

# 鼠疫菌FI抗原血凝试验特异性的研究

张洪翊<sup>1</sup> 曾标成<sup>2</sup> 杨华源<sup>2</sup> 张 华<sup>2</sup> 林月娟<sup>3</sup> 莫冠英<sup>2</sup>  
肖文忠<sup>2</sup> 刘禄升<sup>2</sup> 沈荣煊<sup>2</sup> 刘云鹏<sup>1</sup>

**摘要** 用钩端螺旋体13群14型菌株感染雷州半岛鼠疫旧疫区黄毛鼠、黄胸鼠137只获得的血清和钩体标准菌株13群15型标准(家兔)血清、出血热(黑线姬鼠、褐家鼠、小家鼠和家兔)免疫血清以及炭疽血清与鼠疫四种FI抗原血凝液进行血凝(PHA)交叉试验,结果均为阴性。同时进行了鼠疫放免(RIA)测定,结果也与PHA一致。

**关键词** 鼠疫菌FI抗原 血凝试验

从1973年以来,雷州半岛旧鼠疫区反复从鼠类血清检出PHA阳性,但始终没能检出鼠疫菌。为了排除与钩体病、出血热和炭疽可能产生的交叉反应,我们用钩体14型菌株感染雷州半岛近年来PHA出现阳性数最多的鼠种<sup>[1]</sup>获得的血清和从有关单位索取的出血热、炭疽等诊断血清,进行PHA特异性的研究。现将结果报告如下。

## 材料与方法

### 一、试验材料:

1. 菌株: 钩体为13群14型致病性标准菌株(表1)。鼠疫EV由广东湛江鼠防所提供。

2. 鼠疫菌FI抗原: 卫生部兰州生研所生产(85002)。

3. 鼠疫菌FI致敏血球(简称血凝液): 兰州生研所生产10%FI冻干融化血球(1983); 吉林省地方病第一所生产10%FI融化血球(86)1:6400; 广东省湛江鼠疫防治研究所生产FI融化血球(90)1:6400, FI抗原致敏绵羊新鲜血球, 滴度为1:25600。

4. 免疫血清: 鼠疫EV血清由中国预防医科学院流研所鼠疫研究室制备(1:320); 钩体标准株家兔血清包括13群15型, 其中七日热群有3型(七日热、乌尔夫和溶血)从中国药品生物制品检定所购买; 出血热血清(包括黑线姬鼠、褐家鼠、小鼠和家兔血清)由中国预防

表1 钩体13群14型标准菌株\*

菌株号	血清群	血清型
56601	黄疸出血群	沃尔登型
56602	爪哇群	爪哇型
56603	犬热群	犬型
56604	拜伦群	拜伦型
56605	热原群	致热型
56606	秋季群	秋季热亚型
56607	澳洲群	澳洲甲型
56608	波摩那群	波摩那型
56609	流感伤寒群	流感伤寒型
56610	七日热群	七日热型
57028	七日热群	裘力斯型
56612	巴达维亚群	巴叶赞型
56613	豕群	豕型
57020	蛮耗群	蛮耗型

\* 钩体标准菌株除56613、57020由广东省卫生防疫站提供外,其余均由湛江市卫生防疫站提供

医科学院流研所出血热研究室惠赠; 炭疽沉淀素血清由广东省卫生防疫站惠赠(卫生部兰州生物制品研究所生产, 批号88001); 假性结核菌血清由中国预防医科学院流研所鼠疫室制备。

5. 试验动物: 黄毛鼠是从广东省遂溪县、横山疫区捕获活鼠130只, 测鼠疫FI抗体阴

1 中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所

2 广东省湛江鼠疫防治研究所

3 廉江县鼠疫防治站

性。黄胸鼠是从广东省遂溪县、岭北区捕获活鼠20只，测鼠疫FI抗体阴性。

6. 放免仪与标记物由中国鼠疫、布氏菌病防治基地提供。

## 二、试验方法：

1. 鼠疫菌FI抗原不同血凝液与几种菌免疫血清的交叉试验：首先用EV免疫血清测定鼠疫四种血凝液（兰州、吉林、湛江和新鲜血球）的滴度，随后进行鼠疫血凝液与假性结核菌血清、出血热、炭疽和钩体13群15型血清，进行试管法血凝的交叉反应试验。各血清用1%健康兔血清盐水稀释成1:5、1:10和1:20倍，判定阳性结果以1:20“++”为标准<sup>[2]</sup>。

## 2. 钩体13群14型菌株感染试验：

① 黄毛鼠感染预备试验：以钩体黄疸型5万条/10×8视野，稀释成100条/0.5ml、1000条/0.5ml和10000条/0.5ml，各组经皮下感染两只，后经8、14、21和28天采血用凝集溶解试验测钩体抗体滴度。

② 黄毛鼠感染钩体14型菌株试验：设15组（其中一组感染两种菌钩体爪哇型和鼠疫EV），

感染2~3次，间隔6天。每组经皮下感染鼠8~10只，钩体5万条/10×8视野，第1次0.4ml，第2次0.8ml和第3次1ml。末次感染后7天试血测钩体抗体阳性者采全血，分血清后用鼠疫新鲜血球血凝液试管法和放免进行交叉试验。

③ 黄胸鼠感染钩体试验：用钩体黄疸型和爪哇型菌株，经皮下分别感染4只和3只，其它实验方法与感染黄毛鼠相同。

④ 钩体抗体检测方法：用凝集溶解试验<sup>[3]</sup>；1:50“++”为阳性。

## 结 果

### 一、鼠疫菌FI抗原四种血凝液与几种菌免疫血清的交叉试验：

1. 鼠疫四种血凝液滴度测定结果以兰州生物制品所生产10%FI冻干融化血凝液滴度最高（1:51200），见表2。

2. 鼠疫四种血凝液与几种菌免疫血清交叉试验：经用四种血凝液（兰州、吉林、湛江和新鲜血球）与假性结核血清（1:10）、出血热黑线姬鼠、褐家鼠、小鼠和家兔血清（1:5）、炭疽血清（1:10）和钩体全部标准菌株13群

表2

鼠疫四种血凝液滴度测定结果

血 凝 液	EV 血 清 稀 释											对照
	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	102400	
兰州F <sub>1</sub> 冻干融化血球	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	—	—
吉林F <sub>1</sub> 融化血球	—	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—	—
湛江F <sub>1</sub> 融化血球	—	—	—	—	—	—	++	++	+	—	—	—
F <sub>1</sub> 新鲜血球	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—

15型家兔血清（1:5），进行试管法血凝试验，没有出现非特异性凝集，全部阴性。试验结果说明鼠疫四种血凝液均有良好的特异性。

## 二、鼠疫菌FI新鲜血球血凝液与钩体感染动物血清交叉试验：

1. 钩体13群14型菌株感染黄毛鼠和钩体两型菌株感染黄胸鼠试验：两种鼠经皮下2~3次感染钩体各型菌株后，可以使感染动物100%产生钩体抗体，总体阳性率97.8%（表3）。皮下一次感染1000~10000条黄疸型菌株，在第

8天也可产生很低的抗体（1:50），该动物抗体两周开始下降，第3、4周仍可检出1:25的滴度。从钩体各型菌株对黄毛鼠产生抗体的免疫原性比较，可看出05、08、12、13菌株较强，而03和06菌株最弱。本次试验感染两种鼠137只全部活存，无一只死亡，这说明黄毛鼠对钩体各型菌株的耐受力还是很强的。

2. 鼠疫PHA、RIA与钩体感染血清交叉试验：用钩体各型（13群14型）菌株感染黄毛鼠，黄胸鼠共137只，其中134只产生钩体抗体

表3

钩体13群14型菌株感染黄毛鼠、黄胸鼠产生抗体结果

感染 次数	试 验 动 物	钩体 型 号	感 染 菌 量	感染		抗 体 阳 性			
				只数	阳性动物数	%	平均滴度		
1	黄毛鼠	01	100/0.5ml	2	1	83.3	15		
	黄毛鼠	01	1000/0.5ml	2	2				
	黄毛鼠	01	10000/0.5ml	2	2				
	黄胸鼠	02	0.5	4	2	50	50		
2	黄毛鼠	01	0.4	0.8	8	8	100	162.5	
	黄毛鼠	02	0.4	0.8	10	10	100	165.0	
	黄胸鼠	02	0.4	1.0	5	5	100	160.0	
	黄毛鼠	05	0.4	1.0	8	8	100	562.5	
	黄毛鼠	09	0.4	1.0	8	8	100	169.8	
	黄毛鼠	10	0.4	1.0	8	8	100	206.3	
	黄毛鼠	20	0.4	1.0	8	8	100	137.5	
3	黄毛鼠	03	0.4	1.0	1.0	9	9	100	105.6
	黄毛鼠	04	0.5	1.0	0.6	8	8	100	400.0
	黄毛鼠	06	0.2	1.0	0.8	8	8	100	118.8
	黄毛鼠	07	0.4	1.0	0.8	8	8	100	375.0
	黄毛鼠	08	0.4	1.0	0.8	8	8	100	537.5
	黄毛鼠	28	0.4	1.0	0.8	8	8	100	412.5
	黄毛鼠	12	0.4	1.0	0.8	7	7	100	714.2
4	黄毛鼠	13	0.4	1.0	0.8	9	9	100	888.9
	黄毛鼠	02	0.4	$1.0 \times 10^8$	0.8	7	7	100	1257.1
	EV	EV	$2 \times 10^8$	$15 \times 10^8$	$15 \times 10^8$	7	7	100*	698.6*
合 计				137	134	97.8			

• FI抗体阳性率和滴度

(97.8%)。此钩体14型黄毛鼠和两型黄胸鼠阳性血清，同时分别用鼠疫新鲜血球血凝液试管法PHA和RIA进行交叉试验，结果除混合感染(02+EV)对照组外，其它各型血清无论PHA和RIP全部阴性(PHA1:10, RIP比值<3)。没有出现一份非特异性交叉凝集。

从以上钩体13群14型感染黄毛鼠和钩体两型感染黄胸鼠134份阳性血清以及钩体13群15型家兔血清与鼠疫血凝液PHA交叉试验结果，充分证明鼠疫PHA与钩体各型无交叉凝集。

### 讨 论

关于鼠疫PHA的特异性，国内外已有不少报道[2~10]。选用的菌免疫血清包括假结核、土拉、布病、鼠伤寒、动物败血症、李斯特菌、类丹毒、霍乱、伤寒和副伤寒(甲、乙、丙等)，

菌痢(志贺氏和福氏菌)、大肠埃希氏菌、变形菌、恙虫病立克次体及钩体的少机型等，除与假性结核血清有时出现低倍(1:5)凝集外，没发现与其它菌血清有非特异性凝集。与出血热和炭疽有无交叉凝集至今没见报道。

近年，曾标成等[11]报道了小肠结肠炎耶尔氏菌(31株)、中间型耶尔氏菌(*Y.intermedia*和*Y.frederkenii*)各1株、假性结核(7株)和革兰氏阴性小杆菌(4株)共44株，感染黄毛鼠220只的血清，结果均阴性。该试验从耶尔氏菌属的广度和深度对PHA的特异性提供了数据。

本试验又对钩体全部群型血清、出血热和炭疽血清进行了试验，结果也都阴性。本试验结果对雷州半岛PHA阳性排除上述三种病，特

别是对钩体的怀疑，提供了反证。

我国自1965年用PHA开展鼠疫监测以来，在疫区动物血清先检出阳性，随后已有检出鼠疫菌的实例<sup>[9]</sup>，如云南剑川、内蒙锡盟、青海、新疆等。从大量资料已证明，鼠疫PHA正如1970年WHO鼠疫专家委员会<sup>[12]</sup>推荐此试验方法时所说：该试验特异性、敏感性高，结果可信，方法简便、易于推广……。

用我国钩体13群14型全部菌株感染疫区鼠（黄毛鼠、黄胸鼠），在国内外尚无报道。经2~3次皮下感染可100%产生抗体，其抗体滴度因型别有所不同。

本次试验选用鼠疫FI抗原四种血凝液（兰州、吉林、湛江和新鲜血球）进行试验，结果制备的醛化血凝液与绵羊新鲜血球血凝液相同，都对假性结核菌血清无交叉凝集，说明选用的血凝液特异性好，合乎检定要求。

**The Specificity of Plague Antigen FI in PHA** Zhang Hongyi, et al., Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine Beijing, etc.

It were inoculated a total of the 15 type and 13 group Leptospira strains to the Rattus flavigaster and Rattus norvegicus in Lei Zhou peninsula. As the antisera acquired, it has been examined the lyso-agglutinative test in Leptospira strains. Up to standard serum it was to test for PHA of plague, employing the sensitized blood cell by FI from 4 antiplague institute. the all of test are negative.

In addition to test for 3 immunosera: Hemorrhagic Fever antisera (Immunized animals Apodemus agrarius, Rattus norvegicus, Mouse and Rabbit), anthrax antiaerum, there were be negative by PHA of plague test, at same time by RIA test also be negative. Therefore a all of the other antisera would not be interfering with specificity of the plague FI antiserum in PHA or RIA test.

**Key words** Hemagglutination test FI antigen of plague

### 参 考 文 献

1. 广东湛江地区鼠疫疫源调查队。被动血凝试验在鼠疫疫源调查中的应用。
2. 张洪翊, 等. 鼠疫血清学诊断的研究Ⅱ. 血凝试验的敏感性及其特异性观察. 流行病学杂志 1965; 3 (4) : 230.
3. Chen TH, et al. Studies on immunization against plague. VII. A hemagglutination test with protein fraction of *P. pestis*: A serological comparison of virulent and avirulent strains with observation on the structure of the bacterial cells and its relationship to infection and immunity. Immunol, 1954; 72 (4) : 282.
4. Landy M, et al. A hemagglutination test for plague antibody with purified capsular antigen of *P. pestis*. J. Hygiene 1954; 59 (2) : 150.
5. Леви МИ, и др. Изучение специфичности реакции пассивной гемагглютинации при чуме. Лабор. Дело. 1961; 9 : 44.
6. Вейнблат BN, и др. К вопросу о специфичности реакций пассивной гемагглютинации и нейтрализаций антител при чуме. Лабор. Деле. 1965 9 : 548.
7. Davies DHS, et al. Serological survey of plague in rodents and other small mammals in Kenya. Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1968; 62 (6) : 838.
8. Marshall JD, et al. Comparison of reliability and sensitivity of three serological procedures in detecting antibody to *Yersinia pestis*. Appl. Microbiol. 1977; 24 (2) : 202.
9. 张洪翊, 等. 鼠疫血清学诊断的研究Ⅳ. 甲醛处理红血球用于血凝试验的特异性及其在黄鼠自然疫源地调查中的应用. 流行病防治研究 1973; 2 : 98.
10. 云南省流研所. 鼠疫血清学诊断的实验研究Ⅰ. 鼠疫被动血球凝集试验及血球凝集抑制试验的敏感性及特异性的观察. 云南省流研所资料汇编. 1973 : 136.
11. 曾标成, 等. 鼠疫被动血球凝集试验的特异性探讨. 中华流行病学杂志 1989; 10 (特刊5号) : 186.
12. WHO. Tech Rep Series. 1970 : 447.

(1990年5月31日收稿, 1990年6月15日修回)