

廣州市鼠類帶出血性黃疸鈎端螺旋體調查的初步報告

黃東英 曾毅 梁旻若

(中山醫學院微生物學教研組)

Weil 氏 (1886) 首先報告外耳氏病 (Weil's disease) 是一種特殊的黃疸性傳染病。稻田及井戶 (1915)^[1]證明出血性黃疸鈎端螺旋體 (*L. icterohemorrhagiae*) 是本病的病原體。Майяниа 氏^[2] (1916) 最先確定鼠類帶有出血性黃疸鈎端螺旋體。隨後, 外耳氏病及鼠類帶鈎端螺旋體在世界各地都有發現。攜帶出血性黃疸鈎端螺旋體主要是鼠類^[2] (*R. norvegicus*, *R. Rattus*, *Mus. musculus*)。除此之外, 狗、貓、豬、馬、牛、狐狸、猿和壁虱^[3] (能經卵傳代) 等也可以帶有出血性黃疸鈎端螺旋體。根據文獻綜述, 致病性鈎端螺旋體約有 40 型^[4], 而在我國關於鈎端螺旋體病的報告不多。湯澤光氏 (1937)^[5] 首先報告廣州 3 例外耳氏病, 其中 1 例經動物接種, 發現有致病性鈎端螺旋體。Snapper 及鍾惠瀾氏等 (1940)^[6] 報告北京 2 例犬型鈎端螺旋體病 (Canine Leptospirosis), 並對狗及鼠類進行調查, 發現狗有抗 *L. canicola* 的抗體, 鼠類有抗 *L. canicola*, *L. Hebdomadis* 及 *L. swartz* 的抗體。近年來廣州郊區, 每於早收與晚收之後, 外耳氏病病例增加。鄭顯准等氏 (1955)^[7] 報告郊區農民患外耳氏病 14 例 (1953 年 3 例, 1954 年 11 例) 都有典型的臨床症狀, 抽病人血液作動物試驗, 經本教研組細菌檢驗室檢查, 發現其中 2 例有致病性的鈎端螺旋體。1955 年我們從廣州郊區 (新滘區) 及本市病人各一分離出 1 株致病性鈎端螺旋體, 用蘇聯標準菌株的抗血清鑑定, 證明是屬於出血性黃疸鈎端螺旋體。

由於鼠類是外耳氏病傳染的主要來源, 爲了瞭解廣州市區及郊區的鼠類與本病的關係, 我們選擇了市區及病例較多的郊區 (新滘區) 二地, 從 1955 年 8 月—1956 年 6 月共 10 個月對鼠類帶鈎端螺旋體情況進行調查。

材 料 及 方 法

我們結合滅四害運動, 收集老鼠。新滘區的老鼠是從田間捕捉的, 送來實驗室的大多是死鼠, 少數是活鼠。活鼠先將其放血致死, 稱體重。用無菌技術解剖, 取出兩側腎臟, 於無菌的乳鉢中研磨, 加入 10 毫升生理鹽水稀釋, 然後按下列方法檢查:

1. 鏡檢：取鼠腎臟懸液作暗視野檢查。

2. 培養：接種鼠腎臟懸液數滴於 5 毫升 Korthof^[2] 或 Терский^[2] 培養基 (100 毫升培養基加入 25—50 毫克的磺胺嘧啶鈉)，放 30°C 溫箱培養，每週鏡檢 1 次。培養一個月仍無鉤端螺旋體發現為陰性。

3. 動物試驗：注射鼠腎臟懸液 3 毫升於 1 只體重 150 克左右的豚鼠腹腔，每天早晨測量體溫 1 次，體溫升至 40°C 以上的，抽取心血 0.5—1 毫升，接種於 Korthof 或 Терский 培養基培養。隨時注意皮膚和粘膜有無黃疸。死亡的豚鼠，解剖開腹腔及胸腔，觀察內臟有無黃疸或出血點，取肝臟懸液作鏡檢，陽性的則繼續傳代，並分離純種以作鑑定。經 3 週後，體溫仍不上升的豚鼠，則殺死之，觀察內臟病變，並取肝和腎懸液作鏡檢，無發現病變和鉤端螺旋體的為陰性。（檢查帶菌鼠初期陰性者曾作盲目傳代，未獲得陽性結果，以後為節省材料起見，不再作盲目傳代）。

4. 生體濾過法^[2]：凡是鏡檢陽性的鼠腎臟懸液，都做生體濾過法分離純培養。接種腎臟懸液 3 毫升於豚鼠腹腔，經 10 和 30 分鐘，2 和 24 小時抽取豚鼠心血 0.5—1 毫升，接種於 Korthof 或 Терский 培養基培養。

5. 菌種鑑定：用蘇聯六型標準菌種的免疫血清 I 型 (*L. grippotyphosa*)、II 型 (*L. DV-B*)、III 型 (*L. DV-A*)、IV 型 (*L. canicola*)、V 型 (*L. icterohemorrhagiae*) 和 VI 型 (*L. hebdomadis*)，與從鼠類分離出來的鉤端螺旋體作凝集——溶解反應。其方法如下：用 1:10 的 Sorensen 緩衝液 (pH 7.2) 稀釋免疫血清成 1:10、1:100、1:200……1:25,600，各取 0.1 毫升放入康氏試管內，再加入 0.1 毫升活鉤端螺旋體 (第 6—7 天的培養物，每視野 50—80 條)，最後一管用稀釋液代血清作對照。放 37°C 水溫箱 4 小時，用暗視野檢查結果，按 Терский 的方法判定結果^[8]，陽性血清有溶解現象，顆粒狀鉤端螺旋體及蜘蛛狀的凝集球。

結 果

我們總共檢查了廣州郊區 (新滘區) 老鼠 101 只，大多數是溝鼠 (*Rattus novgicus*)，有些未經鑑定。市區老鼠 78 只，其中溝鼠 (*R. novgicus*) 45 只和家鼠 (*R. rattus*) 33 只，結果如表 1、2 所示。

表 1 鼠類帶鉤端螺旋體百分率

來 源	總 數	陽性數目	陽性%
新 滘 區	101	4	4
市 區	78	4	5

表 2 檢查鼠類帶鉤端螺旋體的陽性結果

來源	鼠號數	鼠類	體重 (克)	鏡檢	培養	動 物 試 驗				生體濾過法
						體 溫	症 狀 (出血、黃疸)	鏡檢	培養	
新 濬 區	11	溝鼠	280	+	污染	40°C (第 7 天)	+	+	+	—
	21	溝鼠	170	—	—	40°C (第 10 天)	+	+	+	—
	28	溝鼠	250	—	—	40.3°C (第 9 天)	+	+	+	—
	38	溝鼠	180	+	污染	—	—	—	—	—
市 區	14	溝鼠	350	+	+	—	—	—	—	—
	29	溝鼠	252	—	—	39.6°C (第 4 天)	+	+	+	—
	31	溝鼠	177	+	—	—	—	—	—	—
	72	溝鼠	110	—	污染	40.2°C (第 9 天)	+	+	+	—

鏡檢：用暗視野檢查鼠腎臟懸液，新濬區 101 只老鼠中有 2 只發現有很活躍的鉤端螺旋體（鼠號 11、38），其中 1 株對豚鼠無致病力。市區老鼠 78 只中也有 2 例陽性（鼠號 14、31），對豚鼠均無致病力。

培養：加璜胺藥物的培養基仍很多污染，僅 1 例培養陽性（鼠號 14），鏡檢每視野有 3—5 條鉤端螺旋體，再經傳代培養時消失。此株對豚鼠無致病力。

動物試驗：新濬區老鼠 101 只中有 3 例（鼠號 11，即 R_1 。21，即 R_2 。28，即 R_3 ）陽性，市區老鼠 78 只中有 2 例陽性（鼠號 29，即 R_4 。72，即 R_5 ），陽性的豚鼠均呈現典型症狀，體溫在第 7—10 天升至 40°C，僅 1 例體溫無顯著升高（鼠號 29）。從外部觀察，皮膚、鞏膜、肛門和鼻腔粘膜有深度黃疸。於第 9—13 天死亡。解剖開腹腔及胸腔，發現皮下和內臟有黃疸及出血點，特別是肺臟有蝴蝶翼狀的出血點，肝臟充血，略腫大，有暗黃色的壞死灶，腎臟腫大出血。取肝臟懸液鏡檢，可發現大量很活躍的鉤端螺旋體。總共分離出 5 株，並進一步做菌株鑑定。

生體濾過法：4 例均陰性。

綜上所述，我們檢查新濬區老鼠 101 只，4 例陽性（4%），其中 1 株對豚鼠無致病力。市區 78 只老鼠，陽性的也有 4 例（5%），其中 2 株對豚鼠無致病力。陽性的老鼠都是溝鼠（*R. novgicus*），市區家鼠 33 只均陰性。

我們所檢查的老鼠大小相差很遠，體重從 18—540 克，其帶鉤端螺旋體情況如表 3；

表 3 鼠類帶鉤端螺旋體與體重關係

來 源	體 重 (克)	數 目	陽 性 數 目	陽 性 %
新 濬 區	150 克以下	62	0	0
	150 克以上	39	4	10
市 區	150 克以下	44	1	2.2
	150 克以上	34	3	9

新滘區老鼠 150 克以下的陰性，150 克以上的 4 例陽性（10%），市區老鼠 150 克以下的 1 例（2.2%），150 克以上的 3 例（9%）。

菌株鑑定：用蘇聯 6 型標準血清鑑定從鼠類分離出來的 5 株鉤端螺旋體，結果如表 4，證明 5 株均屬出血性黃疸鉤端螺旋體，與從新滘區及市區病人分離出來的菌株相同，凝集效價達 1:25,600。各株與其他各型標準免疫血清都有交叉凝集——溶解反應，效價由 1:20—1:3200，大多數是 1:1,600。

表 4 鉤端螺旋體凝集-溶解反應的鑑定結果

菌 株 免疫 血清	C ₁	C ₂	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	I	II	III	IV	V	VI
I	1:800	1:800	1:400	1:1600	1:400	1:3200	1:400	1:25600					
II	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600		1:25600				
III	1:1600	1:400	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:400			1:25600			
IV	1:400	1:1600	1:1600	1:1600	1:400	1:1600	1:20				1:25600		
V	1:25600	1:12800	1:25600	1:25600	1:25600	1:25600	1:25600					1:25600	
VI	1:1600	1:1600	1:400	1:1600	1:400	1:1600	1:1600						1:25600

C₁, C₂ 是從新滘區及市區的病人分離出來的。

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, 是從新滘區及市區的溝鼠分離出來的。

I 是蘇聯流感傷寒鉤端螺旋體 (*L. grippo-typhosa*)。

II 是蘇聯遠東 B 型鉤端螺旋體 (*L. DV-B*)。

III 是蘇聯遠東 A 型鉤端螺旋體 (*L. DV-A*)。

IV 是蘇聯犬鉤端螺旋體 (*L. Canicola*)。

V 是蘇聯出血性黃疸鉤端螺旋體 (*L. icterohemorrhagiae*)。

VI 是蘇聯七日熱鉤端螺旋體 (*L. hebdomadis*)。

討 論

根據我們檢查的結果（表 1）：廣州市郊區（新滘區）老鼠 101 只中，攜帶鉤端螺旋體的有 4 例（4%）。市區老鼠 78 只中，也有 4 例帶有鉤端螺旋體（5%）。所以廣州市區及郊區的老鼠攜帶鉤端螺旋體的百分率相差不多（4—5%）。這僅是初步檢查結果，今後尚需進一步研究。

關於鼠類攜帶鉤端螺旋體的百分率，各國文獻報告相差甚大。蘇聯莫斯科 3.17%^[2]，美國費城 10%^[9]，倫敦 36%^[10]，荷蘭 40%^[11]，西班牙巴塞羅那 46%^[10]，印度孟買 10%^[12]，意大利貝加莫 2.5% 和佛羅倫薩 60%^[13]，甚至在一個城的不同地區鼠類的感染率也可以不同。Николаев 氏^[2]（1945）廣泛研究了莫斯科的老鼠，發現從不同地區捕捉的老鼠，其感染率動搖於 2.4—16.6% 之間。而且，老鼠的感染率也可以逐年改變。Такаревич 氏^[2]報告，列寧格勒的鼠類感染率：1936 年為 6%，1944 年為 13%，1946 年為 20%。

鼠類攜帶鈎端螺旋體與年齡也有關。鼠齡越大,攜帶鈎端螺旋體的百分率越高。年齡大小一般以體重或身長表示,蘇聯 Николаев (1942)^[2] 報告莫斯科的老鼠攜帶鈎端螺旋體的情況: 200 克以下者 0.33%, 200—300 克者 2.2%, 300—400 克者 6.1%, 而 400—500 克者 9.8%, 根據我們檢查的結果也證實了這點。新落區的老鼠 150 克以下的 0%, 150 克以上的 10%。市區老鼠 150 克以下的 2.2%, 150 克以上的 9%。

檢查鼠類攜帶鈎端螺旋體,最好是同時採用各種方法:包括鏡檢、培養、動物接種和血清學方法。一般以血清學方法檢查抗體獲得的陽性率最高。但這只能表示老鼠的感染率。因為有抗體並不一定帶有鈎端螺旋體。根據 Киктенко 氏的統計:血清學方法陽性率 40%,培養 33%,鏡檢 28%,動物感染 21%。而 Milton Lewis 氏^[9]的報告,動物接種方法最佳 11%,培養 10%,鏡檢 1%。根據我們的材料,檢查 179 只老鼠中,以動物接種法比較好,有 5 例陽性(2.8%),鏡檢 4 例陽性(2.2%),培養 1 例陽性(0.5%)。

動物接種應該採用 150 克左右的豚鼠,因為太大的豚鼠對鈎端螺旋體的感受性不高。我們從病人分離 C₁, C₂ 菌株時完全證實這點。臨床醫生將病人血液注入 500 克左右的豚鼠腹腔,送來本檢驗室,動物並不發病,經 21 天將豚鼠殺死,無肉眼可見的病變。取其腎臟懸液再接種 150 克左右的豚鼠,2 例均呈現典型的病變,並分離出純培養。本試驗也是採用 150 克左右的豚鼠,從老鼠腎臟分離出 5 株鈎端螺旋體,在第一代均引起豚鼠發生典型病狀,最後死亡,並分離出純培養。

由於送來本實驗室的老鼠大多數是死鼠,故培養的污染率很高。Stavitsky 氏 (1945)^[14] 用磺醯胺 (400 毫克/100 毫升培養基) 抑制雜菌的污染。我們的試驗證明: 100 毫升的培養基加 100 毫克的磺胺嘧啶鈉,能抑制鈎端螺旋體的生長。50 毫克無抑制現象。故我們採用 100 毫升培養基中加入 25—50 毫克的磺胺嘧啶鈉。但對污染嚴重的材料仍無效。故我們的培養結果不佳,僅 1 例陽性。每視野只有 3—5 條鈎端螺旋體,而且在第二代培養即消失。這可能是由於該株螺旋體難適應培養基的關係。

此外,用鏡檢陽性的材料作生體濾過法,希望能去除雜菌並分離純種,但都不成功。

關於鼠類帶鈎端螺旋體的百分率與人的感染率,並不一定成正比例。大多數學者指出^[2],城市中鼠類感染率相當高,但居民可以不患鈎端螺旋體病。因為人的感染率不僅與鼠類的感染率有關,而且與居民的生活條件,與鼠之接觸機會及鈎端螺旋體的致病力有關。

我們檢查了 179 只老鼠,帶鈎端螺旋體的有 8 例。其中 5 株對豚鼠有致病力,3 株無致病力。這證明老鼠亦可以帶有對豚鼠無致病力的鈎端螺旋體。Амосенкова 和 Попова 氏 (1954)^[15] 試驗了 57 株用培養法從鼠類分離出來的鈎端螺旋體,其中 37 株對豚鼠有致病力,17 株弱致病力,3 株無致病力。根據血清學的分析,這 57 株都是屬於出血性黃疸鈎端螺旋體。

用血清學的方法，我們證明從鼠類分離出來 5 株都是屬於出血性黃疸鉤端螺旋體。這與從郊區及本市病人分離出來的出血性黃疸鉤端螺旋體同型（凝集—溶解反應效價達 1:25,600）。故廣州市區及郊區的老鼠攜帶鉤端螺旋體可被認為是人患外耳氏病的傳染來源。所以這次滅四害運動對預防外耳氏病是一個極其重要而有效的方法。

結 論

1. 本文報告廣州市區及郊區（新滘區）的鼠類有 4—5% 帶有鉤端螺旋體。鼠類年齡愈大，帶鉤端螺旋體的百分率愈高。
2. 我們分離出 5 株致病性鉤端螺旋體，用血清學方法證明是屬於出血性黃疸鉤端螺旋體。故廣州市區及郊區的老鼠可被認為是人患外耳氏病的傳染來源。
3. 本文略討論了與鼠類帶鉤端螺旋體有關的幾個問題。

參 考 文 獻

- [1] Варфоломеева, А. А.: 1949. Лептоспирозные заболевания человека медгиз. 7.
- [2] Киктенко, В. С.: 1954. Лептоспирозы человека. Медгиз.
- [3] 彼得里舍娃: 1955. 蘇聯醫學科學代表團在廣州區講學活動資料彙編，華南醫學院院長辦公室編印，下冊 187 頁。
- [4] Schlossberger H. 及 Brandis H.: *Annual Review of Microbiology*, 8: 133, 1954.
- [5] 湯澤光: *Chin. Med. J.*, 51: 483, 1937.
- [6] Snapper 及鍾惠淵等: *Chin. Med. J.*, 58: 408—426, 1940.
- [7] 鄭顯準、李堅白、曾次軍: 中華內科雜誌, 3: 436, 1955.
- [8] Терский В. И.: Лептоспирозы. Медгиз, 37—40, 1952.
- [9] Milton Lewis: *Amer. J. Trop. Med.*, 22: 571—578, 1942.
- [10] Pumarola Busquets, A.: *Bull. Hyg.*, 29: 159, 1954.
- [11] Zinsser: *Text book of Bacteriology*, 614, 1952.
- [12] Mantovani G.: *Bull. Hyg.*, 26: 681, 1951.
- [13] Lahiri M. N.: *Bull. Hyg.*, 17: 106, 1942.
- [14] Stavisky A. B.: *J. Imm.*, 51: 397, 1945.
- [15] Амосенкова Н. И. и Попова Е. М.: 1954. 67—70.

附 註

1. 我們所用的蘇聯標準菌種和免疫血清是大連生物製品所魏曦教授供給，謹此致謝。
2. 新滘區的老鼠是由區衛生所張貽鏞同志協助收集，其中溝鼠 (*R. norvegicus*) 經本學院生物學教研組主任熊大仁教授鑑定，謹此致謝。
3. 本文中一部分試驗工作尚有陳洪掌、徐環照、譚美英等同志參加，特此聲明。

PRELIMINARY REPORT ON CARRIER RATE OF *LEPTOSPIRA* *HEMORRHAGICA* AMONG RATS IN CANTON

HUANG TUNG-YING, TSENG YI and LIANG WEN-JOH

Department of Microbiology, Chungshan Medical College, Canton

Among 101 rats (mostly *Rattus novегicus*) caught from the outskirt of Canton, August, 1955—June 1956, 4 were found to be carriers of *Leptospira hemorrhagica*. Among the 78 rats (45 of *Rattus novегicus*, and 33 of *Rattus rattus*) caught in the city also, 4 were found positive.

Of the strains of *Leptospira* isolated from the 8 rats, 5 were proved to be pathogenic to guinea pigs. The remaining 3 were non-pathogenic. These pathogenic strains were also proved by cross serological tests to belong to the same type as those isolated by us from 2 human cases of Weil's disease (1955) in Canton.