

参加钩端螺旋体病学术会议

論文摘要

中华医学会成都分会
重庆市医学会

1964年1月

目 录

病原学及檢驗診斷

鈎端螺旋体病的实验診斷的进一步研究 Nowicki試驗法在早期診斷中的应用…

.....陈廷祚 (1)

患者血液中鈎端螺旋体的检查及分离技术在早期疾病診斷中的应用.....陈廷祚 (1)

敏化紅血球凝集試驗及敏化紅血球溶解試驗用于鈎端螺旋体病的早期診斷.....

.....陈廷祚 崔錦家 馬效森 (2)

柯托夫培养基經不同溫度处理后对鈎端螺旋体发育的影响.....刘树茂 杨 耀 (3)

廿二种氨基酸对两株生产用鈎端螺旋体生长的影响.....刘依生 (3)

卅二株新分离的鈎端螺旋体的溶血素的产生.....李世政 (4)

几种动物組織酒精浸出液对鈎端螺旋体的刺激生长功效及兔肝浸出液用于菌苗

制造的安全性.....崔錦家 (4)

致病性鈎端螺旋体在一种新的不含血清的培养基内的生长特性.....

.....陈廷祚 刘树茂 崔錦家 李蓮芬 (5)

鈎端螺旋体菌种的干燥保存 (初步报告)崔錦家 馬效森 (6)

人体接种鈎端螺旋体菌苗后抗体的增长情况.....叶丹霓 官希珍 李藻善 (7)

浓缩鈎端螺旋体菌苗的預防效果的調查.....官希珍 琰 乾 (8)

人群接种鈎端螺旋体菌苗后的反应观察.....官希珍 叶丹霓 (8)

鈎端螺旋体的血清学鉴定及抗原性变异問題.....王道若 (9)

四川宜宾地区鈎端螺旋体的分离和鉴定.....李志远 袁必文 张世祿 杨兴全 (10)

鈎端螺旋体的分离.....重庆医学院微生物学教研室 (10)

78例鈎端螺旋体病患者的补体結合試驗.....重庆医学院微生物学教研室 (11)

溫度及紫外綫对水中鈎端螺旋体的影响.....王敏霓 屠基陶 范广昌 (11)

从自然水中分离鈎端螺旋体的情况报告——直接分离培

养法.....陈峻中 鍾健如 唐世浩 罗达章 (12)

成都郊区簇桥镇病人体内分出的鈎端螺旋体菌型的初步鉴定.....刘晓輝 (13)

三种改良鈎端螺旋体培养基.....刘晓輝 (14)

病理解剖及发病机制

四川省鈎端螺旋体病解

分析.....陈欽材 罗德元 严家貴 程德成 匡調元 高敏修 曾庆芳 (15)

四种不种状态的豚鼠感染黄疸出血型鈎端螺旋体后出现黄疸及其某些有关因素

的观察.....代保民 郑志仁 赵慧业 伍淑蓉 鍾成元 干德全 (16)

鈎端螺旋体病心肌炎及肾脏的病理变化.....程德成 匡調元 (17)

临床报告

无黄疸型鈎端螺旋体病肺大出血的临床特征与发病机制的

研究.....	曹鍾梁 代保民 郑志仁 胡連璧 (18)
四川××市郊区鈎端螺旋体病424附青霉素治疗的 經驗.....	于金堂 张学炳 卢福勳 溫高升 穆国堯 卢毅 謝安治 (21)
重庆地区鈎端螺旋体病 196 例临床分析.....	王其南 刘約翰 洪安才 罗明汉 (22)
鈎端螺旋体病若干临床問題的探討.....	刘約翰 王其南 洪安才 (23)
鈎端螺旋体病潜伏期中青霉素預防、治疗的价值.....	熊汇慈 刘約翰 王敏霓 (24)
60例无黄疸型鈎端螺旋体病肺出血患者临床表现和治疗效果 观察.....	王世聞 沈萍君 蔡銳鈞 (24)
四川省乐山地区鈎端螺旋体病 326 例临床初步分析及探討.....	廖孔禹 黃新田 (26)
四川××市鈎端螺旋体病79例临床 分析.....	李繼乾 董翔麟 袁能均 許錦生 穆国堯 (29)
鈎端螺旋体病74例脑脊髓液检查的初步分析.....	李繼乾 袁能均 (30)
四川宜宾地区鈎端螺旋体病 100 例的临床分析.....	李繼乾 (31)
四川宜宾地区儿童鈎端螺旋体病29例临床分析.....	袁能均 (31)
四川遂宁地区鈎端螺旋体病 101 例分析报告.....	四川省綿阳专区第二人民医院 (32)
四川达县地区鈎端螺旋体病95例临床分析.....	杜辛 罗孟英 高永森 (33)
巴中地区鈎端螺旋体病32例报告.....	巴中县卫生防疫站 (34)
中西結合治疗鈎端螺旋体病31例报告.....	杜辛 高永森 王之珊 (36)
流行病学及菌苗預防	
四川××地区鈎端螺旋体病調查研究报告 流行病学調查 (1958—1962年)	四川省防疫站、四川医学院流行病学教研組 (37)
鼠类传染源的調查 (1960—1962年)	四川省防疫站、四川医学院流行病学教研組 (39)
黑綫姬鼠天然与人工感染鈎端螺旋体菌的實驗观察.....	四川省防疫站 (40)
1963年四川省××专区鈎端螺旋体病的調查报告.....	
四川省防疫站、四川医学院 ^{传染病} 流行病学教研組、××专区防疫站、××专区医 院、××专区卫校 (41)	
1959—1963年在西南地区使用鈎端螺旋体菌苗的預防效果的 調查.....	郭殿一 李光祖 王庭槐 官希珍 馬占端 叶丹霓 应詩敏 周曾歆 王紹成 (42)
鈎端螺旋体菌苗接种后的过敏反应.....	馬占端 应詩敏 张延恩 李世政 (43)
池塘及田水中鈎端螺旋体的分离与鉴定及其流行病学的意义.....	周曾歆 (44)
在边远地区开展鈎端螺旋体病流行病学調查的經驗.....	周曾歆 (44)
由鼠分离的33株鈎端螺旋体的血清学分型及其在流行病学中的 意义.....	应詩敏 叶丹霓 王紹成 李剑华 (45)
重庆市鈎端螺旋体病調查研究綜述.....	資料整理者: 陈峻中 (45)
人体接种鈎端螺旋体菌苗后的反应及效果观察.....	陈峻中 黃賜玲 鍾健如 (48)

鈎端螺旋体病的实际诊断的进一步研究

Nowicki試驗法在早期诊断中的应用(摘要)

陈 廷 祚

(成都生物制品研究所)

1.作者用血液直接鏡检法,肝浸液培养基培养法,感染豚鼠腹水检查及Nowicki尿液溶解試驗法对100例早期患者血液及尿液进行了本病早期诊断的比較。

2.在作直接鏡检的100份血液标本中只检出2份阳性标本。由于检出率低,作者认为直接鏡检不适于疫区作常规檢驗用。

3.肝浸液培养基用于患者血液中鈎端螺旋体的分离并不較习用已久之柯托夫培养基为优,但可补后者之不足。阳性血液在两种培养基内生长均甚緩慢,无助于本病的早期诊断。

4.感染豚鼠腹水检查最早于感染后3日可获得阳性結果,但一次甚或多次检查結果为阴性时亦不足以排除本病的可能性。

5.由直接培养和豚鼠接种共分离得47株鈎端螺旋体。在已分离得病原体的标本中,检出率分别为100%及70%,在全部标本中分别为52.2%及43.1%。

6.用Nowicki溶解試驗的检查結果为,在病期头3日内,确诊病例的阳性百分率为80%,在病期1—7日内为83%。作者认为本法可用于本病作早期诊断。

患者血液中鈎端螺旋体的检查 及分离技术在早期疾病诊断中的应用

陈 廷 祚

(成都生物制品研究所)

1.作者用直接鏡检,直接培养和动物接种三种方法对164例患者血液作了鈎端螺旋体的检查和分离。

2.根据检查結果,在作直接鏡检的143份标本中只检出1份阳性标本,检出率为0.69%,低于国外某些地区报告的结果。用直接培养法及动物接种法共分离得52株鈎端螺旋体。

3.在52株分离物之中有24株是由直接培养与动物接种两种方法同时取得的,有11株直接培养为阳性,有9株动物接种为阳性,与余8株未作动物接种而是由直接培养取得的。直接培养和动物接种的分离率分别为79.5%及75%。

4. 作者认为用于直接培养中的血液接种量应分为两种：一为较大的接种量，一为较小的接种量。设培养基装量为5毫升，可分别种入0.25毫升及0.015毫升。增加培养管数，尤其是较小接种量的管数，有可能增加阳性率的机会。

5. 动物试验宜采用豚鼠而小白鼠感染结果则不规律。豚鼠体温上升是感染的主要标志。在感染期间，定期进行腹水检查及心血培养常可获得阳性结果。腹水检查最早可于感染后3日检出钩端螺旋体，在3—7日内检出率达38.2%，对本病的早期诊断颇有帮助。

6. 作者对血液中钩端螺旋体的检查和分离技术作了详细的叙述和讨论，并就其在早期诊断中的应用和钩端螺旋体试验室的常规检验工作提出了意见。

敏化紅血球凝集試驗及敏化紅血球溶解試驗用于钩端螺旋体病的早期诊断(摘要)

陈廷祚 崔锦家 馬效森

(成都生物制品研究所)

1. 作者用四种血清学反应(凝集溶解试验，补体结合试验，血凝试验及溶血试验)对188例钩端螺旋体病的早期患者的血液进行了比较检查。

2. 根据试验结果，作者认为，设以凝集溶解反应为基础，血凝试验及溶血试验，尤其是后一种试验的灵敏度高于凝集溶解试验，更高于补体结合试验。在病期三日内，前两种试验的阳性率达70—80%，而在同时期内，凝集溶解试验为8%，补体结合试验只达6—15%。

3. 按照抗体出现的先后，大多数标本的血凝及(或)溶血试验先于凝集溶解试验表现为阳性；相反的情形虽有存在，但为例甚少。

4. 四种试验的确诊率，以凝集溶解试验为基础，溶血试验高于血凝试验，而补体结合试验则较低。

5. 作者就血凝及溶血试验的优缺点以及四种试验的阳性界标等问题作为讨论。

柯托夫培养基經不同溫度处理 后对鈎端螺旋体发育的影响(摘要)

刘树茂 杨 耀

(成都生物制品研究所)

作者于1959年发现鈎端螺旋体陈久培养物經高压蒸汽灭菌处理后,尚可用于鈎端螺旋体作再次培养。随后不久,日人梁川良等发表类似的报导,认为Cox培养基(内含10%家兔血清)經121°C或100°C灭菌后尤較常规56°C加溫灭菌的結果为佳。最近梁川良等报导,根据鈎端螺旋体在煮沸过的Cox培养基內的发育情况,各型鈎端螺旋体可分为二类作为培养型分类用。

作者为了探索培养基中血清生长因子的耐热性,采用四个鈎端螺旋体型(相当于梁川良分型法的Ⅰ型及Ⅱ型各二株)两批血清(一批促进生长功效高的,另一批为促进生长功效差的)和大小接种量法做了比較試驗。試驗結果証明:

1.属于梁川良Ⅰ型菌的二株鈎端螺旋体以小量接种量接种时于培育三星期后亦可出现生长,并非如梁川良所述不能生长。

2 作者认为柯托夫培养基經不同溫度处理后对鈎端螺旋体发育的影响主要取决于所用兔血清混合批号。在劣質血清制成的培养基中,四型鈎端螺旋体的生长情况以加溫70°C、80°C、90°C为最佳而加溫56°C及經100°C煮沸成高压蒸汽处理的培养物,生长則极为不良。反之在优質血清制成的培养基中,四型鈎端螺旋体則以56°C加溫結果最佳,其次是70°C、80°C、90°C、100°C加溫的培养物,而121°C处理对鈎端螺旋体发育有显著抑制作用。

廿一种氨基酸对两株生产用鈎端 螺旋体生长的影响(摘要)

刘 依 生

(成都生物制品研究所)

氨基酸对鈎端螺旋体生长的影响已有若干学者作了报导。作者为探索此等氨基酸能否用于含盐量低的生产用培养基內以达到提高菌苗的合格率的目的,乃用22种氨基酸进行了下述試驗。

供試菌株为生产用两株地方菌:黄菌出血型017及沃洲乙型#110株。所用培养基为弱硷性蒸餾水,10倍稀释的Терских培养基及对照用Korthof培养基(分加10%血清与不加

血清二种)。

試驗結果証明:

1.在弱硷性蒸餾水內,各种氨基酸用量在 100r-12.5r/毫升內对試驗菌株无抑制作用,亦无明显的促进生长功效。

2.在10倍稀释的 Терских 培养基內,白氨酸、异白氨酸及西瓜氨酸用量为 100r/毫升时对017株有促进生长功效。色氨酸、西瓜氨酸、脯氨酸及羟脯氨酸用量为 100r/毫升时对 #110 株有促进生长功效。

3.在含血清的Korthof培养基內,蛋氨酸、异白氨酸、精氨酸及甘氨酸用量在 10r-1r/毫升內对試驗菌株均有促进生长功效,与其它学者报告的结果一致。但是,如果在不含血清的 korthof 培养基內,促进生长功效則称逊于加血清的对照。

4.仅用单一氨基酸作試驗时,無論在何种不含血清的培养基內或無論所用菌种如何,均无显著促进生长作用。

卅二株新分离的鈎端螺旋体的溶

血素的产生(摘要)

李世政

(成都生物制品研究所)

作者用平板法及試管法对32株新分离的鈎端螺旋体进行了溶血素产生試驗。試驗結果証明20株賽罗型鈎端螺旋体全部能产生溶血素,但溶血效价很低,最低 1:4,最高 1:16,8 株沃洲甲型及 2 株黄疸出血型全不溶血,有 1 株396型效价达 1:256。

几种动物組織酒精浸出液对鈎端螺旋体的刺激 生长功效及兔肝浸出液用于菌苗制造中的安全性(摘要)

崔錦家

(成都生物制品研究所)

作者因鉴于动物实验时,致病性鈎端螺旋体的发育以肝肾等处为数最多又据近年来的文献报导认为脂肪酸等有促进生长功效,乃采用酒精提炼法,由各种动物的肝肾提出类脂物质并作鈎端螺旋体培养試驗。試驗結果証明,在合适的浓度下,此类浸出液均有显著促进生长功效。如用于菌苗制造时,不仅可以提高菌苗合格率,而且不致引起过敏反应。茲將試驗結果要点摘要列述于下:

1.酒精浸出液制造方法,取兔肝、牛肝、豚鼠肝、猪肝、牛心及牛肾等新鮮器官,去

其筋腱脂肪后，絞碎，用紅外線烤干，研成粉末。按 1:10 加入无水酒精，并放于 37°C 水浴浸漬 10 日。然后过沪，将沪液放于低温冰箱 3 日，再用沪紙过滤。滤液为浅黄色，儲存备用。

2. 兔肝、牛肝、豚鼠肝、猪肝牛肾及牛心等酒精浸出液均具有同等刺激生长功效。試驗用菌株为黄疸出血型、沃洲乙型及秋季热型三个血清型的五个生产用菌株。

3. 用于培养基制造时，最合适的浓度为 125:1—2000:1。浓度愈高，刺激生长功效愈为明显，但此时菌体愈易出现肥大现象，在到达頂峰生长后迅速发生自家溶解。所用培养基的含盐成分宜低，在普通生产用的培养基或弱硷性的磷酸盐蒸餾水內，到达发育頂峰所需的时间比对照 Korthof 培养基約可提前 3—5 日。

4. 用浸出液作豚鼠过敏性实验証明无过敏原性。

5. 用兔肝浸出液制备普通鈎端螺旋体菌苗証明可以提高菌苗合格率。有 8 例由于注射普通菌苗而引起过敏性反应的患者經用兔肝浸液作皮內試驗証实与兔肝浸液无关。

致病性鈎端螺旋体在一种新的 不含血清的培养基內的生长特性(摘要)

陈廷祚 刘树茂 崔錦家 李蓮芬

(成都生物制品研究所)

鈎端螺旋体的生长需求及生长因子本質的探索，长久以来一直未获解决。至今亦未能发现有代替家兔血清用于鈎端螺旋体培养的代用品。

作者发现两种暫定名为 X 及 Y 的物质对鈎端螺旋体有显著促进生长功效。如果用于培养基制造，在不含血清的情况下，可以連續传代而不影响菌形或菌数。

X 为已知不含蛋白的物质，具有脂溶性，溶于水后显现乳光。最适用量經初步确定为 1:800 稀释。Y 物质为透明液体，略帶黄色。最适用量經初步确定为 1:10 稀释。Y 物质的化学检查结果为

加热凝固蛋白	(微量)	
蛋白氮	0.052 毫克/毫升	
氨基氮	0.205 毫克/毫升	
总 氮	0.486 毫克/毫升	
固体总量	1 %	
Molish 試驗	(-)	
氯化物	0.384 %	
K ⁺ (微量)	Na ⁺ (+)	Ca ⁺ (+)
po ₄ ⁼ (+)	Mg ⁺ (-)	So ₄ ⁼ (-)

于灭菌的 Korthof 盐液內按 1:800 加入 X 物质，1:10 加入 Y 物质，即可用于培养。制成的培养基几乎透明，微现乳光。高压蒸气加溫处理，亦不发生沉淀或变色。

6 株生产用致病性鈎端螺旋体在此种培养基内生长迅速經培育2日后，每个視野(300X)即可到达200条以上，异乎寻常的活泼运动，虽經34日培育观察亦未见菌数减少。

作者选用了一批促进生长功效最高的家兔血清制成柯托夫培养基作为对照与新培养基一併进行比较，发现柯托夫培养基的培养結果尚不如不加朊的新培养基，更不如加朊的新培养基。两者生长曲线亦不相同。新培养基的代时为15小时，而张师鲁的試驗結果为32—46小时。

鈎端螺旋体菌种的干燥保存(初步报告)

(摘要)

崔錦家 馬效森

(成都生物制品研究所)

鈎端螺旋体菌种的保存方法，各試驗室通常均采用液体及半固体培养基进行传代，如欲保持其毒力尚須定期作动物通过，不但手續繁杂而且易于污染或混錯菌型，为鈎端螺旋体試驗室极感煩扰的一个問題。过去有关这方面的研究工作不多，原因是此細菌对外界环境的抵抗力很低，一般的凍結或干燥均易使之死亡。低温冷冻(-70°C)虽可保存，但一般試驗室难以应用。近年来澳洲Annear采用所謂“L”干燥法和日本大塚、眞子采用冷冻干燥法，据称均已获得成功。

作者用真空干燥法，对几株鈎端螺旋体菌种作了五十次試驗，已获初步結果。现摘要报告如下：

試驗用菌株为黄疸出血型、狗型、沃洲乙型、流感伤寒型、牛型、賽罗型、秋季热型、沃洲甲型、波蒙即型、七日热型、396型及巴他維亞型計12个血清型12株菌。按常法用Korthof培养基进行接种传代，用于干燥試驗。培养物的菌龄根据試驗目的不同为在3—17日之内，但含菌数須达50条/300X視野以上。

进行干燥时，丰盛生长的培养物經6500—1500RPM远沉一小时后，弃去上清液。于沉淀物中按原培养物量的1/200量加入20%葡萄糖或蔗糖液。混匀，用特制的毛细吸管分装于0.5毫升容量的菌种干燥管中，每管0.05毫升。然后接在多枝管式的真空干燥机(上海文达出品)上进行真空干燥6—31小时。

干燥后真空熔封，放冰箱保存，并定期检查。复苏时，先用少量Korthof培养基溶解后，再移植于Korthof培养基中。

經過几个月来的探索，作者得出如下初步結果：

1. 菌龄在6—15日内均可用于干燥，結果无明显区别。
2. 供試的12个血清型均告干燥成功。但干燥后复苏結果頗不一律。波蒙那型及七日热型干燥管的复苏率为100%，沃洲甲型、狗型、396型及賽罗型則稍逊而其余菌株的干燥管的复苏結果頗不稳定。

3.干燥条件: 在最初抽真空的几分鐘內, 真空度在 $30\mu-700\mu$ 之間似无影响。抽空時間一般以 6—18 小时为宜, 時間过久, 效果較次。为了克服由于真空而引起被干燥物的凍結, 在最初抽真空的几分鐘內曾試用 $4^{\circ}-23^{\circ}\text{C}$ 的保溫水浴, 結果証明干燥效果良好。

4.保和剂: 用 20% 葡萄糖及 20% 蔗糖的結果均較良好。

5.曾經試用纖維(脫脂棉)、石英砂、灯草等作为菌液载体以扩大被干燥物的表面, 初步結果尚为滿意, 正在检查中。

6.保存時間的观察截至目前为止仅 2 个月, 复苏試驗均告成活。

人体接种鉤端螺旋体菌苗后抗体的增长情况 (摘要)

叶丹霓 官希珍 李藻善

本文承陈廷祚主任技师指導

(成都生物制品研究所)

对菌苗預防效果的評定, 除須作实地流行病学調查外, 检查人体的抗体增长及持續情况亦有其重要意义。近几年来我們先后在四川双流、华阳、云南的双江进行了普通菌苗与濃縮菌苗接种后抗体增长情况的調查。

所用菌苗系成都生物制品研究所的制品, 其中含有的菌型根据各地需要而有所不同, 但一般包括黄疸出血型、秋季热型及沃洲乙型等量混合, 亦有用黄疸出血型、賽罗型按 1:2 混合及黄疸出血型、流感伤寒、396 型等量混合者。濃縮菌苗比普通菌苗所含菌体数約多 4 倍。接种方法均按明說书进行。于接种前及接种二次 3—5 周后, 由靜脈各取血进行抗体測定。測定方法为凝集溶解試驗。所用抗原只限于菌苗內所含的型別。

接种普通菌苗后共检查 323 人。检查結果証明各型菌苗在接种后凝溶效价皆有不同程度的增高, 其中賽罗型增长率为 41.8%, 其它各型增长率在 73.9—95.6%。

接种濃縮菌苗后, 共检查 142 例。各型抗体都較普通菌苗有較高的增长。增长率在 63.4—98.6% 之間。

普通菌苗接种后一年, 体内仍保持有微量抗体 ($1:4.25\text{ X}$), 如給予加强針接种, 可刺激抗体繼續回升, 其各型抗体增长与上一年度二次接种后相較无明显差別。

此种菌苗虽經全程接种, 但抗体增长不高, 还不能达到完全免疫。因而有进一步提高質量的必要。

濃縮鈎端螺旋體菌苗的預防效果的調查 (摘要)

官希珍 王安乾

本文承陳廷祚主任技師指導

(成都生物制品研究所)

根據近年來鈎端螺旋體菌苗發展的趨勢，以及我們原用的普通菌苗有免疫力不能盡如理想，注射量大不利於推行，以及菌苗內尚含有 0.3% 家兔血清有易於引起過敏反應等缺點，乃於 60、61 二年在四川雙流地區試用濃縮菌苗進行預防效果的觀察。

所用菌苗系成都生物制品研究所的試制品。其中含黃疸出血型、秋季熱型及沃洲乙型三個菌型等量混合。菌體較普通菌苗約多 4 倍。本菌苗用化學方法已不可覺察有血清蛋白存在。接種對象的選擇，接種方法，病例的診斷都與普通菌苗的調查方法相同，唯接種劑量第 1 次為 0.5 毫升，第二次為 1 毫升。

在此期間共接種 6053 人。接種二次者 3459 人，發病率為 231.28/10 萬，與對照組發病率之比為 1:44.7。接種一次者 2594 人，發病 20 人，發病率為 770.93/10 萬，與對照組發病率之比為 1:13.5，經顯著性測驗， t 值都大於 3，證明有效。

在一次或二次接種的人群中，未發現有死亡者，而對照組病死率為 1.2%。

和普通菌苗相較，濃縮菌苗雖然有效果卓著，接種量小等優點，但仍可引起嚴重的局部反應以及不能保證免于感染，因而有進一步提高質量的必要。

人羣接種鈎端螺旋體菌苗後的反應觀察 (摘要)

官希珍 叶丹霓

本文承陳廷祚主任技師指導

(成都生物制品研究所)

鈎端螺旋體菌苗是我國的一項新的生物制品，在國際間仍在試用期間，因此，我們對這項制品的應用必須慎重從事，不但要求有效，而且要求反應小，安全可靠。本文僅就幾年來對普通菌苗與濃縮菌苗接種後的反應情況作一報導。

所用菌苗系成都生物制品研究所的出品，普通菌苗內含菌數在 600 X 視野下，每個視野 50 條以上的鈎端螺旋體，0.3% 的兔血清及防腐劑。濃縮菌苗為用普通菌苗經高速離心并加洗滌制成，其中所含異類物質已已全部洗去。含菌數比普通菌苗約多 4 倍。兩種菌苗內的菌型分配一般為黃疸出血型，秋季熱型沃洲乙型按等量混合，63 年在華陽縣使用的為特制菌苗，用賽羅型及黃疸出血型按 2:1 混合。

接种方法按說明书进行，并于接种前后20—24小时逐个測量体温及接种部位的紅肿浸潤面积大小，詢問有无自觉症状及缺工情况。反应观察标准按“鈎端螺旋体菌苗制造及检定规程”规定。

在1959—1963年，五年期間，我們曾在四川双流、华阳、云南河口等地逐年进行了五次調查，其中除60年曾試用濃縮菌苗外，余均为普通菌苗。普通菌苗先后共接种4241人次，其中接种一次者2950人，二次者1291人。濃縮菌苗共接种696人，其中一次者419人，二次者277人。

在五次观察中，历年来的全身反应情况大致相若。普通菌苗一次及二次注射后，中强反应最高占2.3%，以至无中强反应。濃縮菌苗的全身反应亦甚輕微，中等反应占0.8—1.77%，未见有强反应者。

根据逐个訪問調查，自觉症状亦甚輕微，仅有少数被接种者訴有輕微头痛（1.2—1.8%），头量（0.2—2.9%），倦怠（0.2—0.4%），余无不适。

在局部反应方面則有較大的区别。63年在华阳县使用特制菌苗及60年在双流县使用濃縮菌苗，局部反应均比較强烈。63年一次注射者中强反应合計占26.9%，二次注射者占21.7%。使用濃縮菌苗的結果，一次注射者中强反应合計占15.61%，二次注射者占14.08%。

至于引起严重局部反应的原因有待今后进一步查明。

鈎端螺旋体的血清学鉴定及 抗原性变異問題(綜述，摘要)

四川医学院微生物学教研組 王道若

本文綜述了鈎端螺旋体的血清学鉴定的依据和方法，对比了文献里常见的三种分类系統表，即WolffH5Broom氏表、Babuderi氏表和Tepckux氏表。对国内当前的分类鉴定工作，提出了意见和建議。

鉴于鈎端螺旋体的分类鉴定是以鈎端螺旋体的血清学性質是稳定的，这一前提提出的；但是鈎端螺旋体与其它微生物一样，是完全可以发生变异的。本文綜述了已报导过的鈎端螺旋体在实验室内抗原变异的資料，証明了这一事实。从自然界中新分得的菌型也在逐日增加，可以推断鈎端螺旋体在自然的条件下的变异也是完全可能的。本文又分析了探索这一問題的重要性，对开展这方面的研究工作提出了意见与建議。

四川宜宾地区钩端螺旋体的分离和鉴定(摘要)

李志远(四川医学院) 袁必文(四川医学院)

张世祿(宜宾市防疫站) 杨兴全(宜宾专区防疫站)

(指导者:曹鐘梁 林志靖 王道若)

本文报导了四川宜宾地区钩端螺旋体的分离培养和鉴定工作。

用直接接种Korthof培养基的方法从患者及鼠类共分出钩端螺旋体60株。其中48株用11型和32型的标准诊断血清凝集—溶解试验作了初步定型,证明在宜宾地区流行的菌型有*L. autumnalis*(52%), *L. icterohaemorrhagiae*(27.1%), *L. wolffi*(3705)(10.4%), *L. sejroe*(8.4%)、*L. 396*型(2.1%)。

本文试验的结果表明菌株鉴定的结果判断标准,应将菌株和诊断血清的凝集—溶解效价与诊断血清原有效价相比,至少达其50%以上方能初步定型,否则可能导致错误结论。

试验结果表明取早期血直接接种培养法阳性率可高达80%,这时所测定的患者血中抗体很少;脑脊液培养阳性患者83.4%无脑膜刺激征,因而作者建议不一定以此作为采脑脊液培养的指征。此外本文对在基层开展病原分离的无菌操作技术,材料的选择等介绍了一些简便易行的措施。

钩端螺旋体的分离(摘要)

重庆医学院微生物教研室

1959年10月在一次无黄疸型钩端螺旋体病的流行中,用血液培养和动物接种的方法分离钩端螺旋体,结果在20名病人中由动物接种全部获得阳性,由培养分离出钩端螺旋体8株。

动物选用100至300克小豚鼠,腹腔内接种病人血液2—4毫升,喂养观察。体温上升至40°C左右时,即抽取心血培养。自然病死后(或于四周后杀死),解剖检查内脏病变,并将肺、肝、肾制成悬液,作暗视野镜检,同时接种另一豚鼠,发病后继续传代。前共用豚鼠90只。培养则采用Korthof氏培养基,接种标本3滴23—30°C孵育,以暗视野镜检,连续观察4周。

20名病人血液标本接种豚鼠后,全部发病。在初次分离及继续传代之90只豚鼠中,潜伏期1—3天者占70%,平均2.93天。发病后体温多39至40°C之间,最高可升达41°C以上,濒死前常有体温骤降。有8只动物无发热反应,体温始终未超过39°C,此种动物死亡较好,病变严重,反应了机体反应性的衰退。死亡动物未见黄疸,肝脏病变不显著,肺脏有严重出血,符合临床病人所见,脏器悬液镜检,有70%找到钩端螺旋体。

培养结果不佳，阳性率低（20.7%）而污染率高（46%）。阳性标本多由豚鼠心血中分离，病人标本直接培养者阳性率仅8%。

由所得结果看来，动物接种法远比培养法效果为佳，但因动物接种耗费较大，需要一定条件，不能普遍推行，故在目前仍应力求改进培养技术，以逐步取代动物接种。

78例钩端螺旋体病患的补体结合反应(摘要)

重庆医学院 微生物学教研室

在一次钩端螺旋体病的流行中，进行了78例患者的血清补体结合试验，血清标本系双份，第一次标本绝大部分均于发病后第一周内采取，第二次标本绝大部分均于发病后第五周内采用。所用方法与侯宗昌等氏同。在78例血清标本中，第一次标本补体结合试验效价在1:20以下与1:20者占46%，1:40以上者占54%，第二次标本效价在1:20以下与1:20者占11.2%，1:40以上者占89.8%。我们以二次血清标本补体结合试验效价上升一倍或一倍以上以及效价超过1:40或1:40以上者作为阳性，根据这个标准，78例患者补体结合试验阳性率为84.5%，其中第一周内即出现阳性的为48.7%。9例患者于发病期间同时做了补体结合试验与动物体内钩端螺旋体之分离，二者结果完全符合，动物试验分离出钩端螺旋体者，补体结合试验也全部阳性，本文并对补体结合试验阳性率高低及判断阳性的标准进行讨论。

温热与紫外线对水中钩端螺旋体的影响

重庆医学院 王敏霓 基屠陶 范广昌

研究钩端螺旋体的生态学，对预防钩端螺旋体病有着很重要的意义。作者在利用物理方法杀灭钩端螺旋体的探索中，观察了出血黄疸钩端螺旋体标准菌株与本地菌株对温热及对紫外线的耐受力，并与大肠杆菌作了比较。

温热对钩端螺旋体有很强的致死作用，随温度上升及作用时间的延长，螺旋体死亡亦愈明显。温度40℃时，本地与标准株历经4小时之久未见死亡，然44℃时所有螺旋体在5分钟内全部死亡，60℃全部死亡的时间只需1分钟。

在加热较低的情况下，相对延长作用时间也可达到杀灭螺旋体的目的。如在45℃时，螺旋体在1小时内活泼运动如常，若此温度持续2小时15分钟则螺旋体全部丧失生命，因此欲用加温方法杀灭螺旋体时，应充分考虑温度高低和作用时间的关系。

根据实验，出血性黄疸钩端螺旋体对紫外线非常敏感，其杀灭效能为紫外线灯与水面的距离，照射强度和作用时间等因素所左右，在实验工作中应给予注意。

试验中也观察到出血黄疸钩端螺旋体本地株较标准株对紫外线更为敏感。这可能是标准菌株在试管内经长期传代较从病人身上分离出来不久的本地菌株对外界环境适应能力更强的缘故。

大肠杆菌較鈎端螺旋体对紫外綫的抵抗力强。这一試驗对鉴定飲用水水质的安全性有重要意义。当用紫外綫消毒被鈎端螺旋体的飲用水时，大肠杆菌仍具有卫生指标的作用。

从自然水中分离鈎端螺旋体 的研究情况报告——直接分离培养法(摘要)

重庆市卫生防疫站、重庆市卫生学校

陈峻中，鐘健如，唐世清，罗达章

水在鈎端螺旋体病传播方面，有重要的作用。稻田水，溪沟水、池塘水，构成本病流行鎖鏈中的重要环节，作者等自1961年起，致力于自然水的病原分离研究工作，应用直接分离培养法，获得成功；现将有关結果，摘要如下：

(一) 分离方法：①采样—选发病地区的稻田水，溪沟水、池塘水，沿田边或岸分边周与中央，任意采水10—50个点，将水样集中于一玻瓶內，同时测量水温及pH值。②过滤培养—水样到实验室后，立即用粗滤紙过滤1—2次，去掉水中泥砂杂质，再用灭菌的蔡氏滤器，作除菌过滤，然后以无菌操作法，将滤液分装于20ml的三角烧瓶中，每瓶的分装滤液100ml，再按2—10%的比例加入灭菌兔血清，置温箱中培养（28—32℃）四周，每周鏡检一次。另外在分装滤液时，另取滤液2—3ml，按0.5ml量分别接种柯氏培养基4—6管，与盲目大量接种同时培养。应该指出，作者等于1961年間，在水样粗滤后，曾进行水的理化因素测定与直接鏡检。当鏡检阳性后，才过滤培养；自1962年后，这二道工序停止进行。

(二) 分离結果：见統計表

1961—1963年水中直接分离鈎端螺旋体情况統計

分离年月	水件 样次	菌株数	阳性率%	确定菌型	分离地区	备 注
61—8—10	19	5	26.31	黄胆出血型 澳洲B型	北碚天生	
62—8—9	79	7	8.86	七日热型1株 国内罗尼亚型2株	北碚天生	另外4株因传代丧失未定型罗尼亚型与12型血清亦无反应。
63—6—9	55	11	20		天生、青木、虎溪、人和、九龙、石桥鋪、袁家崗、碁江幸福、鸡寮寺	因能代丧失6株现存5株、3株初步鉴定与12型血清均无反应

(三) 致病力判断：①血清型—根据已經鉴定的8个菌株，其型别与致病性菌株型别相同。②病人—1961年在分离地点有6例病人发生于水中已經分离出鈎端螺旋体之后，因在各样水地点挑水抗旱引起发病，复經患者早期血培养，其中5例均获得阳性結果，而且这些病人菌株的型别与水中5个菌株型别一致。同时水中菌株作豚鼠接种，亦能引起明显的病理改变，③豚鼠实验—62，63年的菌株，在63年中曾用豚鼠216只进行毒力实验，80%

的豚鼠于接种后 7—14 天内发病死亡，而且从 1—2 代的豚鼠心血中培养出钩端螺旋体。

④实验人员的感染—在动物实验过程中，曾因长期接触豚鼠而发病，1 例除临床表现符合外，又经血清学证实—补体结合试验早期血阳性，晚期血 1280 强阳性。凝溶试验二次均为实验动物所用菌株中之 820 菌株 1:400 强阳性。另一例因接触可能被污染的红苕地而发病，经血清学证实，其结果与前一例相同。根据上述各点，证明直接分离培养法，所获得的菌株为致病性钩端螺旋体。

四、结语：①直接培养法，能够从发病地区的地面水（田水，溪沟水，池塘水）分离出致病性钩端螺旋体。②直接培养法，优越于目前已知的其他几种分离方法，为探讨钩端螺旋体的生态学及一年四季的变化规律提供了一种简便易行的方法。

成都郊区簇桥镇病人体内分出的 钩端螺旋体菌型的初步鉴定(摘要)

泸州医学专科学校微生物教研组刘晓辉

1960 年 7——9 月，成都郊区簇桥镇一带农民收割早稻、中稻时，先后有钩端螺旋体病暴发，我们曾取 192 个病人的血进行培养，培养出 148 株钩端螺旋体，现将此 148 株钩端螺旋体的定型结果加以报告*

一、材料及方法 I 材料①菌株抗原：将从病人血内分出的钩端螺旋体用 Tepcknx 氏培养基培养 48 小时，每视野至少有 30——40 条钩端螺旋体且无自行凝集，生长丰富，运动灵活之菌液作抗原，不符此条件者不能使用。②各标准型高度免疫血清：均用成都生物制品所所出产的定型用的诊断血清，其中包括 12 个型别。

II 鉴定方法：用凝集溶解试验进行鉴定，即将此 148 株钩端螺旋体的每株抗原液（必须符合前面所述条件）与一系列稀释的 12 种标准型免疫血清（血清稀释倍数为 1:100；1:500；1:1000；1:2000；1:4000；1:8000；1:16000……以后均按 2 倍稀释）等量混合，用已校准的毛细吸管将稀释血清及菌液各 1 滴放入小试管中混合，混合后各管血清稀释度则均增加 1 倍（即 1:200；1:1000；1:2000……等）然后将此小试管放 37°C 烤箱中 2 小时，然后取管内物置暗视野映光镜下观察其凝集现象。在观察凝集现象时先看对照，对照阴性时则观察试验，从低浓度开始，直到无肯定的凝集溶解现象为止，凝集滴度即发生肯定凝集现象的最高血清稀释度。

二、鉴定结果：此 148 株中 *L. icterohaemorrhagiae* 56 株占总数 37.8% *L. australis* A 43 株占总数 29.0% *L. autumnalis* 26 株占 17.6% *L. Sejro* 23 株占 15.6%。

从以上鉴定结果来看在成都及其附近一带地区进行流行病学调查，特异型诊断特异性血清治疗，预防措施及疫苗制备时所应该使用或注意这些菌型。

* 此 149 株钩端螺旋体中有一部份曾送往成都生物制品所再鉴定，以资校正。其鉴定结果与我们所定相同，对成都生物制品所的协作特此致谢！

三种改良鈎端螺旋体培养基的初步研究(摘要)

泸州医学专科学校微生物教研组 刘曉輝

鈎端螺旋体的培养,在鈎端螺旋体病的临床诊断、流行病学调查、以及对該病进行科学研究中均具有极大价值。但到目前为止,国内外所常用的培养基很难令人满意。主要因为用这些培养基进行鈎端螺旋体的培养时,鈎端螺旋体在其中长得慢,长得少。在帮助临床及早确诊該病方面,尤感困难。故本文报告用在实验室筛选出的№1牛肝化湯兔血清培养基№2牛肝浸湯兔血清培养基№3牛肾浸湯兔血清培养基(制法见后)与目前临床常用的后列培养基即 Korthof氏培养基 Терских氏培养基 Земсков氏培养基,分別用秋疫型鈎端螺旋体菌种种入,进行培养观察(接种量及接种方法均相同)观察到前三种培养基均較后三种对照基长得快,长得多。如刚种入时立即計数,六种培养基中每視野皆8—10条,但种后1日(24小时)前三种培养基中每視野120—220条后三种对照基每視野20—60条。接种后2日(48小时)3日(72小时)……直观察到种后40日,前三种培养基均較后三种对照基长得快,长得多。再将这六种培养基同样用于临床檢驗在1960年7—9月四川成都郊区簇桥镇收稻子暴发鈎端螺旋体病时,取病人血192份培养出148株鈎端螺旋体。此148株中№1牛肝化湯兔血清培养基阳性率为77.1%大多在种后1—4天检出。№2牛肝浸湯兔血清培养基阳性率为61.44%大多在种后1—4天检出№3牛肾浸湯兔血清培养基阳性率61.5%大多在种后3—6天检出。三种对照基Korthof氏培养基阳性率59.9%大多在种后5—9天检出,Терских氏培养基阳性率45.8%大多在种后8—12天检出,Земсков氏培养基阳性率34.9%大多在种后10—14天检出。因而认为用前三种培养基进行培养时,鈎端螺旋体在其中长得快,长得多,且临床檢驗之阳性率高。故前三种培养基有其临床实用价值。现将前三种培养基制法附于下:

№1牛肝化湯兔血清培养基(a)培养基原液—取新鮮剔尽脂肪、筋膜的切碎牛肝100克,猪胃(剔尽脂肪)100克,浓盐酸10毫升,重蒸餾水1000毫升,放入56°C水浴箱中消化24小时。24小时后,取上清液过滤滴定PH7.0,煮沸10分钟过滤,再校正到PH7.4,高压灭菌,冰箱保存备用,此为培养基原液。(b)稀释液—取 KH_2PO_4 9.078克溶于1000毫升重蒸餾水中(甲液),取 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 11.876克溶于1000毫升重蒸餾水中(乙液)

甲、乙液配好后,室温或冰箱保存备用。临用时取甲液19毫升,乙液81毫升,混合后再加900毫升双蒸餾水,調至PH7.4即成1000毫升的稀释液。(c)培养基配制—临用时取原液1份,稀释液9份,混合均匀,調至PH7.4分装試管,每管5毫升,高压灭菌,灭菌后以无菌法每管中加入0.5毫升无菌灭能兔血清,放37°C孵箱,經24小时无細菌生长,則可应用。

№2牛肝浸湯兔血清培养基:(a)培养基原液—剔尽脂肪筋膜切碎之新鮮牛肝250克,加重蒸餾水500毫升,放冰箱1夜,次日过滤,水浴煮沸10分钟,滴定PH7.4后,煮沸5分钟,然后取上清液过滤,过滤后高压灭菌,冰箱保存备用。(b)稀释液—同№1稀释液(c)培养基的配制——临用时取原液1份与稀释液9份混合均匀,調至PH7.4,分装試管,每管5毫