

## 参 考 文 献

1. 刘津成: 全国流行性出血热防治座谈会资料, 1983
2. 郝瑞峰等: 广州医药, 15(2): 7~10, 1984
3. 广州市卫生防疫站: 内部资料, 1985
4. 陈化新: 公共卫生与疾病控制杂志, 1: 1~2, 1982
5. Ho Wang Lee et al: J Infect Dis, 137: 298, 1978
6. Umenai T et al: Lancet, 1: 1314, 1979
7. 宋干: 全国流行性出血热防治座谈会资料, 102~108, 1983
8. 王成怀译: 国外医学, 11: 548, 1979
9. Ho Wang Lee et al: J Infect Dis, 146: 645~651, 1982
10. 王国栋等: 全国流行性出血热防治座谈会资料, 1983
11. 米尔英等: 全国流行性出血热防治座谈会资料, 1983
12. Ho Wang Lee et al: J Infect Dis, 146: 638~644, 1982
13. 广州市卫生防疫站: 内部资料, 1985
14. 刘树国等: 广州市卫生防疫站, 内部资料, 1985

(参加本工作的还有林卓鹰、郭荣同、李钊华、张威等同志。广州医学院等12个单位协助采样。流研所严玉辰副教授, 陈化新副主任进行了技术指导。军事医学科学院五所四室主任李钟铎对本工作结果进行了鉴定。在此一并致谢)

## 介绍一种保存钩端螺旋体毒力的简易方法

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所 朱桂凤 聂第楷

如何保存钩体毒力, 是一个急待解决的问题。多年来, 国内外一些学者研究了冷冻真空干燥和液氮保存法。但这些方法需要昂贵的仪器设备, 操作较复杂, 因此未能广泛采用。我们曾就这个问题进行了探索, 目的在于寻找保存钩体毒力的简易方法, 现报告于下。

## 一、培养基:

1. 半固体培养基: 即Терских液体培养基中加入0.25%琼脂, 具体作法是以10%磷酸盐缓冲液为基础, 然后加入琼脂0.25%, 煮沸10分钟, 过滤, 经15磅高压蒸气消毒30分钟, 待冷至56°C时加入预先加热37°C的12%健康灭活兔血清(最好用3只家兔以上的混合血清), 充分混匀, 迅速分装于试管(15×1.5cm), 每管装5毫升, 置37°C孵箱过夜, 无杂菌生长, 备用。

2. 液体培养基: 将上述Терских培养基(不加琼脂)于250毫升三角烧瓶及20×2cm试管中分别分装100毫升及10毫升, 经15磅30分钟蒸气消毒后, 加入10%灭活兔血清, 备用。

二、试验方法: 试验用钩体菌株为黄疸出血群赖型, 菌株的原始来源系自四川钩体病患者赖××血液分离。将该菌株感染金黄地鼠后4~5天发病, 濒死时经无菌手续解剖, 用无菌镊子, 将肝组织挟碎, 用缓冲液培养基制成10%肝悬液。

取1毫升灭菌吸管, 吸取10%肝悬液0.2毫升穿刺接种于半固体培养基中, 置28°C孵箱, 培养5~7天后取出, 当钩体生长丰盛时, 在培养管液面下1厘

米处, 可见钩体生长特有的乳白色光环, 此时, 将试管棉塞换成经过煮沸灭菌的胶塞, 用前烤干胶塞上的水份, 防止试管壁上霉菌生长, 盖严胶塞。置室温(15~28°C)通风的暗处保存。同样, 将上述感染地鼠的肝悬液分别接种于三角烧瓶及试管液体培养基中, 种入量为10%(V/V); 培养及保存条件亦相同。

## 三、结果:

1. 用上述半固体培养基保存的20管黄疸出血群赖型钩体, 经过53个月后, 分别转种于Korthof培养基, 培养结果, 其中10管有钩体生长, 经试管2次转种后, 取第7天培养物1毫升注射于体重80克金地鼠腹腔内, 共注射10只, 感染后4~5天, 全部死亡, 解剖所见, 内脏出血, 尤以肺部出血典型, 腹膜黄染, 钩体病变典型。

与此同时, 将对照组, 即试管内传代(每2~6个月传1次)保存的同型同株钩体接种于体重相同的金地鼠10只, 结果全部存活, 解剖后未见病理改变。

2. 用上述液体培养基保存的10瓶黄疸出血群赖型钩体, 经过30个月后, 分别转种于Korthof培养基, 培养结果, 其中6瓶有钩体生长, 用该菌液攻击金地鼠10只, 4~5天后全部死亡, 解剖所见, 均有钩体典型病变; 但上述液体培养基保存的14管同型钩体, 经过相同时间后, 转种结果, 无1管生长钩体。

试验结果表明, 保存钩体毒力最简单的方法是用半固体培养基在试管内培养和室温保存为佳; 如果用液体培养基, 则以三角烧瓶(250毫升三角烧瓶分装培养基100毫升)进行培养和室温保存为宜。