

钩端螺旋体四个新血清型的鉴定

李 翠 芝

(云南省流行病防治研究所, 下关)

李 昭 华 高 吉 元

(卫生部药品生物制品检定所, 北京)

本文报告从云南省的病人和动物分离出的钩端螺旋体地方株中 4 个新血清型的鉴定结果。检定 L82 株及 S590 株为爪哇群, 分别命名镇康型(Zhenkang)、勐马型(Mongma); S621 株为致热群孟连型(Menglian); L100 株为塔拉索夫群云县型(Yunxian) 钩端螺旋体。

关键词 钩端螺旋体; 镇康型钩端螺旋体; 勐马型钩端螺旋体; 孟连型钩端螺旋体; 云县型钩端螺旋体

1980—1981 年, 云南省镇康县卫生防疫站、云县卫生防疫站和我所, 从云南省的病人和动物分离出 4 株钩端螺旋体地方株, 经鉴定为 4 个新血清型。现将鉴定结果报告如下。

材 料 和 方 法

(一) 菌株

L82 株钩端螺旋体(以下简称钩体)系 1980 年镇康县卫生防疫站从黄胸鼠肾脏分离。S590 株钩体系 1981 年我所从孟连县勐马公社勐阿贺养患者血液分离。S621 株钩体系 1981 年我所从孟连县民间运输站患者血液分离。L100 株钩体系 1981 年云县卫生防疫站从大邦控猪肾脏分离。

参考标准菌株: 由卫生部药品生物制品检定所供给。

(二) 方法

1. 凝集抗原: 使用改良柯索夫培养基(减去氯化钙, 加吐温 80 或维生素 B₁₂), 培养 7—10 天, 生长丰盛无自凝的活菌培养物。

2. 免疫血清制备: 免疫家兔用抗原同凝集抗原, 注射前 56℃ 灭活 30 分钟。家兔免疫 5 次, 分别于耳静脉注射抗原 2、4、6、8、8ml, 每次间隔 5 天, 末次注射后第 10 天颈动脉放血, 分离血

清, 加入硫柳汞防腐(终浓度 0.01%), 放 4℃ 冰箱保存。

进行分类鉴定时, 免疫血清作 1:5 及 1:50 两个浓度稀释后, 分别再作 10 倍间隔稀释。

3. 吸收试验: 抗原制备, 将培养 7—10 天菌液加入 10% 福尔马林杀死(终浓度 0.1%)。半小时后, 8000r/min 离心半小时, 弃上清液。沉淀物以 0.1% 福尔马林盐水回收(0.8—1%), 即为吸收抗原, 置 4℃ 冰箱备用。

吸收方法: 采用二次吸收, 1 份血清加 4 份抗原; 抗原分两次加入(间隔 4—6 小时); 加入抗原后摇匀, 放 28℃ 作用; 加第二次抗原后仍放 28℃ 温箱过夜。次日 3000r/min 离心半小时, 取上清稀释作交叉凝集, 放 28℃ 1 小时, 最后按反应的终点判定, 即抗原与血清的混合物出现 50% 的钩体发生凝集的最高血清稀释度为终点^[1]。

少数吸收菌残留滴度在 1% 以上者为不符合要求, 增大抗原吸收量, 血清按 1:10 作 2 次吸收, 即 1 份血清与吸收抗原的比例是 1:(5+4)。

根据 TSCL 1978 年在慕尼黑召开的会议上确认的 1967 年世界卫生组织的报告: “如果两个菌株的血清经用足够量的异型抗原交叉吸收之后, 至少在 1 个血清中仍残留同型效价的 10% 或更多, 则认为该 2 个菌株属于不同血清型”的定

本文于 1986 年 11 月 4 日收到。

义, 进行型别判断^[1]。

结 果

(一) L82、S590 株

经 16 个血清群 68 个血清型参考标准株交叉凝集试验定群, 仅与爪哇绥拉杜尼两群之间有较强的阳性交叉反应, 与其它群型钩体的交叉反应很低。因此, 在爪哇、绥拉杜尼两群的全部已知型株间进行交叉吸收, L82 株试验结果见表 1。L82 株不同于任何一已知型菌株, 是爪哇群新型钩体, 命名为镇康型 (Zhenkang)。S590 株与我国的勐润型 A102 株关系密切, 但又有不同(表 2), 暂命名为勐马型(Mongma)。

(二) S621 株

用 16 个血清群 68 个血清型的参考标准株作交叉凝集, 与绥拉杜尼和致热两群间有较高的阳性反应, 绥拉杜尼 10—30%, 交叉吸收试验结果见表 3。S621 株不同于任何已知型株。国际上把跨群的 Hampton 血清型 Hampton 株列入致热群。S621 株也是跨绥拉杜尼、致热两群。因此, S621 株定为致热群的一个新型菌株, 命名为孟连型 (Monglian) 钩体。

(三) L100 株

经与国内通用的 13 群 15 型参考标准株交叉凝集试验, 定为塔拉索夫群。与塔拉索夫群已知型交叉吸收凝集试验结果见

表 1 L82 株钩端螺旋体与爪哇及绥拉杜尼群各参考株间交叉吸收试验
Table 1 Cross agglutinin absorption tests of *Leptospiral* strains L82
with reference strains of Javanica and Celledoni serogroups

免疫血清 Antisera		各血清交叉吸收结果(%) Titer against antigen			
型 Serotype & strain	吸收菌株 Absorbed with	吸收前凝集 Homologous		吸收后凝集 Heterologous	
		本菌效价 Before	吸收后交叉 After	吸收前交叉 Before	吸收菌残留 After
Javanica					
L82	v. b. 46	100	30	100	—
L82	A 85	100	100	10	—
L82	80-27	100	100	1	—
L82	De 10	100	30	10	0.3
L82	Bandicoot 14	100	100	30	—
L82	Poi	100	300	30	—
L82	Cox	100	300	100	1
L82	Sorex jalna	100	100	30	—
L82	Sofia 874	100	100	100	0.3
L82	A 102	100	30	10	0.3
L82	LT 63-68	100	100	10	1
L82	Aa3	100	100	10	—
L82	Rr5	100	100	10	—
L82	Piyasena LT 1009	100	100	30	0.3
Celledoni					
L82	6712	100	100	30	0.3
L82	LT 90-68	100	100	30	0.3
L82	M 6906	100	100	3	—
L82	Whitcomb	100	100	30	0.3

表 2 S590 株钩端螺旋体与爪哇及绥拉杜尼群各参考株间交叉吸收试验
Table 2 Cross agglutinin absorption tests of *Leptospiral* strains S590 with reference strains of Javanica and Celledoni serogroups

免 疫 血 清 Antisera		各血清交叉吸收结果(%) Titer against antigen			
型 Serotype & strain	吸 收 菌 株 Absorbed with	吸收前凝集 Homologous		吸收后凝集 Heterologous	
		本菌效价 Before	吸收后交叉 After	吸收前交叉 Before	吸收菌残留 After
Javanica					
S590	V. b. 46	100	100	3	—
S590	Poi	100	100	3	—
S590	Cox	100	100	3	—
S590	Sorex Jalna	100	100	3	—
S590	Sofia 874	100	30	10	—
S590	Bandicoot 14	100	100	10	—
S590	Piyasena LT 1009	100	100	10	—
S590	LT 63-68	100	100	1	0.1
S590	Aa 3	100	100	1	—
S590	Rr5	100	100	1	0.1
S590	A 85	100	100	10	—
S590	80-27	100	100	30	0.1
S590	De 10	100	100	10	—
S590	A 102	100	1	30	0.1
Celledoni					
S590	LT 90-68	100	100	10	—
S590	M 6906	100	100	10	—
S590	Celledoni	100	100	—	1
S590	6712	100	100	10	—
S590	Whitcomb	100	100	10	—
Javanica					
A 102	S590	100	10	100	—

表 4。L100 株与耿马型 M48 株相似,但又有所不同。耿马型吸收后,一侧= tarassovi 型 pereplicin 株,另一侧>pereplicin 株。L100 株两侧均≠pereplicin 株,而是一侧=M48 株,另一侧>M48 株,它们之间关系密切,暂命名为云县型(Yunxian)钩体。

讨 论

云南省自然地理及生物种群复杂,钩

体菌型数是全国之冠。目前已检出 16 个血清群 57 个血清型,其中发现国际新型地方株 22 株。本文报道的 4 个新血清型分属 3 个血清群:爪哇、致热、塔拉索夫。爪哇群的 S590 株,从群间交叉看,似应定为绥拉杜尼群,但由于它与我国的爪哇群勐润型 A102 株关系密切,故列为爪哇群钩体。

S621 株患者是 1981 年 11 月 3 日发

表3 S621株钩端螺旋体与致热及缓拉杜尼群各参考株间交叉吸收试验
Table 3 Cross agglutinin absorption tests of *Leptospira* strains S621 with reference strains of Pyrogenes and Celledoni serogroups

免疫血清 Antisera		各血清交叉吸收结果(%) Titer against antigen			
型 Serotype & strain	吸收菌株 Absorbed with	吸收前凝集 Homologous		吸收后凝集 Heterologous	
		本菌效价 Before	吸收后交叉 After	吸收前交叉 Before	吸收菌残留 After
Pyrogenes					
Salinem	S621	100	30	30	1
Zanoni	S621	100	100	10	—
LSU 1551	S621	100	100	1	0.3
Abraham	S621	100	100	3	—
Biggs	S621	100	30	30	—
Hampton	S621	100	10	30	—
HS 616	S621	100	30	30	—
Robinson	S621	100	100	30	0.3
LT 398	S621	100	100	10	—
An-7705	S621	100	300	300	1
Julu P143	S621	100	30	30	—
LT 64-67	S621	100	100	30	—
TVRL 112499	S621	100	100	30	—
Celledoni					
S621	LT 90-68	100	100	30	1
S621	M 5906	100	300	30	—
S621	Celledoni	100	300	30	—
S621	6712	100	300	30	—
S621	Whitcomb	100	300	30	0.1
Pyrogenes					
S621	Salinem	100	100	10	—
S621	Zanoni	100	100	10	—
S621	LSU 1551	100	300	30	—
S621	Abraham	100	300	10	—
S621	Biggs	100	300	30	0.3
S621	Hampton	100	100	30	1
S621	HS 616	100	300	10	—
S621	Robinson	100	300	10	—
S621	LT 398	100	300	30	0.3
S621	AN-7705	100	100	30	0.3
S621	Julu P143	100	100	3	—
S621	LT 64-67	100	300	30	—
S621	TVRL 112499	100	100	30	0.3

表 4 L100 株钩端螺旋体与塔拉索夫群各参考株间的交叉吸收试验
Table 4 Cross agglutinin absorption tests of *Leptospiral* strains L100
with reference strains of Tarassovi serogroups

免 疫 血 清 Antisera		各血清交叉吸收结果(%) Titer against antigen			
型 Serotype & strain	吸收菌株 Absorbed with	吸收前凝集 Homologous		吸收后凝集 Heterologous	
		本菌效价 Before	吸收后交叉 After	吸收前交叉 Before	吸收菌残留 After
Tarassovi					
Perelicin	L100	100	30	100	—
Lc 79	L100	100	10	100	—
LT 81	L100	100	100	30	—
RP 29	L100	100	30	100	—
Kisuba	L100	100	30	3	—
Bravo	L100	100	100	—	—
Lsu 1013	L100	100	30	30	—
1913K LT 924	L100	100	30	—	—
1473K LT 839	L100	100	100	100	—
316 LT 955	L100	100	300	—	—
MR39-09 LT59-67	L100	100	10	30	—
LT 739	L100	100	100	3	—
LT 64-68	L100	100	100	—	—
LT 89-68	L100	100	10	10	—
M48 67045	L100	100	10	100	—
A31 67046	L100	100	100	10	—
A82	L100	100	100	30	—
81005	L100	100	1	100	—
114-2	L100	100	10	30	—
L100	Perelicin	100	30	100	—
L100	LT 79	100	100	30	—
L100	LT 81	100	100	30	—
L100	LT 29	100	100	30	—
L100	Kisuba	100	100	100	—
L100	Bravo	100	100	10	—
L100	Lsu 1013	100	100	30	—
L100	1913 LT924	100	100	10	—
L100	1473 KLT 839	100	100	100	—
L100	316 LT 955	100	100	3	—
L100	LT 59-67	100	100	10	1
L100	LT 739	100	100	10	—
L100	LT 64-68	100	100	—	—
L100	LT 89-68	100	30	100	—
L100	M48 67045	100	1	100	—
L100	A31 67046	100	100	10	—
L100	81005	100	30	30	—
L100	114-2	100	100	30	—

病, 11 月 18 日分离出钩体, 当时菌株定为致热群 (达到致热参考标准株血清效价的 30%, 其它菌群为 1:100 阴性)。1982 年又取患者血测抗体 1:50 阴性 (13 群 15 型)。间隔 4 年后, 因菌株定为新血清型, 我们又一次取患者血, 与本菌凝集的抗体效价为 1:400⁺⁺。有资料报道抗体维持时间可长达 7—22 年^[3]。原先未测出患者血中的抗体因致热参考株代表不了 S621 的原因。

L100 株与我国的塔拉索夫群耿马型

关系密切, 暂定为云县型 (Yunxian), 留作长期观察。

此次鉴定的 4 株新型钩体中, 有两株为暂定型, 需作长期观察, 再予检定。

参 考 文 献

- [1] 高吉元等: 中华微生物学和免疫学杂志, 1: 11, 1984。
- [2] Taine, S. (魏曦译): 《钩端螺旋体病防治指南》, 人民卫生出版社, 北京, 第 106 页, 1985。
- [3] 魏曦主编: 《钩端螺旋体病学》, 人民卫生出版社, 北京, 第 339 页, 1982。

IDENTIFICATION OF FOUR NEW STRAINS *LEPTOSPIRA*

Li Cuizhi

(Yunnan Provincial Institute of Epidemic Diseases, Xicuan)

Li Zhaohua Gao Jiyuan

(National Institute for the Control of Pharmaceutical and

Biological products, Ministry of Health, Beijing)

This paper reports the taxonomic results of new serovars of local *Leptospira* isolated from patients and animals in Yunnan province.

The names of these new serovars and their representative strains have been designated as serovar Mengma strain S590 and serovar Zhenkang strain L82 in Javanica serogroup;

serovar Menglian strain S621 in pyrogenes serogroup; serovar Yunxian strain L100 in Tarassovi serogroup.

Key words

Leptospira; *Leptospira mengma*; *Leptospira zhenkang*; *Leptospira menglian*; *Leptospira yunxian*