

钩端螺旋体的新血清型——蜜耗 4 型*

罗衡生 宋元锟 李显英 何晓青

(江西省卫生防疫站, 南昌)

从 1973 年我省分离的 689 株钩端螺旋体中, 分离到一株“黎川 130”, 经检定属于我国新发现的血清群——蜜耗群。这个血清群是世界卫生组织 (1967) 公布的 18 个群 124 型以外的一个独立的血清群。蜜耗群过去有 3 个型别, 即蜜耗 1—3 型。“黎川 130” 株经用凝集素吸收方法检定为新型, 建议命名为蜜耗 4 型。

为了调查了解我省近年来人、畜和野生动物感染钩端螺旋体的菌型分布情况, 我们每年分离和收集较大的菌株进行菌型检定。在 1973 年收集和检定的 689 株钩端螺旋体中, 从黎川县一名钩端螺旋体病患者血液中分离到一株编号为“黎川 130”, 经检定为蜜耗群的新型。本文报告这一菌株的检定结果

材 料

菌株

钩端螺旋体“黎川 130” 株系 1973 年由抚州地区卫生防疫站在黎川县钩端螺旋体病患者的

表 1 钩端螺旋体 13 群 14 型标准菌种

血清群	血清型	菌 号	相应国际菌株
黄痘出血	1 型	56601	Verdum
爪 哇	1 型	56602	Veldrat-Batavia 46
犬	1 型	56603	Hond Utrecht
拜 伦	1 型	56604	Mus 127
致 热	1 型	56605	Salinem
秋 季 热	1 型	56606	Akijami A
澳 洲	1 型	56607	Ballico
波 摩 那	1 型	56608	Pomona
流感伤寒	1 型	56609	与 Mockva 5 稍有差别
七 日 热	1 型	56610	Hebdomadis
七 日 热	2 型	56614	Jules 的完全型
巴达维亚	2 型	56612	Paidjan
豕	1 型	56613	Mitis Johnson
蜜 耗	2 型	56615	

血液中分离。供定群定型用的标准菌种, 由北京药品生物制品检定所提供, 其中供定群用的 13 群 14 型标准菌种, 其名称和菌号见表 1。供定型用的蜜耗群标准菌种为蜜耗 1 型 (菌号 56616)、蜜耗 2 型 (56615)、蜜耗 3 型 (56617)。

免疫血清

13 群 14 型免疫血清 (即表 1 标准菌种的相应血清) 和 13 群 45 型免疫血清均由北京药品生物制品检定所提供。

“黎川 130” 株的免疫血清

以 6—12 天生长良好的培养物, 经 56℃ 灭活 30 分钟, 于 2—2.5 公斤之健康家兔 (免疫前测定无自然抗体者) 耳静脉注射, 共注射 4 次, 剂量为 2、4、6、8 毫升, 每次间隔 5 天。末次注射后 7—10 天试测抗体滴度, 效价在 1:3000 以上, 放血清分离血清, 并按万分之一量加入硫柳汞, 于 4℃ 保存备用。

分型因子血清

13 群 45 型因子血清、由北京药品生物制品检定所提供。

方 法

凝集试验

采用 1:30、1:100、1:300、1:1000……………三倍稀释法。反应在凹板内进行, 抗原和稀释血

本文于 1977 年 10 月 10 日收到。

* 本菌株系江西省抚州地区卫生防疫站从黎川县分离到, 由北京药品生物制品检定所鉴定并给予指导。

清各加 0.1 毫升于 37℃ 1 小时后观察结果, 以 50% 菌体凝集最高血清稀释度为判定终点。

定群

将 13 群 14 型免疫血清稀释成不同的稀释度, 与待检菌作凝集试验, 以凝集滴度高的为初步定群依据。再用本菌免疫血清与 13 群 14 型标准菌作凝集试验, 复查初步定群结果。然后再用该群内各型的免疫血清作凝集试验, 以确定其群别。

定型

用群内各型的因子血清与待检菌作凝集试验, 以达到型因子血清效价 30% 以上者为定型标准。

凝集素吸收

吸收抗原: 取 7—14 天生长良好培养物, 加入甲醛溶液杀菌, 使浓度达 0.05—0.1%, 5000 转 30 分钟离心后去上清, 将其沉淀物用 0.1% 甲醛生理盐水洗下, 其总量为原培养物量 1%, 放冰箱备用。

吸收方法: 一般采用二次吸收法, 即取一份血清加两份抗原混合放 37℃ 4—6 小时, 再加二份抗原 37℃ 过夜, 然后用 3000 转/分钟, 离心 20 分钟吸取上清液作凝集试验。

判定标准: ①血清被吸收菌吸收后, 与吸收菌的凝集滴度(即残留效价)应在血清效价 1% 或以下, 视为吸收试验合格。②两株菌株的免疫血清用此两株菌株交互吸收后, 与本菌残留效价在原血清效价的 10% 或以上, 视为异型。同上情况如有一个血清的残留效价在 10% 以上, 而另一个血清的残留效价在 3% 或以下, 仍视为异型, 它们两者的抗原关系为完全型和不完全型关系。③两

个血清吸收后与本菌的残留效价均在 3% 或以下视为同型。

结 果

定群

“黎川 130”株与 13 群 14 型免疫血清作凝集试验, 结果与蚕耗群(蚕耗 2 型)免疫血清凝集达血清效价 100%, 与黄疸出血群(黄疸 1 型)免疫血清凝集仅达血清效价的 10%, 与其它各群免疫血清均不凝集。用“黎川 130”株的免疫血清与 13 群 14 型标准菌株作凝集试验, 仅与蚕耗群蚕耗 2 型凝集(30%), 与其它群菌株均不凝集, 复查初步定群为蚕耗群。

将“黎川 130”株与蚕耗群和相关的黄疸出血群, 两个相关群内各型免疫血清作凝集试验, 结果“黎川 130”株与蚕耗群各型免疫血清均凝集, 而与黄疸出血群则仅有与黄疸出血型呈 10% 的凝集(1974 年 5 月复查时 3% 以上不凝集) 其它各型均不凝集(表 2)。“黎川 130”株与 13 群 45 型标准免疫血清作凝集, 其结果同前。“黎川 130”应判定为蚕耗群。

定型

“黎川 130”株与蚕耗群 1—3 型因子血清作凝集试验, 结果均不凝集, 初步认为是蚕耗群内新型。

表 2 “黎川 130”株与蚕耗群和黄疸出血群各型免疫血清凝集试验结果

群 别	黄 疸 出 血 群					蚕 耗 群		
	1 型 Verdum	2 型 RGA	3 型 M 20	4 型 Naam	广 62	1 型	2 型	3 型
菌 号	56601	56618	56619	56620	67039	56616	56615	56617
免疫血清 3%	+++*	—	—	—	—	++++	++++	++++
免疫血清 10%	++	—	—	—	—	++++	++++	++++
免疫血清 30%	—	—	—	—	—	++++	++++	++
免疫血清 100%	—	—	—	—	—	++	++	—

* “—”表示菌体不凝集; “++”表示菌体 50% 凝集; “++++”表示菌体 100% 凝集。

凝集素吸收试验

将“黎川 130”株及免疫血清分别与蜜耗 1、2、3 型菌株及相应免疫血清作交叉凝集试验和凝集素吸收试验（见表 3）。从结果看出，蜜耗群 56616、56615、56617、及“黎川 130”血清未吸收时分别与 1 型 56616、2 型 56615、3 型 56617、4 型“黎川 130”具有较高的凝集反应，均达血清效价

的 30% 或 100%。蜜耗群 1—3 型(56616、56615、56617)血清分别用 4 型“黎川 130”菌株吸收后，其残留效价达原血清效价的 100%；“黎川 130”血清分别用 56616、56615、56617 三型菌吸收后，同样保留 100% 的残留效价。因此“黎川 130”菌株与蜜耗群 1、2、3 型是不相同的一个新型。

表 3 凝集素交叉吸收试验结果

血 清	吸 收 菌	凝 集 试 验 菌 株				剩余抗体成份
		1 型 56616	2 型 56615	3 型 56617	4 型 黎川 130	
56616	未吸收	100	100	100	100	
	56615	30	0	30	30	I:b
	56617	10	3	0	3	I:a
	黎川 130	100	30	30	0	I:c
56615	未吸收	30	100	30	100	
	56616	0	100	0	0	II:-
	56617	10	100	0	10	II:a
	黎川 130	30	100	30	0	II:c
56617	未吸收	30	30	100	30	
	56616	0	0	30	0	III:-
	56615	10	0	30	10	III:b
	黎川 130	30	10	100	0	III:c
黎川 130	未吸收	30	30	30	100	
	56616	0	0	0	100	IV:-
	56615	10	0	10	100	IV:b
	56617	3	3	0	100	IV:a

注：表中数字为达血清效价百分数，“0”表示小于 1%。

表 3 中蜜耗 1 型 56616 血清用蜜耗 2 型 56615 吸收后，仍保留 30% 残留效价，并同时与 3 型 56617、“黎川 130”株凝集，因此 56616、56617、“黎川 130”具有群因子“b”。56616 血清用 56617 吸收，仍保留 10% 残留效价，同时与 56615、“黎川 130”株凝集，因此 56616、56615、“黎川 130”具有群因子“a”。56616 血清用“黎川 130”株吸收后，仍保留 100% 的残留效价，同时与 56615、56617 凝集，因此 56616、56615、56617 具有群因子“c”。同上分析，56615、

56617、“黎川 130”血清分别用其它三型菌株吸收后的凝集反应结果都表明，它们各自具备有独特的型抗原和部分群因子。它们的抗原结构如表 4 所示。

表 4 蜜耗群各型抗原结构表

型 别	菌 号	型抗原	群 因 子
蜜耗 1 型	56616	I	a, b, c.....
蜜耗 2 型	56615	II	a, c.....
蜜耗 3 型	56617	III	b, c.....
蜜耗 4 型	黎川 130	IV	a, b.....

从以上实验结果,可以确定“黎川 130”株为蜚蠊群钩端螺旋体新型,建议命名为蜚蠊 4 型。

本菌株经北京药品生物制品检定所检定核实,并与国际标准菌株进行了核对,确定蜚蠊群是一个独立的血清群,即在世界卫生组织(1967)公布的 18 群 124 型钩端螺旋体中^[1],仅与致热群的 Alixi 型 HS₆₁₆株

有一定的交叉反应,与致热群其它各型无交叉,说明 HS₆₁₆ 株介于致热群和蜚蠊群之间。

参 考 资 料

- [1] W. H. O. Expert. Group on Current Problems in Leptospirosis Res. W. H. O. Techn. Rep. Ser., No. 380, 21—31, 1967.

A NEW SEROTYPE: *LEPTOSPIRA MANHAO* 4

Luo Heng-sheng, Song Yuan-ti, Li Xian-ying, He Xiao-qing

(Jiangxi Provincial Station of Sanitation and Epidemiology)

“Lichuan 130” is a strain of the genus *Leptospira* isolated from blood specimen of a leptospirosis patient in Jiangxi province in 1973. The results of the agglutination test and agglutinin cross absorption test showed that “Lichuan 130” is a new serotype of the “Manhao serogroup”, which was first isolated in China. Formerly, the “Manhao serogroup” included 3 serotypes, namely *Leptospira manhao* 1, 2, and 3. It is proposed that the new serotype “Lichuan 130” as reported in this paper, be named *Leptospira manhao* 4.

By means of antigen analysis, the four serotypes of the “Manhao serogroup” can be separated in antigenic formula as follows:

Leptospira manhao 1 I: a, b, c...

L. manhao 2 II: a, c...

L. manhao 3 III: b, c...

L. manhao 4 IV: a, b...

* i. e. Ho shiao-ching