

新疆精河县蜱媒斑点热组立克次体的分离和鉴定

孔昭敏 曹光远

(乌鲁木齐军区军事医学研究所)

张远富 陈国仕*

(军事医学科学院五所,北京)

新疆精河县库勒提草原存在着一种原因不明的发热病,用青、链霉素治疗无效,而用氯霉素、四环素等广谱抗菌素治疗则疗效显著。曾疑为蜱媒立克次体病。

新疆军区森林脑炎调查协作组曾于1973和1974年到精河县库勒提草原,捕获草原革蜱(*Dermacentor nuttalli*)接种豚鼠进行病原体分离。第一次在接种的4组豚鼠中有2组出现发热反应,镜检见到类立克次体样小体。

第二次将捕获的蜱按雌、雄分组,共分16组(每组20只)分别接种豚鼠,16组中有12组豚鼠出现发热反应,并从其中分到8株立克次体(编号为:74003、74004、74005、74006、74011、74012、74013、74016)。现将结果报告如下:

材 料 和 方 法

一、材料来源

自新疆精河县库勒提草原(海拔1900m)的芨芨草干茎上捕获的草原革蜱。

二、分离方法

用体重在300—400g之间的雄性豚鼠进行

立克次体的分离。

将捕获的蜱按雌、雄分组,每组20只。1—5组为雄蜱,6—16组为雌蜱。按常规法接种豚鼠。

接种豚鼠后,逐日测鼠体温,肛温39.5℃以上者为发热。于发热后2—3天剖杀豚鼠,将其脾、睾丸、肾涂片镜检传代。

三、鉴定方法

1. 生物学特性观察:将分离到的立克次体株感染豚鼠、鸡胚、鸡胚细胞观察其感染情况。

2. 血清学试验:将分离到的8株精河立克次体之抗原(用乙醚浸渍法制备的可溶性抗原)和血清(是各株免疫的豚鼠血清)同普氏立克次体、莫氏立克次体抗原及免疫血清、Q热立克次体免疫血清、Q热立克次体I、II相抗原(兰州生物制品研究所生产)、北亚热苏联株免疫血清和北亚热东北株免疫血清(北京生物制品研究所供给)作交叉补体结合试验。

* 石河子地区卫生防疫站王泉河、陈继亚同志及军事医学研究所刘岩同志参加部分工作。

试验结果

16 组中出现发热反应的有 12 组 (编号为: 74001、74003、74004、74005、74006、74008、74009、74011、74012、74013、74014、74016)。又将 12 组中之 8 组 (雄蜱 3 组: 74003、74004、74005; 雌蜱 5 组: 74006、74011、74012、74013、74016) 传第二代, 结果全部出现发热反应。

在传第二代的同时接种鸡胚卵黄囊。鸡胚于接种 4 至 6 天死亡。死胚解剖, 用卵黄囊涂片染色镜检, 均见到立克次体。

一、实验感染

1. 豚鼠: 豚鼠对所分离的立克次体株很敏感。其反应表现为发热, 雄性豚鼠出现阴囊反应。豚鼠感染发病的潜伏期为 5 天左右, 体温最高在 40℃ 以上。解剖后可见到睾丸鞘膜发炎、溢血或渗出液。

2. 鸡胚: 8 组豚鼠传第一代材料接种于 5 日龄鸡胚卵黄囊后, 鸡胚常在 4—6 天内死亡。死胚在孵箱 (33℃) 中继续培养 48 小时, 镜检立克次体的数量比死后立即解剖所见到的多。

3. 鸡胚细胞: 分离的立克次体株, 在鸡胚纤维母细胞中的繁殖量与接种材料中所含的立

克次体量有关 (有时在一个视野中可有 100 多个)。立克次体在鸡胚中传至第四代时, 镜检即查不到了, 所以不宜在鸡胚中连续传代。

另外, 从 1976 年 12 月到 1978 年 8 月, 在一年多时间内, 将精河株立克次体在人胚肾细胞中进行培养传代。精河株立克次体能在人胚肾细胞中生长、传代, 发育情况良好。

二、补体结合试验

1. 用精河立克次体各株的血清同抗原作补体结合试验 (见表 1): 精河立克次体各株血清同抗原交叉补体结合试验, 各株间无差异。

2. 精河株立克次体和其他立克次体间的交叉补体结合试验 (见表 2): 试验中所用抗原是精河立克次体 74016 株抗原, 74003 株免疫豚鼠血清 (试验中用其他任一株均可)。

从上面的结果可以看出, 精河株立克次体不属于普氏、莫氏、Q 热立克次体, 与这三种立克次体没有共同的抗原成分, 只和同属呈阳性反应。说明精河株立克次体不是斑疹伤寒组、Q 热组的立克次体, 而是另一种立克次体。

3. 精河株立克次体与几株北亚蜱媒斑点热立克次体的补体结合试验 (见表 3):

采用的北亚蜱媒立克次体株为黑龙江省虎

表 1 精河 74004、74005、74006、74012、74013 株血清与 74016 株抗原的补体结合试验结果

抗原 (74016)	血 清 稀 释 度															
	74004				74005				74006				74012			
	1:4	1:8	1:16	1:32	1:4	1:8	1:16	1:32	1:4	1:8	1:16	1:32	1:4	1:8	1:16	1:32
1:4	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
1:8	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
1:16	#	#	#	#	#	#	#	#	-	-	-	-	#	#	++	++
1:32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1:64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注: “#”为全不溶血, “++”为 50% 不溶血, “+”为 25% 不溶血, “-”为阴性, 终点“++”为阳性。

饶地区分离的北亚热东北株, 及北京生物制品研究所供给的北亚热苏联株免疫的血清。精河 74016 株为抗原。

由北京生物制品研究所提供的北亚热苏联株免疫豚鼠血清及北亚热东北株免疫豚鼠血清和普氏、莫氏、Q 热立克次体抗原作补体结合试

验, 均未出现过阳性结果, 也没有交叉。

从上述试验结果看, 由草原革蜱 (*Dermacentor nuttalli*) 分离的 8 株立克次体属斑点热组立克次体, 与北亚蜱媒斑点热立克次体 (*D. Sibericus*)^[1] 是近似的。

表2 精河株立克次体与普氏立克次体、莫氏立克次体、Q 热立克次体的补体结合试验

抗 原		血 清 稀 释 度															
		普 氏				莫 氏				Q 热				精河(74003)			
		1:160	1:320	1:640	1:1280	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:40	1:80	1:160	1:320	1:10	1:20	1:40	1:80
普 氏	1:8	#	#	+	-	#	#	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:16	#	#	+	-	#	#	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:32	+++	++	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
莫 氏	1:8	#	#	#	#	#	#	#	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:16	#	#	#	-	#	#	#	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:32	#	#	#	-	#	#	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Q 热	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-	#	#	#	#	-	-	-	-
	1:16	-	-	-	-	-	-	-	-	#	#	#	+	-	-	-	-
	1:32	-	-	-	-	-	-	-	-	#	+	-	-	-	-	-	-
	1:64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
精河 (74016)	1:2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#	#	#	+
	1:4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#	#	#	-
	1:8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#	#	#	-
	1:16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	#	#	#	-

表3 精河株立克次体与几株北亚蜱媒斑点热立克次体免疫血清补体结合试验

抗 原		血 清 稀 释 度											
		苏联株				东北株(84)				东北株 II			
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:4	1:8	1:16	1:32	1:4	1:8	1:16	1:32
精 河	1:2	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
	1:4	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
	1:8	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#
	1:16	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#

小 结

1974 年我们从新疆精河县库勒提草原捕获的草原革蜱,所分离的 8 株立克次体经动物感染实验,出现阳性体征(病态发烧及阴囊肿大)。而且血清学试验证明所分离的立克次体与苏联株(*D. Sibiricus*)^[2] 近似。因此认为精河株立克次体为北亚斑点热立克次体,其理由是:

1. 从地理环境上看,捕获草原革蜱的地区为草原带,与苏联远东地区景观相似^[2]。

2. 精河株立克次体与普氏、莫氏、Q 热等立克次体的补体结合试验呈阴性反应,证明不属

于这三种立克次体。

3. 小鼠敏感试验结果,小鼠不敏感,证明不是小蛛立克次体。

4. 精河株立克次体抗原与北亚立克次体苏联株及东北株的免疫血清均呈阳性补体结合反应。

参 考 文 献

- [1] Г. М. 李伟斯, F. L. 霍施福:《人类病毒及立克次体感染》682—683,上海科学技术出版社,1964。
- [2] М. И. Шапиро: Журн микробол Эпидемиол Им мунобиол, 10: 123—129, 1958.