

滇西、南水和土中致病性钩端螺旋体分布调查

杨文映¹ 庞敬文¹ 李翠芝¹ 杨向东¹ 陈明华¹ 杜春红¹ 李军安² 陈伟中³

摘要 水体和土壤保存致病性钩端螺旋体(简称钩体)是钩体病地理流行病学观察研究的重要问题之一。1988~1992年笔者在滇西、滇南的5个县市进行了调查。采用过滤培养分离法,结果在雨季取样的孟连、华坪县得到的全是水生性钩体,干季取样的耿马、保山及盈江3个县市中的耿马县及保山市的水、土中共分离得致病性钩体8株,两地平均检出率为3.31%(8/242),其中水2.14%(3/140)、土4.9%(5/102)。分属6个血清群:黄疸出血、致热群各2株,犬、流感伤寒、赛罗及澳洲群各1株,与当地人和动物感染的菌群相一致,为阐述钩体病疫源地结构等提供了新资料。

关键词 水体 土壤 致病性钩端螺旋体

为探明我省钩体病流行区田野自然疫源地水体和土壤中致病性钩体菌群分布状况,笔者于1988~1992年先后在思茅地区的孟连县、丽江地区的华坪县、临沧地区的耿马县、保山地区的保山市及德宏州的盈江县进行调查。从水体特别是土壤中分离致病性钩体的报道在国内刊物上很少见,云南尚属首次,特报道如下。

材料和方法

一、取样地点和指标:从5个县市坝区田野取不同环境中的水、土样本,每县市水、土样各80份以上。

二、取样工具:5ml注射器、7号针头、塑料滤菌器、微孔滤膜($\phi 25\text{mm}$ 、孔径 $0.2\mu\text{m}$),北京化工学校附属工厂产品。高压灭菌备用。

三、培养基:柯索夫培养基加 $300\mu\text{g/ml}$ 氟脲嘧啶,每支试管装培养液5ml。

四、取样时间和方法:为避免太阳光直射,在上午11点前取样。一份样本一套工具。取水用未装针头的注射器吸4ml,然后安装滤器及针头,轻压排去0.5ml左右,立即在现场接种。每1份样品接种2支试管,每管接种0.3~0.5ml;土样用铁片取地表面1~2cm中的潮湿土壤15g左右于干燥试管内,1次取20份带回实验室后,尽快用灭菌生理盐水稀释,搅拌均匀

后加水至管口,使渣子浮溢出管外,静置30~60分钟,用注射器吸上清4ml左右,通过滤菌器接种培养。

五、肉眼观察和镜检:接种培养3天后肉眼观察,取出污染明显的试管;1周后镜检,连续观察6周左右,无钩体生长者作为阴性处理,有钩体生长者传代鉴定。

六、菌株血清群鉴定:用卫生部上海生物制品研究所或我所制备的14群15个代表型参考标准诊断血清,与分离钩体菌株作显凝试验(MAT),不发生凝溶现象者视为水生株;致病性钩体在调查点作初定后带回专业实验室复定。

结 果

一、取样季节和地点:1988至1989年在华坪、孟连县于7~9月份即雨季取样,但是得到的全是水生性钩体;在华坪县还采用豚鼠浸泡法均阴性。1990~1992年取样季节改为干季即11至12月份,结果在3个县市中的耿马及保山市的水、土中均分离得致病性钩体菌株;盈江坝可能与田野沙量大泥土成分少等因素有关,

1 云南省流行病防治研究所 671000 大理市

2 耿马县孟定镇卫生监测站

3 保山市鼠疫防治站

不仅未分离到致病性钩体，连水生株的检出率也很低。5年来在5个县市共采水、土样品903份，有效数为754份，分离出钩体262株，其中水生性（腐生）254株，检出率为33.68%；致病性8株，检出率为1.06%。

二、水样检查：pH6.0~6.8(精密试纸)。有效培养数481份，分离得钩体178株，检出率

为37.01%。致病株和水生株分述于下。

1.致病性钩体：在耿马县孟定坝和保山坝的水样中检出率分别为2.47%(2/81)和1.69%(1/59)，合计为2.14%(3/140)。3株钩体分别从流动沟水、塘水及菜园地积水中各检出1株，钩体血清群分布如附表。

2.水生性钩体：孟连、华坪、耿马、盈江

附表 水、土中致病性钩体血清群分布

地名	样本	检查数	阳性数	阳性率 (%)	血清群					
					黄疸出血	犬群	致热	流感伤寒	赛罗	澳洲
孟定坝	疫水	81	2	2.47	1			1		
	土壤	64	2	3.13			1		1	
保山坝	疫水	59	1	1.69						1
	土壤	38	3	7.89	1	1	1			
合计		242	8	3.31	2	1	2	1	1	1

县及保山市的检出率分别为43.7%(80/183)、41.9%(36/86)、33.3%(27/81)、18.1%(13/72)及32.2%(19/59)，平均为36.4%(175/481)。在5种水体中以稻田水的检出率较高，达42.5%(54/127)。

三、土样检查：取土375份，有效数为273份，分离出钩体84株，检出率为30.77%。致病株和水生株分述于下。

1.致病性钩体：亦在耿马县孟定坝及保山坝土壤中检出，检出率前者为3.13%(2/64)，后者为7.89%(3/38)，平均为4.90%(5/102)。5株菌来自于沟边潮土3株、红薯地潮土1株、水塘边湿土1株。取样时间最早1株是11月6日，最后1株为12月3日。取样时一般选择阴面。钩体血清群分布如附表。

2.水生性钩体：取土样的孟连、耿马、盈江县及保山市的检出率分别为62.37%(58/93)、9.38%(6/64)、2.56%(2/78)、34.21%(13/38)，平均为28.94%(79/273)。在6种土壤中园地土的检出率较高，达40.43%(19/47)。

8株致病性钩体在作显凝试验定群时有3株呈交叉凝集现象：从孟定水中分离的黄疸出血群1株，初定时与巴达维亚，数月后复定时则与爪哇交凝，流感伤寒群1株与致热交凝；保山土中致热1株与黄疸出血、秋季群交凝，与当地同期鼠类中分离的菌株交凝现象相似。另外，在MAT中发觉有3株致病性钩体与水生株混生，由于水生株生长旺盛，致病株消失。

讨 论

一、自然界水土保菌问题：水体和土壤长期保有致病性钩体问题的研究报道资料尚少。广泛深入研究才能有较为全面的认识。此调查资料可以说明一定问题：11、12月份平均气温12~15℃，从潮湿土壤中仍分离出钩体，表明雨季过去钩体并未随之消亡，而是隐藏在酸碱度及养分适宜的水中及湿度合适的土壤中，来年温度等条件有利时大量繁殖感染动物和人。钩体在69%~70%湿度土壤中能存活一冬，最长达279天不丧失致病性^[1]，在水中可存活并保持毒力时间长达1318天^[2]。云南亚热带地区气

温最低的1月份,日均温仍 $\geq 10^{\circ}\text{C}$,钩体得以维持生存繁殖,随着气温上升,雨水下地钩体繁殖加快,土壤中的钩体进入水体。其次是在云南的动物中很少分离到的澳洲群等钩体菌株则在水中有所分离等,说明水土保菌的流行病学意义。

二、土壤分离钩体的技术问题:关于钩端螺旋体吸附在泥土颗粒上以及等分取样方法,给定量检测造成了一些问题^[2]。笔者在实践中,试用生理盐水稀释土样,进行充分搅拌,使钩体脱离泥土颗粒,取上清接种培养基获得成功,致病株检出率虽然偏低,但已接近鼠肾培养。

三、水体中钩体菌株检出率问题:有著作称:疫水中钩端螺旋体的检出高者可达45%^[3]。此次采用过滤水样接种培养结果,水生株和致病株合计为37.01% (178/481),接近上述比例,若单以致病性钩体而言仅在3%以下,与45%相差太大。若是采用镜检阳性水样作培养,检出率肯定会提高,问题是镜检不能从形态上区分致病性与非致病性钩体。事实上任何一种水样中水生株的检出率大大高于致病株。

An Investigation on the Distribution of leptospirae Interrogans in Water and Soil in Southwest of Yunnan Province Yang Wenying, Pang Jingwen, Li Cuizhi, et al. Yunnan provincial institute of epidemic disease control and research, Dali 671000

The conservation of pathogenic leptospirae in water and soil is one of the important problems of geography-epidemiological survey of

leptospirosis. We have conducted this investigation by using of filtration-culture isolation method in five counties in the west and southwest of Yunnan during 1988~1992. The results showed that the isolates from samples of water and soil collected between July and September in Menglian and Huaping county were leptospirae biflexa while in the samples of water and soil collected between November and December in three counties, 8 strains of *L. interrogans* were isolated from the samples of Gengma and Baoshan county. The total positive rate was 3.31% (8/242). The positive rate of water and soil was 2.14% (3/140) and 4.9% (5/102) respectively. Strains obtained in this investigation belong to six serogroups: Icterohaemorrhagiae and Pyrogenes in 2 respectively, Canicola, Grippityphosa, Sejroe and Australis in 1 respectively. These serogroups of leptospirae obtained from water and soil were corresponded with the serogroups obtained from the patients and animals with leptospirosis in local area. This survey provided new data for expounding the structure of the focus of leptospirosis.

Key words Water Soil Pathogenic leptospirae

参 考 文 献

- 1 于恩庶,等主编.钩端螺旋体病学.第2版.人民卫生出版社,1992.116.
- 2 [美] WT休伯特,等主编.魏曦,等主译.人兽共患病学.第1版.上海科学技术出版社,1985.288.
- 3 于恩庶,等主编.中国人兽共患病学.第1版.福建科学技术出版社,1988.347.

(收稿:1993-09-14 修回:1994-02-25)