

# 1966~79年从病人和带菌者分离的 脑膜炎奈瑟氏菌的血清群鉴定

卫生部药品生物制品检定所

丁绍卿 叶人邦 张焕春

脑膜炎奈瑟氏菌是引起流行性脑脊髓膜炎(下简称流脑)的病原菌。其血清学分群和分型在流脑防治中有很重大意义。根据群特异性多糖抗原,1950年国际微生物学会奈瑟氏菌属命名委员会把脑膜炎奈瑟氏菌分成A、B、C、D等4个血清群。以后又相继报告了另外的X、Y、Z和W<sub>135</sub>及29E群<sup>[1~3]</sup>。目前国外已有9个血清群。笔者等在研究我国脑膜炎奈瑟氏菌的分群中,除了A、B、C、D群国际分类外,尚发现了1889、1892、319、1916群与国外报导的Y,29E,W<sub>135</sub>和X群相同的血清群,同时还建立了迄今国外未见报告的3个新的血清群,被命名为1890群、1486群和1811群,目前我国有11个血清群<sup>[4~6]</sup>。

1966年至1979年在各单位的大力支持和协助下,对从23个省市的54个单位收集到的1,995株脑膜炎奈瑟氏菌进行了血清学分群检定,现将结果报告如下。

## 材料和方法

**菌种:**从山东、河北、河南、江苏、湖南、湖北、浙江、广东、广西、福建、四川、云南、贵州、山西、陕西、江西、安徽、北京、天津、辽宁、吉林、黑龙江、新疆等省市的卫生防疫站及医疗科研单位收集的菌种1,995株,其中从流脑患者的脑脊液及血液分离的菌种778株。从健康带菌者鼻咽部分离的菌种1,217株。另外参考标准菌种26株(中国标准菌株A、B、C,1889、1890、1892、319、1916、1486、1811群;法国热带医学研究所——世界卫生组织脑膜炎球菌中心赠送的A、B、C、D、X、Y、Z、29E、W<sub>135</sub>群和英国的A、B、C、D群及美国的A、B、C群菌种)。共计2,018

株菌种。

菌种经冷冻真空干燥保存,再进行鉴定(有部分菌种未冻干直接鉴定),先在羊血巧克力色琼脂培养基上37°C CO<sub>2</sub>环境培育18~20小时,生长及菌落特性典型,革兰氏染色为阴性双球菌,分解葡萄糖,麦芽糖产酸不产气(个别菌株只分解葡萄糖或麦芽糖)。不分解蔗糖、乳糖、甘露醇和果糖。

**抗血清:**本实验室制备的A、B、C、D、1889、1890、1892、319、1916、1486和1811群抗血清。采用福尔马林杀死的菌液通过家兔耳静脉免疫6~8次,每次间隔2~3天。免疫剂量第一周10亿,10亿,第二周20亿,30亿,第三周40亿,50亿,第四周75亿,100亿(B群用福尔马林杀死的菌液立即免疫,只免疫6次)。末次免疫后7~10天试血,定量效价达到要求时全采血,分离血清。经凝集吸收试验除去非特异凝集素,即成特异的分群诊断血清。另取法国热带医学研究所赠送的A、B、C、D、X、Y、Z、29E、W<sub>135</sub>群分群诊断血清作为参考对照。

**血清学试验:**用于玻片凝集试验的抗原系将菌种接种在羊血巧克力色琼脂培养基上,于37°C CO<sub>2</sub>环境培育18~20小时的活菌与分群诊断血清作定性凝集反应。用于试管定量凝集试验的抗原是上述菌苔刮入含0.5%福尔马林盐水中制成10亿/毫升菌悬液,按本试验常规方法进行试管定量凝集试验<sup>[4]</sup>。

## 结 果

一、我国标准菌株与世界卫生组织中心标准菌株的比较:从我国收集的生物学及生理生化特性典型的脑膜炎奈瑟氏菌株中,经过抗原

表1 中国、法国标准菌株及标准血清的相互交叉凝集反应对比实验结果

抗血清 血清群	A						B						C						D	
	29018*	29019*	29010*	29003*	29060*	29062*	29021*	29022*	29011*	29004*	29062*	29025*	29026*	29012*	29005*	29063*	29006*	29013*		
	(C)	(C)	(F)	(E)	(A)	(A)	(C)	(C)	(F)	(E)	(A)	(C)	(C)	(F)	(E)	(A)	(E)	(F)		
A (C)	#	#	#	#	#	#	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
B (F)	#	#	-	ND	ND	ND	-	-	#	ND	ND	-	-	-	ND	ND	-	-		
C (C)	#	#	-	ND	ND	ND	-	-	#	ND	ND	-	-	-	ND	ND	-	-		
C (F)	#	#	-	ND	ND	ND	-	-	#	ND	ND	-	-	-	ND	ND	-	-		
D (C)	#	#	-	ND	ND	ND	-	-	#	ND	ND	-	-	-	ND	ND	-	-		
D (F)	#	#	-	ND	ND	ND	-	-	#	ND	ND	-	-	-	ND	ND	-	-		

注: (1): (C): 中国 (E): 英国 (F): 法国 (A): 美国  
 (2): #, #, +: 玻片凝集试验阳性 - : 玻片凝集试验阴性 ND: 未作  
 (3): \*: 菌种编号

分析建立了我国的A、B、C、1889、1890、1892、319、1916、1486和1811群标准菌株。为了使这些菌株标准化,与世界卫生组织脑膜炎球菌中心的标准菌株进行了对比试验。A、B、C、D群分群诊断血清与A、B、C、D群菌种的玻片凝集试验结果见表1。

表1结果表明,中国和法国制造的A、B、C群标准分群诊断血清同中国、法国、英国、美国相应的A、B、C群菌种都能发生特异性强凝集反应,而不出现非特异性交叉反应。证明了我国的标准株A、B、C群菌种与法国、英国及美国的标准是完全相同的。

中国和法国制造的A、B、C、D群标准分群诊断血清都与1889、1890、1892、319、1916、1486、1811和X、Y、Z、29E及W<sub>135</sub>群等新血清群菌种无类属交叉反应。证明A、B、C、D群与新血清群之间的抗原是完全不相同的。

新血清群的抗原关系及中国与法国新血清群的抗原关系见表2。

表2结果表明,中国和法国制造的1889、1892、319、1916群及Y、29E、W<sub>135</sub>、X群分群诊断血清与两国分离的菌种进行了交叉凝集试验,证明1889群和Y群,1892群与29E群,319群与W<sub>135</sub>群,1916群与X群相同。中国的1890、1486和1811群及法国Z群菌株则是各不相同的血清群。

二、1,995株菌的血清群分析:1966年至1979年从23个省市收集的1,995株菌种进了全面生物学、生理生化及血清学鉴定,证明1,992株是脑膜炎奈瑟氏菌。这些脑膜炎奈瑟氏菌的菌落,菌形,生长特性及生理生化特性都是典型的,极少数菌株只分解葡萄糖或只分解麦芽糖。另外3株是黄色奈瑟氏菌。1,992株脑膜炎奈瑟氏菌的血清学分群见表3。

从表3结果可以看出1,992株脑膜炎奈

表 2 中国、法国新血清群标准菌株的玻片凝集试验结果

抗血清		菌株群别及玻片凝集反应															
		1889	Y	1916	X	1892	29E	319	W <sub>135</sub>	1890	1486	1811	Z	A	B	C	D
血清群	来源	29018	29014	29040	29015	29034	29016	29037	29057	29031	29043	29046	29017	29018	29021	29025	29006
1889	(C)	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Y	(F)	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
1916	(C)	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
X	(F)	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+ <sup>s</sup>
1892	(C)	—	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—	+ <sup>s</sup>	—	—	—	—
29E	(F)	—	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
319	(C)	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—	—	+ <sup>s</sup>	—	—	—	—
W <sub>135</sub>	(F)	—	—	—	—	—	—	卅	卅	—	—	—	—	—	—	—	—
1890	(C)	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	—	—	+ <sup>s</sup>	—	—	—	—
1486	(C)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	—	+ <sup>s</sup>	—	—	—	—
1811	(C)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—	—
Z	(F)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	卅	—	—	—	—

注：符号表示意义同表 1；+<sup>s</sup>：缓慢出现弱凝集

表 3 1992株脑膜炎奈瑟氏菌的血清群分布

菌株数	血清群分布													自凝	合计
	A	B	C	D	1889	1890	1892	319	1916	1486	1811				
868	692	84	1	36	26	100	62	39	17	10	57	1992			
(43.57)	(34.74)	(4.22)	(0.05)	(1.81)	(1.31)	(5.02)	(3.11)	(1.96)	(0.85)	(0.50)	(2.96)	(100.00)			
病人菌株数	757	15	3	0	0	1	1	1	0	0	0	778			
(百分数)	(97.30)	(1.93)	(0.39)			(0.13)	(0.13)	(0.13)				(100.00)			
带菌者菌株数	111	677	81	1	36	26	99	61	38	17	10	57	1214		
(百分数)	(9.14)	(55.77)	(6.67)	(0.08)	(2.98)	(2.14)	(8.15)	(5.02)	(3.13)	(1.40)	(0.82)	(4.70)	(100.00)		

瑟氏菌的血清群分布以A群和B群最多见，各占43.57%和34.74%，其次是C群占4.22%，7个新血清群共占14.56%。其中从流脑患者的脑脊液和血液中分离出的菌株绝大部分是A群，占从病人分离出菌株的97.30%；而从带菌者鼻咽部分离的菌株中则B群最多，占从带菌者分离出菌株的55.77%。另外自家凝集的菌株只见于从带菌者鼻咽部分离的菌株中。

1966~67年，1972~78年历年来从流脑病人脑脊液和血液中分离出的菌株778株，其中从脑脊液分离出610株，从血液分离出168株（包括1株从淤血点分离），其不同年代血清群分布见表4。

由表4证实，1966~67年在我国流脑大流行是由A群菌株引起的，占98.36%，B群3株，C群1株。1972~78年的非流行年和小流行年

表 4 778株从病人脑脊液和血液中分离出菌株的血清群分布

年代	血清群分布						
	A	B	C	1892	319	1916	合计
1966	219	3	0	0	0	0	222
1967	22	0	1	0	0	0	23
1972	43	0	0	0	0	0	43
1973	49	2	0	0	0	0	51
1974	72	4	0	0	0	0	76
1975	127	5	1	1	0	0	134
1976	148	1	0	0	0	1	150
1977	48	0	1	0	0	0	49
1978	29	0	0	0	1	0	30
共计株数	757	15	3	1	1	1	778
百分数	97.30	1.93	0.39	0.13	0.13	0.13	100.00

从病人分离的菌株与大流行时相同。

1967，1973~79年从带菌者鼻咽部分离出

1,214株脑膜炎奈瑟氏菌,其血清群分布见表5。

表 5 1214株从健康带菌者分离出菌株的血清群分布

年 代	血 清 群 分 布												
	A	B	C	D	1889	1890	1892	319	1916	1486	1811	自凝	合计
1967	8	114	5		4		2	7				1	141
1973	18	103	13		2		1					3	140
1974	30	236	18		13	9	43	19	21	7	7	24	427
1975	1	115	9		1	2	28	4	4	2		3	169
1976	14	78	10		12	6	5	5	5	3	3	14	155
1977	20	26	13		4	4	16	13	8	4		7	115
1978	0	4	2									5	14
1979	20	1	11	1		2	4	13		1			53
共计株数	111	677	81	1	36	26	99	61	38	17	10	57	1214
百分数	9.14	55.77	6.67	0.08	2.98	2.14	8.15	5.02	3.13	1.40	0.82	4.70	100.00

表5结果证明,无论在1967年全国流脑大面积流行时,或1973年以后逐年的非流行和小流行年内从带菌者鼻咽部分离出的菌株以B群最常见, A, C群和新血清群则少见。另外尚有一些自家凝集不能分群的菌株。

### 讨 论

脑膜炎奈瑟氏菌的血清学分群研究对于流脑的防治有重要意义,近年来的研究收到了良好的成绩。我国已建立了自己全套分群标准菌株,已完成了血清学分群的研究,使我国对无论是从流脑患者或是从健康带菌者分离出的脑膜炎奈瑟氏菌都是能够分群,分群率达到100%

[6]。而国外的报告,包括世界卫生组织脑膜炎球菌中心的分群只有85~90% [7~10]。

自从1950年国际微生物学会奈瑟氏菌属命名委员会把脑膜炎奈瑟氏菌命名为A、B、C、D群等四个血清群以后,新血清群的命名尚待统一。1968年Hollis等[12]建议把Slatarus的X、Y、Z群称为E、F、G群,虽已在Bergeys细菌学手册第八版中引用[13],但至今仍未被广泛采纳。故我国采用的是自己的分类法,为了将来能够统一命名,我们建议把我国首次发现的1890、1486和1811群菌株命名为H、I和K群[14]。把历年来对脑膜炎奈瑟氏菌分群关系列表(表6)[6]。

表 6 脑膜炎奈瑟氏菌分群关系表

报告人	Dopter	Gordon	Branham	国际	Slaterus	Evans	Hollis	丁绍卿	丁绍卿
年代	1909	1915	1940	1950	1961	1968	1968	1975	1980
脑膜炎球菌		I、III型	I群	A群	A群	A群	A群	A群	A群
副脑*α, β型		II型	II群	B群	B群	B群	B群	B群	B群
副脑β型			IIa群	C群	C群	C群	C群	C群	C群
副脑γ型		IV型	IV群	D群	D群	D群	D群	D群	D群
					X群	X群	E群	1916群	1916群
					Y群	B.群	F群	1889群	1889群
					Z群	Z群	G群		
						29E群		1892群	1892群
						W <sub>135</sub> 群		319群	319群
								1890群	H群
								1486群	I群
								1811群	K群

\*: 副脑膜炎球菌α、β、γ型

引起流行性脑脊髓膜炎流行的菌群在不同的国家是有差别的,在美国、英国、法国及一些欧洲国家近年来常常是B群和C群菌株引起流行,而中东、非洲、亚洲一些国家和苏联则是A群菌株引起流行<sup>[15~18]</sup>。我国十几年来是A群菌株引起流行,B群和C群只有少数病例。近年来还发现了319群、1916群和1890群引起的病例<sup>[5,19]</sup>,但未发现流行菌群的变迁。在我国从健康带菌者鼻咽部分离出的菌株中十几年来都是以B群占优势。只是在由A群菌引起流行的局部地区流行高峰时,A群菌才明显增高。究竟B群的带菌与流行有何关系,在我国是否会发生流行菌群的变迁等问题值得研究。

### 参 考 文 献

1. Branham SE et al: Inter Bull Bact Nomencl Taxon 8: 1, 1958.

2. Slaterus KW: J Microbiol Serol, 27: 305, 1961.
3. Evans JR et al: Amer J Epidemiol, 87: 643, 1968.
4. 丁绍卿等: 微生物学报, 15: 341, 1975.
5. 丁绍卿等: 微生物学报, 18: 336, 1978.
6. 丁绍卿等: 微生物学报, 7: 229, 1980.
7. Graven DE et al: J Clin Microbiol, 7: 410, 1978.
8. Fraser PK et al: Lancet, 1: 1235, 1973.
9. Jacoson JA et al: J Infect Dis, 132: 480, 1975.
10. Eldridge J. et al: Med Lab sci, 35: 63, 1978.
11. Institut de Medecine Tropicale: Rapport D'activiet pour L' annee, 1979.
12. Hollis CG et al: J Bacteriol, 95: 1, 1968.
13. Buchanan RE et al: Bergey' Manual of Determinative Bacteriology, pp 427-432, The Williams Wilkins Co, Baltimore 1974.
14. Ding Shao qing et al: J Biol Stand, In press.
15. Artenstein MS et al: Bull WHO, 45: 275, 1971.
16. Njoku-Obi AN: J Hyg Epidemiol Immunol, 21: 122, 1977.
17. Лещинская ЕВ: ЖМЭИ, 7: 37, 1973.
18. Whittle HC et al: J Clin pathol, 30: 720, 1977.
19. 丁绍卿等: 中华内科杂志, 18: 135, 1980.

## 间接血凝试验在斑疹伤寒血清学调查中的应用

四川古蔺县防疫站 罗信义

为了探讨间接血凝试验用于考核斑疹伤寒菌苗接种后的血清学效果,于1980年2~4月进行了本试验。

试验对象为本县16~17岁高中学生共107人。均经三次全程足量注射成都生物制品所生产的灭活斑疹伤寒菌苗。取全部对象的注射前、后双份血清,分别采用间接血凝和补体结合试验进行效价测定,结果如下:

1. 用间接血凝试验检查107份注射前后双份血清证明,注射前后检出阳性率分别为9.3%和40.2%,几何平均滴度分别为28.64和43.92,差别均显著( $P < 0.01$ );

2. 随机抽取46份上述双份血清,同时采用间接血

凝和补体结合试验进行检查证明,前法检出免疫前后的阳性率分别为13.0%和39.1%,几何平均滴度分别为38.87及47.84,差别均显著(前法 $P < 0.01$ ,后法 $P < 0.05$ );后法检出免疫前后的阳性率分别为50%及97.8%,几何平均滴度分别为5.3及37.1,差别亦均显著( $P < 0.01$ )。

本文在讨论中提到,作为一种尝试,把间接血凝试验用于斑疹伤寒预防接种后血清学效果调查获得了初步成功,但从测得的抗体水平和检出阳性率来看,均明显低于补体结合试验,因此认为间接血凝试验用于斑疹伤寒预防接种后血清学效果的调查尚不够理想。