

一个新的钩端螺旋体血清群——曼耗群

昆明军区后勤部军事医学研究所

(昆明)

卫生部药品生物制品检定所

(北京)

本文介绍了致病性钩端螺旋体的一个新的血清群——曼耗(Manhao)群的分群结果。

曼耗群钩端螺旋体与 Javanica, Celledoni Canicola, Cynopteri, Autumnalis, Australis, Pomona, Grippotyphosa, Hebdomadis, Bataviae, Tarassovi, Shermani, Panama 等群各型没有阳性交叉反应。仅与 Pyrogenes 群中的 alexi 型 HS 616 株有共同的抗原因子联系,与 Pyrogenes 群内 pyrogenes 型等其他型没有交叉反应;另外还与 Icterohaemorrhagiae, Ballum 群个别型有低度的,不稳定的交叉反应。因此确定曼耗群是钩端螺旋体的一个新血清群。

到目前为止,本群各型地方株中除一株是由猪肾分离的外,其余菌株均获自钩端螺旋体病患者。尚未从其它常见的宿主动物中获得过本群钩端螺旋体。

1964—1965年,昆明军区后勤部军事医学研究所(下称昆明所)赴曼耗钩端螺旋体(下称钩体)工作组,于早期轻症钩体病患者血液分离得到数株钩体。经血清学初步检定,与当时所用12群钩体国际参考标准菌株均不相同。1967年经中国人民解放军军事医学科学院及卫生部药品生物制品检定所(下称检定所)核对,确定与14个群国际参考标准菌株不同。1969年再经北京钩体菌型检定协作组核对,并正式命名为曼耗群(Manhao)钩体,包括3个血清型。1977年检定所又与新引入的国际株 Panama, Shermani 等群钩体核对也不相同,再次证实曼耗群钩体是目前国际分类中未包括的一个新的血清群。

现将历次检定结果综合报道如下。

材料和方 法

(一) 菌株

曼耗群钩体: 56616号(试验号 67008)株名

L70,56615号(试验号 67020)株名 L105,56617号(试验号 67022)株名 L60。以上3株分别于1964、1965、1964年于曼耗地区之早期轻症钩体病患者血液分离。

国际参考标准菌株: 1967年国际卫生组织380号技术报告^[1]中的全部菌株。

国内参考菌株: 包括曼耗群4株在内共13群57个血清型,其中23个血清型为我国发现的新型钩体。

参与试验的国内外全部菌株的血清群、群内血清型数,菌株数如下:

(二) 免疫血清

各群型免疫血清的制备方法: 将生长良好的5—10天培养物用0.1%福尔马林杀菌,以2、4、6、8毫升静脉注射2.5公斤以上的家兔,每次间隔5天,末次注射后10—12天,效价达1:3000以上时放血。免疫血清用冷冻干燥法保存。

(三) 凝集试验方法

免疫血清用生理盐水稀释成1:15、1:50、1:150、1:500……。在塑料凝集盘内加各稀释度血

本文于1978年8月12日收到。

血清群	型别数*	菌株数
Icterohaemorrhagiae	16	19
Javanica	6	8
Celledoni	5	6
Canicola	10	13
Balfum	4	5
Manhao	4	4
Pyrogenes	9	12
Cynopteri	3	3
Autumnalis	14	20
Australis	10	11
Pomona	7	8
Grippotyphosa	4	5
Hebdomadis	30	38
Bataviae	7	9
Tarassovi	12	14
Panama	1	1
Shermani	1	1
共 计	143	177

* 群内型别数为国际株型别数加上国内株新型数。

清 0.1 毫升后, 分别加入 0.1 毫升生长良好的活培养物, 混匀, 置 28—37°C 1 小时, 用暗视野显微镜观察凝集结果, 以 50% 以上钩体凝集为效价终点。

(四) 凝集素交叉吸收试验

吸收原: 生长良好的 5—10 天培养物用 0.1% 福尔马林杀菌, 8000—10000 转/分离心 30 分钟, 沉淀菌体, 去上清液, 用 1% 原体积的 0.1% 福尔马林盐水稀释, 作为吸收原。

吸收方法: 一般采用二次吸收法。取一份抗血清加入两份吸收原, 混匀, 置 28—37°C, 4—6 小时, 再次加入两份吸收原, 混匀, 置 28—37°C 过夜。次日, 3000 转/分离心沉淀 30 分钟, 取上清液作凝集试验。

吸收试验判定标准:

1. 两株菌的免疫血清经用两株菌的吸收原交叉吸收后, 吸收菌的残留效价在血清原效价的 1% 以下时, 吸收试验成立。

2. 两株菌的免疫血清经交叉吸收后, 其中一株菌的免疫血清之本菌效价达原效价的 10% 或 10% 以上时, 两株菌为异型菌。

3. 同上, 经交叉吸收后, 两份免疫血清的本菌效价均在原效价 10% 以下时, 两株菌为同型菌。

一份血清同时用两个吸收原吸收时, 吸收原先作等量混合。

结 果

(一) 曼耗群钩体的定群结果

自 1969 年曼耗群 1—3 型钩体命名后, 曾多次与 16 群 120 株国际参考标准菌株作过凝集试验观察。其不同批次的免疫血清有时与拜伦群, 黄疸出血群个别型钩体有不稳定的、低度的交叉。与致热群 alexi 型 HS 616 株 (1973 年来自荷兰) 钩体有较为稳定的交叉反应, 与致热群中的其他型及其他各群型钩体均没有明显的交叉反应。故曼耗群钩体是一个独立的新的血清群钩体。

(二) 曼耗群钩体与 alexi 型钩体的交叉吸收结果

检定所在核定新引入的 alexi 型 HS616 株 (56157 号) 钩体时发现, 该株与曼耗群各型钩体均有阳性交叉反应, 为此作了进一步的吸收试验, 结果见表 1。

从表 1 中可以看出:

1. 曼耗群各型钩体均与 alexi 型 HS616 株有较高的阳性交叉反应。

2. 曼耗群钩体与致热群致热型等群内其他型钩体没有阳性交叉反应 (pyrogenes 型 salinem 株, zannoni 型 zannoni 株, myocastoris 型 LSU 1551 株, robinsoni 型 robinson 株, manilas 型 LT 398 株亦无交叉反应, 未列结果)。

3. 吸收结果说明, alexi 型 HS 616 株的抗原成份分为两部分, 一部分与曼耗群钩体有关, 一部分与致热群各型有关。HS 616 株与曼耗群各型钩体不同。

(三) 曼耗群钩体的分型

曼耗群钩体第 4 型已有报告^[2], 本文仅报告 1—3 型的分类结果, 情况见表 2。

从表 2 可以看出, 56616 号、56615 号、

表 1 曼耗群各型构体与 alexi 型 HS616 株交叉吸收结果

免疫血清				吸收菌号	各型凝集菌、凝集效价(%)											
免疫菌			效价		曼耗群				致热群							
血清群	血清型	菌号			56616	56615	56617	黎川130	56157	56605	61A	71022	56122	56123		
Manhao	manhao1	56616	1:1000	—	100	100	100	100	100	—	—	—	—	—		
				56157	100	30	100	10	—	—	—	—	—	—		
	manhao2	56615	1:3000	—	30	100	100	10	30	—	—	—	—	—		
				56157	10	100	30	3	—	—	—	—	—	—		
	manhao3	56617	1:1000	—	100	30	100	100	30	—	—	—	—	—		
56157				30	30	100	—	—	—	—	—	—	—			
Pyrogenes	alexi	黎川130	1:10000	56157	3	1	3	30	—	—	—	—	—	—		
				56157	1:3000	—	30	30	10	100	100	100	30	30	100	100
				56605	—	10	10	10	30	30	—	—	—	—	—	
				61A	—	3	3	10	30	30	3	—	—	—	3	
				71022	—	3	3	10	30	30	3	—	—	3	3	
				56122	—	10	3	10	30	30	3	—	—	—	3	
				56123	—	10	10	30	100	100	3	—	—	10	—	
				56616	—	—	—	—	—	100	100	30	30	100	100	
				56615	—	—	—	—	—	100	100	30	30	100	100	
				56617	—	—	—	—	—	30	100	100	30	30	100	100
黎川130	—	—	—	—	—	—	100	100	30	10	100	100				

注: 1. 同一个菌株的免疫血清, 吸收原及凝集菌一律用本菌号。

2. 56605 号菌为 pyrogenes 型国内参考标准菌株。

61A 号菌为 zanoni 型国内参考标准菌株。

71022 号菌为 abramis 型国内参考标准菌株。

56122 号菌为 biggis 型国际参考标准菌株。

56123 号菌为 hamptoni 型国际参考标准菌株。

表 2 曼耗群 1—3 型构体交叉吸收结果

免疫血清			吸收菌号	各型凝集菌、凝集效价(%)		
免疫菌		效价		56616	56615	56617
血清型	菌号			56616	56615	56617
manhao 1	56616	1:3000	—	100	30	30
			56615	10	—	10
			56617	10	3	—
			56615	10	—	—
			56617	10	—	—
manhao 2	56615	1:3000	—	10	100	10
			56616	—	10	—
			56617	3	10	—
manhao 3	56617	1:3000	—	30	30	100
			56616	1	—	30
			56615	10	—	30

56617 号 3 株菌各是一个血清型。其中以 1 型 56616 号株的抗原成份最为复杂。

(四) 关于群代表株的问题

据多年普遍应用的情况, 曼耗群以曼耗 2 型 56615 号为群代表株, 国内通用的 13 群 15 型诊断血清中, 此株用试验号 67020。

讨 论

现已发现曼耗群钩体有第 4 型等, 从已得到的资料来看, 各地分离到的地方菌株中, 除安徽省从猪肾中分离过一个曼耗 2 型(凤阳, 297 号)钩体外, 其他菌株均系从患者分离。尚未从其他家畜、啮齿目、食虫目以及两栖类动物中获得过。

成都生物制品研究所, 昆明所等曾利用用心培养法作过本文 1—3 型钩体的交叉保护力观察, 证明这些菌株能使豚鼠感染, 但没有致死毒力。

自 Wolff-Broom 二氏^[3]统一钩体的血清学分类方法以来, 新的血清群, 特别是新的血清型不断被发现。七十年代以来, Babudiri^[4], Turner^[5] 等报告又有 Ranarum 群及 Bufonis 群两个新血清群各有一个型

钩体被发现, 曼耗群各型钩体与这两个群(型)钩体的关系, 尚有待引入菌株后作进一步观察。

从目前分类现状来看, *Icterohaemorrhagiae*, *Javanica*, *Celledoni*, *Canicola*, *Ballum*, *Manhao*, *Pyrogenes*, *Autumnalis*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Panama* 等血清群钩体为一个“大群”, *Hebdomadis* 血清群为一个“大群”, *Bataviae*, *Tarassovi*, *Shermani* 等血清群钩体为又一个“大群”。这些大群的不同血清群钩体之间是有不同程度的血清群间的交叉反应。曼耗群钩体似应归属黄疸出血-流感伤寒这个“大群”之中, 它们的群间交叉并不影响曼耗钩体的独立地位。

参 考 文 献

- [1] W. H. O. Techn. Rep. Series, No. 380, 1967.
- [2] 江西省卫生防疫站: 微生物学报, 18(2):91—94, 1978.
- [3] Wolff, J. W and J. C. Broom: *Doc. Med. Geogr. Trop.*, 6: 78—95, 1954.
- [4] Babudiri, B.: *Ann. Ist. Super. Sanita*, 8: 159—196, 1972.
- [5] Turner, L. H.: *Provisisonal list of serotypes, the biology of parasitic spirchetes*, 104—106, 1976.

A NEW SEROGROUP OF PATHOGENIC *LEPTOSPIRA*—MANHAO

Institute of Military, Department of Logistics
of Kunming Military Area

(Kunming)

National Institute for the Control of Pharmaceutical
Biological Products, Ministry of Health

(Beijing)

A new serogroup of pathogenic *Leptospira* Manhao is presented in this paper.

Leptospira serogroup "Manhao" has no positive cross reaction with serogroup Javanica, Celledoni, Canicola, Cynopteri, Australis, Autumnalis, Pomona, Grippotyphosa, Hebdomadis, Bataviae, Tarasovi, Shermani, and Panama. It has only common antigenic factor with serotype alexi, but no cross reaction with other serotype in serogroup pyrogenes.

Besides, it has unstable low titer cross reaction with individual serotypes of serogroup Icterohaemorrhagiae, Ballum. Based upon the results mentioned above, *Leptospira* serogroup "Manhao" is assigned as a new serogroup of pathogenic *Leptospira*.

Except one strain from pig kidney, all strains of *Leptospira* serogroup "Manhao" have been isolated from patients only. No strain has been obtained from common host animals.