

从空调系统冷却塔水中分离出军团病杆菌

中山医学院第三附属医院内科 唐英春 黄玲 廖适生

军团病杆菌广泛存在于土壤、湖泊、小河、沟渠、游泳池、空调系统冷却塔内。1976年费城退伍军人会中爆发的肺炎即因本菌第一种第1血清型污染了宾馆的空调系统而致病的。

1984年李珍大等报告从一例肺炎病人分离出军团病菌^[1]为第一种第6血清型。我们于1984年10月间三次从广州某单位空调系统冷却塔水中分离出军团病杆菌，三株均属于第一种第1血清型，报告如下。

实验方法

于1984年10月16日、20日、26日先后三次，每次取广州市某同一单位动力部机器房内的空调系统冷却塔水样500毫升置灭菌容器内，以4,500转/分离心30分钟，留取沉渣液10毫升。另选体重为300~400克豚鼠三只，向每只腹腔内注入3毫升沉渣液。注后第4天将豚鼠杀死，取腹腔液和切碎脾组织分别接种于B-CYE^[2]琼脂培养基上，在35℃空气条件下培养。其余1

毫升沉渣液经低pH处理^[2,3]，在60℃水浴中放置3分钟后接种于含抗生素的B-CYE琼脂培养基上。

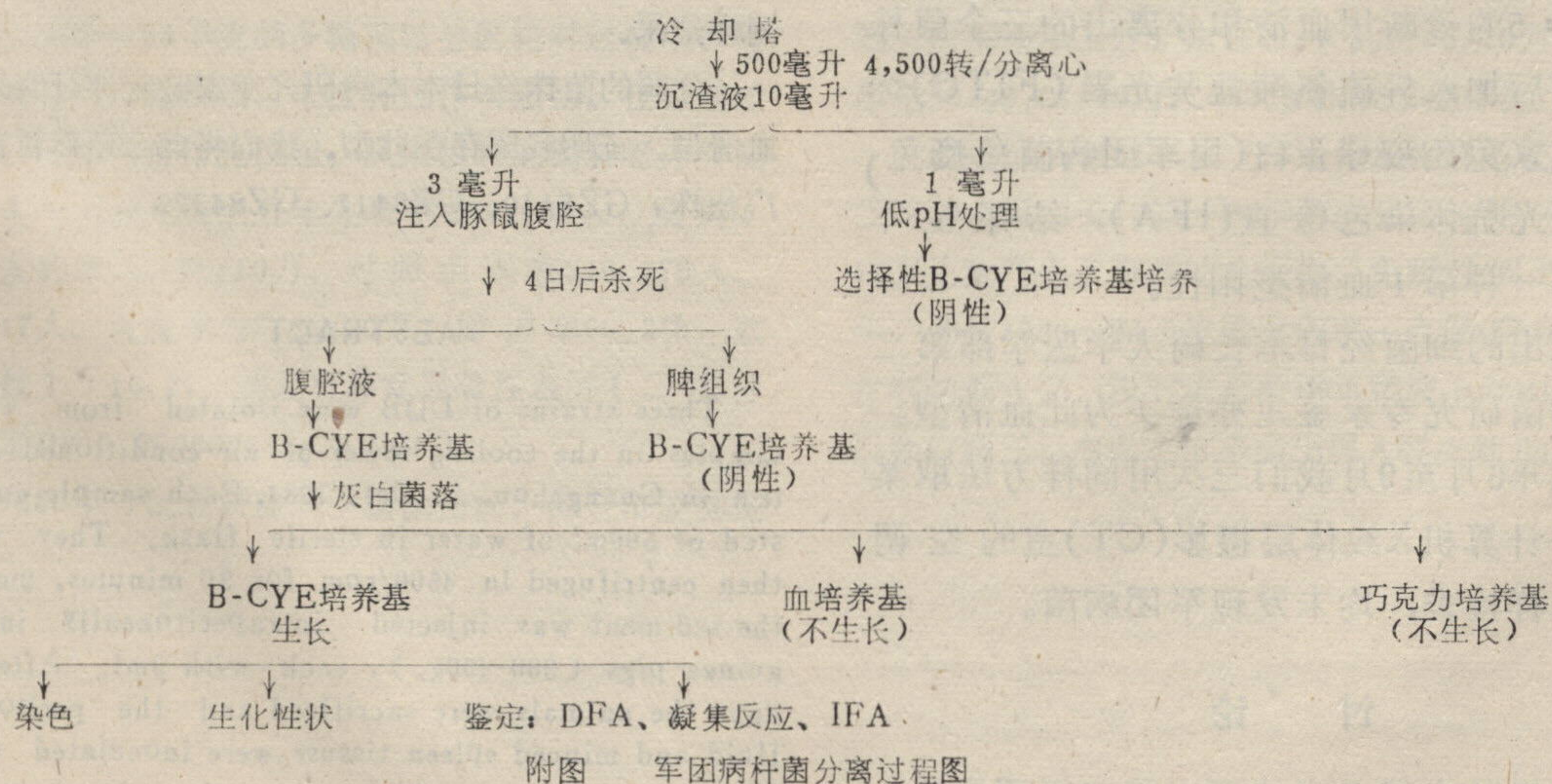
从腹腔液接种的标本于培养第二天开始长出灰白色略突起的菌落，菌落为8~20个。而切碎脾组织接种的培养后未见疑似菌落生长。三次采集水样分离培养军团病菌情况如表1。

表1 三次采水分离培养军团病菌菌落生长情况

水样采集日期 (1984年10月)	B-CYE培养	
	腹腔液	脾组织
16日	1/3	0/3
22日	1/3	0/3
26日	1/3	0/3

注：分母为检查豚鼠数，分子为生长菌落豚鼠数

将所得菌落再分离接种于B-CYE琼脂培养基、血培养基和巧克力培养基上。在B-CYE琼脂培养基上生长出灰白色圆滑、表面稍突出、湿润而有光泽的菌落和菌苔；而在血培养基和巧克力培养基上均不生长。分离过程如附图。



实验结果

从B-CYE琼脂培养基上分离的呈革兰染色阴性杆菌。Gimenez染色菌体呈红色背景为兰色杆菌。分离出的细菌生化性状如表2。

表2 分离出的细菌的生化性状

试 验	结果
氧化酶	-
明胶液化(胶片法)	+
尿素酶	-
马尿酸水解	+
过氧化氢酶	+
β-内酰胺酶(Nitrocefin法)	+
β-内酰胺酶(碘微量法)	+
长波长紫外线照射产生荧光色素	-

+表示阳性, -表示阴性

用日本デンカ生研株式会社制造的军团病菌诊断及分型血清,以美国CDC提供的标准菌株第一种第1血清型为对照,与分离出的细菌作凝集反应,结果如表3。

表3 凝集反应结果

菌 种	血清型别					
	1	2	3	4	5	6
标准菌株 第一种第1型	+	-	-	-	-	-
GZ8410	+	-	-	-	-	-
GZ8411	+	-	-	-	-	-
GZ8412	+	-	-	-	-	-

以1:5的诊断用血清和分离出的三个菌株混合孵育后加入异硫氰酸盐荧光素(FITC)标记的羊抗家兔免疫球蛋白(用军团病菌免疫兔)作间接荧光抗体染色检查(IFA),结果呈军团病菌第一种第1血清型阳性。

分离出的细菌经日本长崎大学医学部第二内科本病菌研究专家鉴定亦证实为此血清型。

1984年6月至9月我们三次用同样方法取某医院电子计算机X线体层摄影(CT)室的空调冷却塔水样检查,均未发现军团病菌。

讨 论

一、目前有很多方法可以鉴定军团病菌,

如直接荧光抗体检查,凝集反应,间接荧光抗体检查等。我们采用凝集反应法及间接荧光抗体检查法,三次从广州某同一单位空调系统冷却塔水中分离出的细菌均呈军团病菌第一种第1血清型阳性。我们将此三个菌株定名为广州株:GZ8410、GZ8411、GZ8412。

二、各国对军团病和军团病菌的研究进展迅速,本菌属不断被发现新的种和血清型,而我国究竟存在哪些种和型呢?李珍大等[1]报告一例从肺炎病人分离出军团病菌属第1种第6血清型。我们分离的属于第一种第1血清型,说明我国也存在该血清型。且在同一月内先后三次从同一冷却塔水样分离出相同菌型,表明本菌阳性机会是不低的。迄今为止我国发现的种和型还太少,今后有必要广泛研究调查,提出措施指导预防,促进和推动临床研究。

摘 要

我们于1984年10月间三次从广州某单位空调系统冷却塔水中分离出军团病杆菌。每次取该单位空调系统冷却塔水样500毫升于灭菌容器内,经4,500转/分离心30分钟,留沉渣液9毫升。另选三只体重300~400克的豚鼠,向每只腹腔内注入3毫升沉渣液。注后第四天将豚鼠杀死,取腹腔液及切碎脾脏分别接种于BCYE琼脂培养基上,在35°C空气条件下培养。

从腹腔液接种分离出的细菌作凝集反应均呈军团病菌第一种第1血清型阳性。并作间接荧光染色亦呈同样结果。

分离的菌株经日本本病研究专家鉴定亦证实为此血清型。证明我国存在此型。我们将此三菌株暂定为广州株:GZ8410、GZ8411、GZ8412。

ABSTRACT

Three strains of LDB were isolated from water samples in the cooling tower of air-conditioned system in Guangzhou, in Oct. 1984. Each sample consisted of 500ml of water in sterile flask. They were then centrifuged in 4500/rpm for 30 minutes. 9ml of the sediment was injected intraperitoneally into 3 guinea pigs (300-400g.), each with 3ml. After 4 days the animals were sacrificed and the peritoneal fluid and minced spleen tissue were inoculated onto BCYE agar plates, which were then incubated at

35°C.

The bacteria isolated from the peritoneal fluid were agglutinated with the diagnostic anti-serum LDB species-I, type-1. Positive result was also obtained by indirect immuno-fluorescence. The bacteria isolated were also identified by Japanese specialist. This result shows that LDB species-I, type-1 exists in China. The three strains are tentatively designated as GZ8410, GZ8411 and GZ8412 respectively.

参 考 文 献

1. 李珍大等: 中华微生物学和免疫学杂志, 4(2): 101, 1984
2. 斋藤厚: 在乡军人病(Legionnaires Disease)の检查, Clin Lab, 24: 925, 1981
3. 斋藤厚: 在乡军人病Legionnaires Disease, 现代医疗, 16(1): 672, 1984

(本工作承日本长崎大学医学部原耕平教授、斋藤厚副教授的热忱帮助, 承本学院郭辉玉教授的指导于, 此一并致谢)

分区轮种流脑多糖菌苗预防流脑大流行的效果观察

保定市卫生防疫站 马志千 高殿庭 郅建忠

保定市流脑呈每9年一次的规律性周期性大流行, 按此规律分析预测, 1984年保定市将出现流脑大流行。

为了阻止大流行的出现, 从1980年开始, 对全市1~15岁儿童进行分区轮种流脑A群多糖菌苗(系卫生部北京生物制品研究所生产), 至1984年度止, 进行了两遍轮种, 接种两次的儿童100,097名, 接种率为80.01%。

流脑病人按统一标准(即具有流脑症状、体征和临床检验结果)确定诊断, 并进行个案流行病学调查和病原学检查。从保定市和附近县来市传染病院住院流脑患者脑脊液中分离出脑膜炎奈氏菌48株: A群45株, 占93.7%, B群3株, 占6.25%。其中保定市4株, 均为A群。

于1980~84年流脑多糖菌苗分区轮种过程中, 将已接种的区作免疫组, 未接种区作对照组。在普遍轮种后, 已接种者作免疫组, 从未接种的漏种者作对照组。1~15岁免疫组五年共观察389,866人, 发病3人, 发病率为0.77/10万, 对照组观察216,276人, 发病17人, 发病率为7.86/10万, 保护率90.2%, 效果指数1:10.21, 两组有非常显著性差异(二项分布测定 $P=0.00000013<0.001$)。

1980年分区轮种流脑多糖菌苗前, 保定市流脑呈

每9年一次的周期性大流行。1950年以来, 分别于1957、1966、1975年, 出现了三次流脑大流行。每次大流行持续2~3年, 流行高峰年发病率为100/10万左右, 最高达347.5/10万。每次大流行之前2~4年, 流脑发病率开始逐年爬坡上升; 大流行之后2~4年, 又逐年滑坡下降, 然后进入散发年。散发年发病率一般在10/10万左右, 只有1951和1961年发病率低达1/10万左右。1980年分区轮种多糖菌苗后, 打破了流脑周期性流行规律, 1984年不仅没有出现预测的大流行, 也没有出现大流行前的发病率爬坡上升现象, 而且1980~84年连续五年发病率保持在1/10万左右的历史最低水平。

与此同时, 地处保定市周围的保定地区各县(流脑A群多糖菌苗的接种对象主要为7岁以下儿童), 流脑发病率连年上升, 由1981年的2.05/10万, 到1984年上升为8.27/10万, 个别县出现了局部流行。

保定市从1985年虽已停止流脑A群多糖菌苗的分区轮种, 但由于1980~84年两次分区轮种, 已使1~15岁儿童产生了有效的免疫力, 免疫时间可持续3年, 而且1980~84年流脑发病率一直保持在1/10万左右的低水平, 没有流行前逐年爬坡上升的预兆, 所以今后两三年内保定市不会出现A群流脑的流行。