC
EXPERIMENTAL ACADEMY
(Hangzhou)

1. It was observed that swelling of *Leptospira* occurred immediately or in less than 10 minutes at room temperature when a loopful of 1:500 antisera (with a titre of 1:12,800) was mixed with a loopful of *Leptospira* suspension on a slide. Elongation and swelling of the cells, some of them at one end, were clearly observable by 400× magnification with darkfield illumination. Partial lysis of the microbes also occurred, but complete lysis did not take place. The reaction was considered to be positive when at least some swollen leptospira

or lysed organisms were present in each field examined.

2. Three hundred and four local strains of *Leptospira* were compared with the national standard strains for serological grouping with the swelling test and the classical agglutination-lysis reaction. Complete agreement were observed between these two methods.

3. The swelling test is a simple, specific and rapid method for identification of *Leptospira* groups. It is especially useful when the growth is sparse or contaminated with bacteria.