

# 钩端螺旋体外膜菌苗的研究

## IV 多价外膜菌苗小量人群实验接种的观察

鲍行豪<sup>1</sup> 罗海波<sup>2</sup> 张锦麟<sup>3</sup> 李岩金<sup>1</sup> 姜训<sup>2</sup> 裘颖静<sup>3</sup>

关于钩端螺旋体(简称钩体)外膜菌苗的研制,理化特性、化学组成、抗原性及免疫力试验等我们过去业已报道<sup>[1~3]</sup>。为了尽早能使外膜菌苗用于预防实践,在实验室5名工作人员志愿试验无异常反应的基础上,1981年5月我们选择浙江桐乡县非流行区部分农民为小量人群试验对象,进一步观察外膜菌苗接种后的人体反应和抗体消长动态,以便为中量人群试验提供依据。同时以钩体普通菌苗作对照。

### 材料与方法

#### 一、试验用的钩体菌苗:

1.外膜菌苗:系按改良法制成<sup>[2]</sup>,菌苗中包括黄疸出血群赖型70091株、流感伤寒群流感伤寒型临6株、秋季群秋季型56060株及犬热群犬热型桂44株,各按1/4比例混合。批号为80-1。反向炭凝滴度分别为黄疸出血群(56601)1:2048、犬热群(56603)1:1024、秋季群(56606)1:2048和流感伤寒群(56609)1:4096。

2.普通菌苗:系卫生部上海生物制品研究所生产的四价混合钩体菌苗(菌型同外膜菌苗)批号为80-43。

二、接种对象:系浙江省桐乡县崇福镇近郊外表健康,选择13~60岁的农民,禁忌症除外,不分性别进行接种。按双盲法随机编号分为二组,外膜菌苗组61人,普通菌苗组60人。

三、免疫方法及反应观察:外膜菌苗组皮下接种一次,剂量为1.0ml。普通菌苗组每人皮下接种二针,第一针1.0ml,第二针2.0ml,间隔七天。免疫后24小时观察注射部位有无红

晕、肿胀、淋巴结肿大及淋巴管炎。全身反应观察内容包括询问自觉症状(如头痛、头昏、恶心、呕吐、乏力及皮疹等),测量口温等。局部及全身反应判定标准,参照预防接种手册<sup>[4]</sup>。

四、血清抗体动态观察:接种对象于免疫前、免疫后1、3和6个月各采血一次,一般自耳垂或手指采血0.2ml(可获血清约0.1ml)加至含0.9ml无菌生理盐水中,混匀,即成1:10稀释。然后按2倍系列稀释法直至1:1280。按微量显微镜凝集试验测定血清抗体消长情况。

### 结 果

一、人体接种的反应观察:接种外膜菌苗组61人,全身反应中出现弱反应者占11.48%,而普通菌苗组60人,第一针接种后弱反应为28.33%,二者均无全身中、强反应出现。外膜菌苗组局部反应的弱反应为6.56%,中反应者为16.39%,而普通菌苗组第一针弱反应为8.33%,中反应为3.33%,第二针分别为15%和1.67%(表1)。可见两类菌苗接种后全身反应轻微,而局部反应外膜菌苗组的中反应高于普通菌苗组( $pt=2.5, P<0.05$ ),而弱反应则相反。

二、抗体动态观察:从两组菌苗接种后人群血清抗体水平的动态来看,各型免疫后1、3及6个月与免疫前相比,抗体滴度有明显增长。免疫后1个月抗体滴度最高,外膜菌苗组的四

1 浙江省卫生防疫站

2 浙江医科大学

3 卫生部上海生物制品研究所

表 1 两种钩体菌苗接种反应观察

菌苗名称	接种次数	剂量 (ml)	观察人数	全身反应 (体温, °C)				局部反应 (红晕, cm)			
				无反应	弱反应	中反应	强反应	无反应	弱反应	中反应	强反应
				<37.0	37.1-37.5	37.6-38.5	>38.6	<2.5	2.5-5.0	>5.1	
普 苗	第一次	1	60	43 (71.67)	17 (28.33)	0	0	53 (88.34)	5 (8.33)	2 (3.33)	0
	第二次	2	60	53 (88.33)	7 (11.67)	0	0	50 (83.33)	9 (15.00)	1 (1.67)	0
外膜	一次	1	61	54 (88.52)	7 (11.48)	0	0	47 (77.05)	4 (6.56)	10 (16.36)	0

注: 括弧内为百分率。

个菌型中以犬及流感伤寒型增长最为明显。免疫后3个月抗体滴度皆有不同程度下降。6个月普通菌苗组的黄疸出血型与秋季型已基本恢复

到免疫前水平, 而外膜菌苗组抗体尚能保持一定水平( $t=6.7$ 及 $2.4 P<0.05$ ) (表2)。

从两类菌苗的同期抗体滴度来看, 四个菌

表 2 两种钩体菌苗的抗体消长及同期抗体滴度比较

菌型	免疫时间	普 苗		外 膜		GMT 比较
		GMT	t值	GMT	t值	
黄疸出血	免疫前	1.77		1.66		0.3
	免后一月	72.26	18.9	98.37	22.2	1.9
	免后三月	48.43	18.2	64.27	19.8	2.7
	免后六月	1.51	0.7	8.60	6.2	6.7
犬 热	免疫前	1.20		1.06		1.1
	免后一月	72.71	28.9	121.00	47.2	3.9
	免后三月	49.60	31.1	85.02	42.7	5.0
	免后六月	5.35	5.5	12.18	10.1	2.4
秋 季	免疫前	1.20		1.89		2.2
	免后一月	65.29	28.9	65.86	18.2	0.1
	免后三月	43.49	33.3	55.62	18.1	3.2
	免后六月	1.89	2.2	3.78	2.5	2.4
流 感 伤 寒	免疫前	1.28		1.28		0.1
	免后一月	120.50	28.4	191.10	31.4	3.1
	免后三月	54.58	27.8	92.58	26.4	4.2
	免后六月	3.24	3.8	5.40	5.0	0.7

注: “GMT比较”系指两种菌苗同期GMT比较(t值)

型中有三个型在免疫前并无差异, 只有秋季型外膜菌苗组人群免疫前抗体水平略高( $t=2.2$ )。免疫后6个月两类菌苗抗体滴度均明显

下降, 除流感伤寒型两者(外膜菌苗与普通菌苗)无差异外, 其它3个菌型仍以外膜菌苗组为高( $t \geq 2.4 P < 0.05$ )。

## 讨 论

一、通过本次观察证实两种菌苗接种人群后，外膜菌苗组全身反应低于普通菌苗组，而局部反应则高于普通菌苗组。总的看来，两种菌苗接种后虽出现一些轻微反应，但在48~72小时均恢复正常，未出现由于菌苗接种而发生的不良影响。初步表明外膜菌苗亦是一种安全的人群免疫制剂。

二、从接种人群抗体水平检测结果分析，免疫后一、三个月与免疫前相比，抗体滴度均有明显增长，一个月为抗体增长的高峰，六个月滴度明显下降，普通菌苗组有二个菌型已恢复到免疫前水平。按免疫后同期滴度相比，外膜菌苗组的几何平均滴度均高于普通菌苗组，可见外膜菌苗虽仅一针注射，但抗体增长幅度比普通菌苗注射二针还高。

三、从本次试验所测定的抗体水平表明，两种菌苗接种后的抗体滴度均普遍较低，是否因此次试验点为非流行区，人群过去未与钩体发生接触感染，亦无钩体菌苗接种史，基础免疫水平低，虽经钩体菌苗初次接种其抗体上升滴度较低，持续时间亦较短，消失快，以致免疫六个月的抗体测定中，虽外膜菌苗组抗体滴度略高于普通菌苗，但差别较小，故需进一步试验。York曾指出，患钩体病的牛和猪恢复后其血清显凝抗体滴度虽低到1:10~1:40，仍能抵抗具有毒力的波摩那群(型)钩体的攻击(5)。湖南省卫生防疫站在湖南省桃源县观察，显凝抗体最低为1:20的人群在钩体病的“活动性”疫源地参加“双抢”劳动而未见发病者(6)。Faine曾证实显凝抗体虽低到1:2亦能获得保护(7)。

四、从本次观察结果看，外膜菌苗一次注射虽能达到或超过普通菌苗全程注射的效果，但抗体滴度上升尚不理想，持续时间亦不长。为此，我们将在外膜菌苗中添加适量的佐剂，以延长外膜抗原在体内停留时间，不断刺激B淋巴细胞产生抗体，对人体的免疫力可能起到

增强作用。

从菌苗制剂的方向和使用效益来分析，钩体外膜菌苗首先是一种去除了免疫原性低的轴丝和圆柱形菌体的纯化外膜制剂(1)。因钩体感染或菌苗接种后，首先在机体免疫系统的作用下产生抗外膜抗体。此种抗体即能赋予机体对钩体再感染的防御能力，使之获得完全保护。特别在我们改进了国外需用高速和超速离心制备方法，仅用二次不同孔径微孔滤膜超滤浓缩和提纯外膜(2)方法简便，这又为大批量人用外膜菌苗生产提供了新的途径。此外，外膜菌苗的免疫剂量每型仅需0.2ml(相当于普通菌苗2ml)接种豚鼠后即能获得对2ml同型强毒活菌攻击而达到完全保护。本文在小量人群试验中以4价外膜菌苗总量1ml(各型0.25ml)接种一次，其血清抗体水平又较同种普通菌苗接种2次(3ml)为高。显示外膜制剂免疫原性强固。

从经济价值来看，3人份普通菌苗能制备1人份外膜菌苗，而注射次数各减少一次，可节省注射费1倍和降低工作量一倍，加上普苗量大，运往基层使用运输费又要增高。因此，从整个生产到运输及使用，外膜菌苗并不比普苗提高很大成本。况且工艺改进尚有潜力可挖。而且外膜菌苗亦是基层单位提出的迫切要求。再与目前所试制的浓缩菌苗比较，虽制备工艺较为简便，其浓缩倍数与外膜菌苗相同，但注射剂量为1ml注射2次，总量2ml，亦为外膜菌苗的2倍。经济效益并不比外膜菌苗低。下面将三种菌苗列表作一比较(表3)。

表3 三种钩体菌苗经济核算比较

菌苗	类型	浓缩 倍数	1人份所 需普苗*	接种 次数	工作 量	运费 指数
外膜	纯化	8-10	8-10	1	1	1
浓缩	全细胞	10	10	2	2	2
普通	全细胞	原液	3	2	2	3

\* 制备1人份所需普苗毫升数

从上述分析，我们认为外膜菌苗是走纯化菌苗方向，用量小、接种次数少，且能提高人

群免疫效果,如能再进一步改进,使成预防钩体病理理想的免疫制剂是完全可能的。

摘要

钩端螺旋体外膜菌苗人体接种后反应轻微。免疫后1~3月抗体有明显增长。外膜菌苗一针注射即能达到或超过普通菌苗全程接种水平。一个月犬型及流感伤寒型抗体增长最高(t>3), 黄疸出血型次之(t=1.9), 秋季型较低(t=0.1)。三个月四型抗体均以外膜菌苗组高(t>2.5)。六个月两类菌苗抗体虽均明显下降,但仍以外膜菌苗组高(t>2.5)。

ABSTRACT

The side-effect of the Leptospiral outer envelope vaccine for human being was slight. One to three months after immunization, the serum antibody titer increased markedly. The average titre induced by a single dose injection of the outer envelope vaccine was as high as or even higher than that induced by whole cell vaccine. One month after vaccination, the antibodies against canicola serotype and grippotyphosa serotype ranked the high-

est (t>3), next was that against the icterohaemorrhagiae serotype (t=1.9), the lowest was that against autumnalis serotype t (t=0.1). Three months after injection, in all 4 serotype antibodies, titers induced by the outer envelope vaccine were always higher than that by the whole cell vaccine (t>2.5). After six months, the antibody titers induced by both vaccines decreased, however, the former was still higher than the latter.

参考文献

1. 鲍行豪等: 微生物学报, 20: 316, 1980.
2. 张锦麟等: 中华微生物学和免疫学杂志, 1(3): 174, 1981.
3. 罗海波等: 中华微生物学和免疫学杂志, 2(4): 261, 1982.
4. 卫生部防疫司: 预防接种手册, 1975.
5. York CJ: Vet Med, 52: 563, 1975.
6. 中国医科院流研所等: 湖南省卫生防疫通讯, 1: 83, 1976.
7. 费恩 S: 钩端螺旋体病专辑(微免部分), 81, 流行病学杂志编辑部等, 1981.
(桐乡县防疫站以及范鑫山、戚玉明、卢向明和王宝亮参加部分工作, 于此一并致谢)

肠道门诊菌痢诊断依据可靠程度的探讨

余少良<sup>1</sup> 彭求烈<sup>1</sup> 顾振祥<sup>1</sup> 刘文英<sup>2</sup> 赵翠英<sup>1</sup> 胡秋萍<sup>1</sup> 熊桂兰<sup>3</sup> 姚静<sup>2</sup>

疫情报告细菌性痢疾(简称菌痢)往往占各种肠道传染病的首位,其可靠程度如何?我们于1982年6~11月,对黄石市几所主要医院的肠道门诊经粪常规检验(简称粪检)诊断为菌痢或肠炎的成人腹泻患者,作了痢疾杆菌、不凝集弧菌(NAG)和沙门氏菌的检查。

原肠道门诊诊断标准:腹泻每日三次以上或连续腹泻二日以上,有脓血或粘液,左下腹压痛明显,伴里急后重,粪镜检十个高倍视野,平均每视野白细胞>5个,吞噬细胞>一个诊断为菌痢;而腹泻每日三次以上,为水样便或稀便中粘液少量,无脓血及里急后重,粪检白细胞平均<5个/视野,无吞噬细胞者诊断为肠炎。

结果:经各医院门诊诊断为菌痢或肠炎的2,102例中检出病原体者160例(7.6%),其中痢疾杆菌70例, NAG66例,沙门氏菌24例,检出百分率分别为:3.3、3.1、1.1(附表)。

从附表可见,菌痢诊断符合率仅为7.8%。从门诊诊断为肠炎的患者中检出菌痢26例,原误诊率为

1.7%。

附表 门诊诊断为菌痢、肠炎的病原检出情况

Table with 5 columns: 门诊, 门诊确, 痢疾杆菌\*, NAG\*, 沙门氏菌\*. Rows include 菌痢, 肠炎, and 合计.

我们的细菌培养检验结果

本次调查结果证明,肠道门诊,未经细菌培养,仅靠临床症状和粪检诊断为菌痢的患者,其符合率很低(7.8%)。这一结果揭示了肠道门诊报告的菌痢人数,与实际显然不相符合,存在着扩大化现象。因此,负责疫情统计的单位,在计算菌痢的发病率或监测菌痢时,应考虑这一因素的影响。

1 黄石市卫生防疫站
2 大冶钢厂职工医院
3 黄石市中医院