

一株与同种 13 个型抗原广泛交叉的嗜肺军团菌*

魏婉江 谢哲子 郭淑清

(山西医学院微生物学教研室 太原 030001)

万超群 左培军

(中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 北京 102206)

摘 要 从太原市郊晋阳湖水分离到一株细菌,命名为 Jin-1。其形态染色性、营养需要、生长特性、生化反应性、DNA 和蛋白质分析结果均符合嗜肺军团菌鉴定要求。该株在 IgM 介导的两种凝集反应中与嗜肺军团菌 14 个血清群(型)标准株抗原普遍交叉,在 IgG 介导的 IFA、ELISA、dot-ELISA 中则呈现嗜肺军团菌血清群 5 特异性。鉴定 Jin-1 为抗原结构较标准株复杂的嗜肺军团菌 5 型。种、型鉴定结果已为 CDC 证实。在种内型间抗原交叉范围如此广泛的嗜肺军团菌尚未见于以往文献。因此认为 Jin-1 的交叉性抗原可能属于胸腺非依赖性抗原。

关键词 军团菌,嗜肺军团菌血清群 5,抗原交叉,胸腺非依赖性抗原

军团菌属是一个日益庞大的家族。本属第一个种嗜肺军团菌 (*Legionella pneumophila*, Lp) 发现以来不到 20 年,得到美国疾病控制中心 (CDC) 确认的军团菌已达 39 种 61 个血清群 (serogroup, SG, 也译作“型”)^[1,2]。同一 SG 的菌株,抗原结构仍可有差别。本文报告一株与同种 13 个 SG 抗原普遍交叉的 LpSG5 的发现与鉴定。

1 材料和方法

1.1 菌种

1991 年 10 月 17 日自太原市郊晋阳湖采集水样 10L,以孔径 0.45 μ m 的混合纤维素酯微孔滤膜(上海医药工业研究院高东药用净化器材厂出品)滤过集菌。浓缩细菌悬液接种豚鼠腹腔,动物体温升高、少动、厌食。注射后 3d 处死动物,用 BCYE 平板^[3]从脾脏分离得到疑似军团菌菌落 3 个,分别繁殖鉴定,性状基本一致,说明属于同株,命名为 Jin (晋)-1 株。

1.2 鉴定方法

1.2.1 营养需要及培养特性:接种于 BCYE-CYS⁻平板^[3]及羊血肉膏液琼脂平板,并在 BCYE 平板传代,观察生长情况及速度。

* 山西省自然科学基金资助。

本文作者还有薛有忠、王桂琴、刘维静、田锋、宫仕梅、孙银燕、任红宇。

本文于 1994 年 11 月 3 日收到。

表 1 军团菌标准株及相应抗血清抗体滴度

Table 1 *Legionella* type strains and antibody titers of the corresponding antisera

| 菌种 Species | 血清群 Sero- group | 标准株 Type strain | ATCC [≡] | 缩写 Abbreviation | 抗血清中抗体滴度* Antibody titer in antiserum |
|-----------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------------------------------|
| 嗜肺军团菌 | | | | | |
| <i>L. pneumophila</i> | 1 | Philadelphia 1 | 33152 | Lp1 | 320 |
| | 2 | Togus 1 | 33154 | Lp2 | 2560 |
| | 3 | Bloomington 2 | 33155 | Lp3 | 2560 |
| | 4 | Los Angeles 1 | 33156 | Lp4 | 2560 |
| | 5 | Dallas 1E | 33216 | Lp5 | 1280 |
| | 6 | Chicago 2 | 33215 | Lp6 | 640 |
| | 7 | Chicago 8 | 33823 | Lp7 | 2560 |
| | 8 | Concord 3 | 35096 | Lp8 | 2560 |
| | 9 | IN-23-G1-C2 | 35289 | Lp9 | 2560 |
| | 10 | Leiden 1 | 43283 | Lp10 | 2560 |
| | 11 | 789-9A-A | | Lp11 | 2560 |
| | 12 | 570-CO-H | 43290 | Lp12 | 640 |
| | 13 | 82A3105 | 43736 | Lp13 | 1280 |
| | 14 | 1169-MN-H | 43703 | Lp14 | 2560 |
| 米克戴德军团菌 | | | | | |
| <i>L. micdadei</i> | 1 | TATLOCK | 33218 | Lmic | |
| 波兹曼军团菌 | | | | | |
| <i>L. bozemanii</i> | 1 | WIGA | 33217 | Lb | |
| 杜莫夫军团菌 | | | | | |
| <i>L. dumoffii</i> | 1 | NY-23 | 33279 | Ld | |
| 戈曼军团菌 | | | | | |
| <i>L. gormanii</i> | 1 | LS-13 | 33297 | Lg | |
| 长滩军团菌 | | | | | |
| <i>L. longbeachae</i> | 1 | Long Beach 4 | 33462 | Li | |
| 约丹军团菌 | | | | | |
| <i>L. jordanis</i> | 1 | BL-540 | 33623 | Lj | |

* ELISA 测定的滴度倒数。

Reciprocal antibody titers demonstrated by ELISA.

1.2.2 形态及染色性: 涂片革兰氏染色及抗酸染色, 镜检。

1.2.3 生化反应: 按文献[4,5]进行。

1.2.4 抗原性测定:各种、型军团菌标准株由 CDC 提供(表 1)。抗血清按文献[4]方法免疫新西兰兔制取。Lp 标准株抗血清滴度见表 1。Jin-1 株抗血清试管凝集试验(tube-agglutination test, TAT)滴度 20480(倒数,下同)。全菌抗原制备:BCYE 平板菌苔悬浮于含 0.5% 福尔马林的 pH6.4 0.01mol/L PBS, 30 亿/ml 用于免疫动物, 10 亿/ml 用于 TAT 及 IFA。可溶性抗原:BCYE 平板菌苔加热杀死后用 pH7.2 0.01mol/L PBS 浸取, 用于 ELISA 及 dot-ELISA。玻片凝集试验(slide agglutination test, SAT)按 CDC《军团菌感染实验诊断手册》^[3]。TAT、IFA、ELISA 与一般血清学常规试验相似。dot-ELISA 参照文献[6]。IFA 中第二抗体为 FITC 标记的羊抗兔 IgG, ELISA 和 dot-ELISA 中以 HRP 标记的 SPA 代替二抗。凝集素吸收按文献[7]。

1.2.5 DNA 分析:DNA 斑点杂交:细菌 DNA 按文献[8]提取;采用瑞典 Boehringer Mannheim Biochemica 公司生产的 DIG DNA Labeling and Detection 药盒,用地高辛-dUTP 标记 Lp 核酸探针、DNA 斑点杂交、杂交物以碱性磷酸酶标记的抗地高辛抗体及酶底物显色均按说明书进行。PCR:引物 1, 5'-GTCATGAGGAATCTCGCTG-3', 引物 2, 5'-CTGGCTTCTTCCAGCTTCA-3', 中国科学院微生物研究所合成;反应方法见文献[9]。

2 结果

2.1 营养需要、生长情况及形态染色性

在 BCYE-CYS 平板及羊血肉膏液琼脂平板上均不生长。接种于 BCYE 平板, 35~37℃ 烛缸培养, 最初需 10d 方见生长, 连续传代后缩短至 48~72h。需氧。菌落圆形, 隆起, 直径 2~3mm, 表面光滑, 湿润, 有光泽, 边缘整齐, 呈灰白色。革兰氏阴性中等大小无芽胞杆菌, 稀释复红复染着色浅淡。传代后菌体长短不等, 有的呈丝状。抗酸染色阴性。

2.2 生化反应性

触酶阳性, 明胶酶阳性, 葡萄糖产酸阴性, 淀粉水解阳性, 硝酸盐还原阴性, 尿素酶阴性, 马尿酸盐水解阴性。

2.3 抗原性

2.3.1 Jin-1 与 7 种 20 个 SG 军团菌标准株间血清学关系测定结果:①凝集反应中, Jin-1 抗原加 Lp1~14 抗血清, Jin-1 抗血清加 Lp1~14 抗原反应均阳性, SAT 与 TAT 结果相符, 重复测定结果不变, 显示 Jin-1 与 Lp1~14 标准株间抗原广泛交叉。Jin-1 在生理盐水、PBS 中无自凝现象, 与正常兔血清、正常人血清各 10 份均不凝集。Jin-1 抗原加 Lp 以外 6 种军团菌抗血清, Jin-1 抗血清加 Lp 以外 6 种军团菌抗原的 SAT、TAT 结果均为阴性。②非凝集反应中, Jin-1 呈现 LpSG5 特异性, IFA、ELISA、dot-ELISA 结果一致, 待测抗原加已知抗血清、待测抗血清加已知抗原试验结果相符。仅 ELISA 中见 Jin-1 抗原与 Lp1 抗血清也呈较弱反应(表 2)。

2.3.2 Jin-1 与 Lp5 标准株间血清学关系的凝集素吸收试验测定结果见表 3。

2.3.3 Jin-1 与非军团菌间血清学关系的 TAT 测定结果:Jin-1 抗原与兔抗鼠疫杆菌、霍

表 2 Jin-1 株与军团菌标准株间血清学关系测定结果

Table 2 Serological relationship of strain Jin-1 to *Legionella* type strains

| 标准株 Type strain | 标准株抗血清与 Jin-1 抗原反应 | | | | Jin-1 抗血清与标准株抗原反应 | | | |
|-----------------------|------------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Reaction of type strain antiserum with Jin-1 antigen | | Reaction of Jin-1 antiserum with antigen of type strain | | Reaction of Jin-1 antiserum with antigen of type strain | | IgG 类抗体介导 | |
| | IgM 类抗体介导 | | IgG 类抗体介导 | | IgM 类抗体介导 | | IgG 类抗体介导 | |
| | Mediated by IgM antibody | Mediated by IgM antibody | Mediated by IgG antibody | Mediated by IgG antibody | Mediated by IgM antibody | Mediated by IgM antibody | Mediated by IgG antibody | Mediated by IgG antibody |
| | SAT ^a | TAT ^b | IFA ^b | ELISA ^b | SAT ^a | TAT ^b | IFA ^b | ELISA ^b |
| Lp1 | +++ | 640 | 8 | 160~320 | ++++ | 640 | 8 | 160 |
| Lp2 | ++ | 640 | 8 | 10~20 | +++ | 2560 | 8 | 20 |
| Lp3 | ++ | 640 | 8 | 10~20 | +++ | 2560 | 32 | 40 |
| Lp4 | ++ | 640 | 64 | 40~80 | ++++ | 640 | 64 | 160 |
| Lp5 | +++ | 1280 | > 256 | 640~1280 | ++++ | 5120 | > 256 | 640 |
| Lp6 | ++ | 2560 | 8 | 10~20 | +++ | 5120 | 8 | 20 |
| Lp7 | ++ | 1280 | 16 | 80~160 | +++ | 640 | 8 | 20 |
| Lp8 | +++ | 2560 | 16 | 20~40 | ++++ | 5120 | 8 | 80 |
| Lp9 | ++ | 2560 | 16 | 40~80 | ++++ | 5120 | 16 | 40 |
| Lp10 | ++ | 2560 | 32 | < 10~10 | ++++ | 2560 | 64 | 20 |
| Lp11 | ++ | 2560 | 8 | < 10 | +++ | 640 | 8 | 20 |
| Lp12 | ++ | 2560 | 8 | < 10~10 | ++++ | 2560 | 8 | 10 |
| Lp13 | ++ | 640 | 8 | 10~20 | ++++ | 2560 | 8 | 10 |
| Lp14 | ++ | 1280 | 8 | 10 | ++++ | 2560 | 8 | 10 |
| Lmic | - | 80 | ND | ND | - | 20 | ND | ND |
| Lb | - | < 10 | ND | ND | - | < 20 | ND | ND |
| Ld | - | 80 | ND | ND | - | 20 | ND | ND |
| Lg | - | 40 | ND | ND | - | 20 | ND | ND |
| Li | - | 80 | ND | ND | - | 20 | ND | ND |
| Lj | - | 80 | ND | ND | - | 20 | ND | ND |

a. 凝集程度 Grade of agglutination.

b. 滴度倒数 Reciprocal titer.

c. + 阳性反应 Positive reaction, - 阴性反应 Negative reaction.

ND: 未测 Not determined.

表 3 Jin-1 株与 Lp5 标准株(Dallas 1E)间血清学关系的凝集素吸收试验测定结果*

Table 3 Serological relationship between strain Jin-1 and the type strain (Dallas 1E) of *L. pneumophila* serogroup 5 as determined by agglutinin-absorption test

| 抗原 Antigen | 抗血清 Antiserum | | | |
|---------------|-------------------------------|------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------|
| | 抗 Dallas 1E Anti-Dallas 1E | | 抗 Jin-1 Anti-Jin-1 | |
| | 未经吸收 Unabsorbed | 经 Jin-1 吸收后 Absorbed with Jin-1 | 未经吸收 Unabsorbed | 经 Dallas 1E 吸收后 Absorbed with Dallas 1E |
| | | | | |
| Dallas 1E | ++++ | - | ++++ | - |
| Jin-1 | ++++ | - | ++++ | ++ |

* -, ++, ++++:凝集程度 Grades of agglutination.

弧菌, 布鲁氏菌, 脑膜炎球菌 A、C 群, 钩端螺旋体, 登革热病毒血清 (均流研所制备) 滴度 < 80; 与兔抗脑膜炎球菌 B 群为 1280。

2.4 DNA 分析

2.4.1 DNA-DNA 斑点杂交: DIG-dUTP 标记的 LpDNA 探针与 Jin-1 3 个培养物的 DNA 分别杂交, 结果均阳性, 与阳性对照 Lp1、6、8、13 相似, 与阴性对照 Lm (即 Lmic) 相反 (图版 I-1)。

2.4.2 PCR: Jin-1 3 个培养物 PCR 扩增产物均为一条 870bp cDNA 片段, 与 Lp1~9 标准株结果相同 (图版 I-2)。

3 讨论

Jin-1 株来自天然水体, 其形态染色性、营养需要、生长特性与生化反应性均符合军团菌特点。本实验所用 DNA 探针, 经测试与 Lp1~14 DNA 杂交均阳性, 与 Lp 以外军团菌及多种非军团菌的 DNA 杂交均阴性, 说明为 Lp 种特异性探针 (论文将另行发表)。该探针与 Jin-1 DNA 杂交, 结果阳性。本文 PCR 引物, 已证明能使 Lp1~14 标准株 DNA 模板扩增为一条 870bp 的电泳区带, Lp 以外军团菌及多种非军团菌不出现这一区带^[9], Jin-1 区带与对照 Lp 标准株相同。综合上述资料, 可以从属和种的水平鉴定 Jin-1 为 Lp (Lp 大都马尿酸盐水解阳性, 少数菌株阴性^[10], Jin-1 当属后一类)。按 CDC 常规, 再以 SG 特异性抗血清作 SAT, 即可确定血清群而完成鉴定^[3]。已发现 Lp SG15 个。我们在 SAT 中采用了除 Lansing 3 (原为非数字命名 SG, 现已为 CDC 命名为 Lp SG15) 之外的 14 个 SG 抗血清, 发现均能凝集 Jin-1, Lp 以外 6 种军团菌标准株抗血清、生理盐水、PBS、正常兔血清、正常人血清均不凝集 Jin-1, 试验所用全菌抗原已按 CDC 操作要求^[3]加热破坏了军团菌共有的鞭毛抗原, 说明所见凝集不是假凝集, 也不是自身凝集、非特异性凝集或鞭毛抗原引起的交叉凝集, 而是 Jin-1 可能含有与 Lp1~14 抗血清均反应的抗原成分。为作进一步探索, 制备了 Jin-1 抗血清, 加做了一系列测试。观察到 Jin-1 抗血清加 Lp1~14 抗原的 SAT、Jin-1 抗原加 Lp1~14 抗血清的 TAT、Jin-1 抗血

清加 Lp1~14 抗原的 TAT 结果都符合最初的 SAT 所见,证明在凝集反应中 Jin-1 确实有与 Lp1~14 标准株广泛交叉的抗原成分参与。而在非凝集性试验中,IFA、ELISA、dot-ELISA 一致显示 Jin-1 具有 Lp5 血清学特异性。以吸收-凝集试验测定 Jin-1 与 Lp5 标准株的血清学关系。从表 3 可见,吸收后的抗血清不再呈现交叉反应性,说明吸收操作满意。Lp5 标准株抗血清中凝集素全部被 Jin-1 抗原吸收,Jin-1 抗血清中凝集素不能全部被 Lp5 标准株抗原吸收,表明 Jin-1 除含与 Lp5 吸收株一样的抗原外,还有其他成分。综合全部实验结果,我们鉴定 Jin-1 为一株抗原结构较 Lp5 标准株复杂的 Lp5。Jin-1 与脑膜炎球菌 B 群抗血清凝集,可解释为和其他菌属间的交叉。菌种分别寄送美国两个单位。南卡罗来纳州哥伦比亚市 Dorn VA 医院军团菌研究中心测试了 Jin-1 的肽谱(peptide profiles)即蛋白质成分,结果与数株对照 Lp 相同。CDC 鉴定 Jin-1 (CDC[#]3897)为 Lp5。我们的鉴定意见得到了证实。

Jin-1 在凝集反应中表现的血清学性质为何与非凝集反应不同,我们作出以下解释:①军团菌复杂的抗原结构中除 SG 特异性抗原外,还有交叉性抗原成分。Collins 等以交叉免疫电泳法分析 Lp1 Philadelphia 1 株菌体匀浆的抗原结构,发现含抗原 82 种,其中仅 1 种为 Lp1 所独有,其余均为交叉性抗原,有的抗原交叉范围遍及 Lp 所有 SG(当时仅发现 LpSG1~6)以及测试的 19 种革兰氏阴性菌中的 18 种(包括 Lp 以外军团菌 4 种、脑膜炎奈瑟氏菌、大肠埃希氏菌、粘质沙雷氏菌、伤寒沙门氏菌、流感嗜血杆菌 b 型、百日咳博德特氏菌、绿脓假单胞菌、马驹放线杆菌、溶血巴斯德氏菌等),仅脆弱类杆菌例外^[11]。这一研究结果已为许多学者所引用。因此,Jin-1 与 Lp 其他 SG 的广泛抗原交叉不是不可理解的。②Jin-1 的广泛交叉性抗原可能是 TI 抗原。根据引起免疫应答是否依赖 T 细胞辅助,可将抗原分为胸腺依赖性抗原(thymus-dependent antigen, TDAg)和非胸腺依赖性抗原(thymus-independent antigen, TIAg)两大类。TDAg 占绝大多数,刺激机体产生 IgM、IgG 等类抗体。TIAg 少见,仅激发 IgM 类抗体产生^[12]。LpSG 特异性抗原可在不同实验室的各种血清学反应中与 IgM、IgG 等类抗体结合,无疑为 TDAg。我们设想,引起 Jin-1 在凝集反应中与 Lp 各 SG 广泛交叉的可能是一种 TIAg,此种抗原普遍存在于 Lp1~14,不具 SG 特异性,但有种特异性,不存在于 Lp 以外军团菌;一般 Lp 菌株此种抗原表达甚少,抗血清中虽有相应抗体,但不致引起 SG 间可见的交叉反应(正像上文所引 Collins 等在 Philadelphia 1 株——军团菌研究中最常用的 Lp1 标准株——发现的交叉性抗原并未在一般实验室常规细菌鉴定中引起广泛的交叉反应一样);Jin-1 株大量表达此种抗原,导致与 Lp 各 SG 之间广泛的交叉凝集。TIAg 相应抗体仅为 IgM 类。参与军团菌凝集反应的抗体正是 IgM^[13]。鉴定 Jin-1 的非凝集性试验(IFA、ELISA、dot-ELISA)却都是 IgG 类抗体反应(见本文“材料和方法”),因而不出现 Jin-1 与 Lp 各 SG 的交叉。本文凝集反应中自然也包含 SG 特异性凝集,但为交叉凝集所淹没。

Garrity 等 1982 年已观察到,从环境标本分离的 Lp5 反应阳性的军团菌菌株可以具有显著的血清学和基因型多样性^[14]。几年之后,Brenner 等 CDC 军团菌专家根据 60 株 Lp 的 DNA 相关性测定结果,将这一菌种分为 *pneumophila*、*fraseri*、*pascullei* 3 个亚种。*pneumophila* 亚种中菌株血清学性质为 SG 1~14 诸型,*fraseri* 亚种中菌株分属 SG1、4、5

及当时尚未以数字命名的 Lansing 3 SG, *pascullei* 亚种的菌株全部为 SG5^[15]。SG5 是 Lp3 个亚种都包含的血清群, 可见其基因组多样性之高。Jin-1 株与 Lp5 标准株抗原结构的差异 (不仅限于 TIAg 量的差别), 为 Lp5 血清学多样性提供了新的例证。可惜限于条件, 未能进行 DNA 相关性测定。不同种、型军团菌之间及军团菌与其他革兰氏阴性菌之间的抗原交叉现象, 曾有许多学者报告过。交叉范围遍及同种 13 个 SG 的 Lp 菌株则未见文献。军团菌的复杂抗原结构中主要化学成分为多糖^[10]。而细菌多糖正是最常见的一类 TIAg^[12]。Jin-1 的具体抗原结构如何, 与各 SG 广泛交叉的成分是否确为 TIAg, 有待研究。Jin-1 是山西地区发现的第一株军团菌。发现后 2 年, 我们又从本省另一水域分离到 4 个与 Jin-1 生物学和血清学性状均相同的培养物, 均鉴定为 Lp5, CDC 鉴定结论与我们相同^[16]。

致谢 美国 South Carolina 州 Columbia 市 Dorn VA 医院 Brown 教授及 CDC Benson 博士对 Jin-1 株鉴定提供大力协助, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 谢哲子. 国外医学微生物学分册, 1993, 16: 173~175.
- [2] Dennis P J, Brenner D J, Thacker W L *et al.* *Intern J Sys Bacteriol*, 1993, 43: 329~337.
- [3] Wilkinson H W. Hospital-laboratory diagnosis of *Legionella* infections. Atlanta: Centers for Disease Control, 1988.
- [4] Harrison T G, Taylor A G. Phenotypic characteristics of *Legionella*. In: Harrison T G, *et al* ed. A laboratory manual for *Legionella*. New York: John Wiley & Sons, 1988. 45~56.
- [5] 武建国. 军团菌病的检验诊断. 见: 武建国主编. 军团菌病. 南京: 东南大学出版社, 1990. 93~150.
- [6] Gouvea V S, de Castro L, Pereira H G. *J Virol Methods*, 1987, 18: 57~65.
- [7] Thacker W L, Wilkinson H W, Benson R F. *J Clin Microbiol*, 1983, 18: 1113~1118.
- [8] van Ketel R J, ter Schegget J, Zanen H C. *J Clin Microbiol*, 1984, 20: 362~364.
- [9] 余传信, 万超群, 邓长英. 中华流行病学杂志, 1994, 15: 117~120.
- [10] Winn W C Jr. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 1985, 21: 323~381.
- [11] Collins M T, Cho S, Hoiby N *et al.* *Infect Immun*, 1983, 39: 1428~1440.
- [12] 郑武飞. 抗原. 见: 郑武飞主编. 医学免疫学. 北京: 人民卫生出版社, 1989, 17~35.
- [13] Farshy C E, Cruce D D, Klein G C *et al.* *Ann Intern Med*, 1979, 90: 690.
- [14] Garrity C M, Elder E M, Davis B *et al.* *J Clin Microbiol*, 1982, 15: 646~653.
- [15] Brenner D J, Steigerwalt A G, Epple P *et al.* *J Clin Microbiol*, 1988, 26: 1695~1703.
- [16] 魏婉江, 谢哲子, 郭淑清, 等. 中国微生态学杂志, 1994, 6(6): 1~6.

A *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* STRAIN SEROLOGICALLY CROSS-REACTING WITH THIRTEEN SEROGROUPS OF THIS SPECIES

Wei Wanjiang Xie Xizi Guo Shuqing

(Department of Microbiology, Shanxi Medical College, Taiyuan 030001)

Wan Chaoqun Zuo Peijun

(Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing 102206)

Abstract A bacterial strain, designated as Jin-1, was isolated from a water sample taken from the Jinyang Lake located in the suburbs of Taiyuan City, Shanxi Province. Its morphologic and tinctorial properties, nutritional requirements, growth characteristics, biochemical reactions, as well as results of DNA and peptide analysis overall met the criteria for identification of *Legionella pneumophila*. In serogrouping, extensive cross-reactions between Jin-1 and the type strains of *L. pneumophila* serogroup 1 through 14 were observed in both slide and tube agglutination tests mediated by the IgM antibodies. However, Jin-1 revealed the *L. pneumophila* serogroup 5 specificity in IFA, ELISA and dot-ELISA, all mediated by the IgG antibodies. Jin-1 was finally identified as a strain of *L. pneumophila* serogroup 5 with more complex antigenic composition than the ATCC type strain of this serogroup. The taxonomic conclusion has been confirmed by CDC. A *Legionella pneumophila* strain which serologically cross-reacting with so many serogroups of this species has never been reported in the published articles. It is presumed that the cross-reacting antigen of Jin-1 belongs to the thymus-independent antigen by nature.

Key words *Legionella*, *Legionella pneumophila* serogroup 5, Antigenic cross-reactivity, Thymus-independent antigen

图 版 说 明

Explanation of plate

1. Jin(晋)-1 株 3 个培养物及 Lp1、Lp6、Lp8、Lp13、Lmic 标准株 DNA 与地高辛标记 Lp 种特异性 DNA 斑点杂交结果; 2. Jin-1 株和 Lp 标准株 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳结果。

1. Dot hybridization of DNA of 3 cultures of strain Jin-1 and DNA of the type strains of Lp1, Lp6, Lp8, Lp13 and Lmic with a DIG-labeled *L. pneumophila* species-specific DNA probe; 2. PCR products of strain Jin-1 and *L. pneumophila* type strains, determined by agarose electrophoresis.