

# 我国流脑周期性流行特征的研究\*

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所

胡绪敬 李新武 计银铎 奚文龙 高立慧 徐 丽

**提要** 本文报道了, 通过应用多位点酶电泳分型后的聚类分析与染色体DNA酶切谱分型以及1类外膜蛋白的(OMP)分亚型等技术, 对本国17省市于本世纪60年代至80年代从流脑病人与带菌者中所分离的200株A群脑膜炎奈瑟氏菌(Nm)进行了菌型检定并结合本国近40年来流脑的发病率资料进行了综合分析。研究结果证明了本国流脑确实具有周期性流行的特征, 不同的周期流行是由A群Nm不同优势菌型周期变换引起的, 每次周期流行基本上是从本国北方向南方扩散。不过, 此病在我国周期性流行的模式不大固定。该项研究为今后应用分子生物学方法揭示流脑的流行机制奠定了初步基础。

**关键词** 流脑 周期性流行特征 A群Nm优势菌型

关于流脑周期性流行, WHO曾组织专家从事专门研究, 至今尚未搞清楚<sup>[1]</sup>。过去, 有些国家仅从流脑发病曲线呈周期性改变, 则认为流脑流行具有周期性。如非洲流脑流行带的一些国家中, 每隔5~10年出现一次流行高峰, 在尼泊尔流行间隔时间是10~12年。然而在一些发达国家中此病流行周期较长, 有的国家在近几十年来甚至未出现明显的周期性流行高峰<sup>[1]</sup>。80年代以前我国流脑发病率曲线图也显示了周期性流行的特征<sup>[1,2]</sup>。由于过去对流脑周期性流行特征的研究尚不够充分, 所以现在继续探讨此问题仍具有重要意义。它不仅有助于我国深入研究流脑扩散的规律及其流行机制, 还有利于提高流脑流行病学监测与预测及防制的水平。为此, 我们除了对我国近40年来的疫情资料进行更细致的分析外, 同时还采用分子生物学方法对A群Nm进行了菌型检定, 进一步探讨了我国流脑周期性流行的特征, 提高了我国流脑流行病学研究的水平, 获得了一些更有意义的科学资料。

## 材料与方 法

### 一、材料:

1. 1950~1989年全国各省的流脑发病率

资料。

2. 17个省市于本世纪60年代至80年代所收集的A群Nm200株(其中病人169株, 余为带菌者菌株)。

3. 11种抗Nm1类OMP的单克隆抗体, 系荷兰 Dr.Poolman, JT所赠。

4. 7种同功酶: 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-P), 苹果酸酶(ME), 谷氨酰胺脱氢酶(GD<sub>1</sub>), 乙醇脱氢酶(ADH), 异柠檬酸脱氢酶(IDH), 延胡索酸酶(FUM)和碱性磷酸酶(ALP)的特异染色底物。

5. 限制性内切酶EcoRI。

### 二、方法:

1. 以全细胞ELISA法对上述A群Nm分型<sup>[3]</sup>。

2. 采用聚丙烯酰胺凝胶和垂直板电泳对上述Nm进行多位点酶电泳分型, 然后再应用平均连接法对其电泳型进行聚类分析<sup>[4,5]</sup>。

3. EcoRI所消化的Nm染色体DNA在0.7%琼脂糖中电泳, 再在强紫外光下照相<sup>[6,7]</sup>。

## 结 果

一、40年来我国流脑发病曲线出现周期性

\*卫生部1988年招标项目

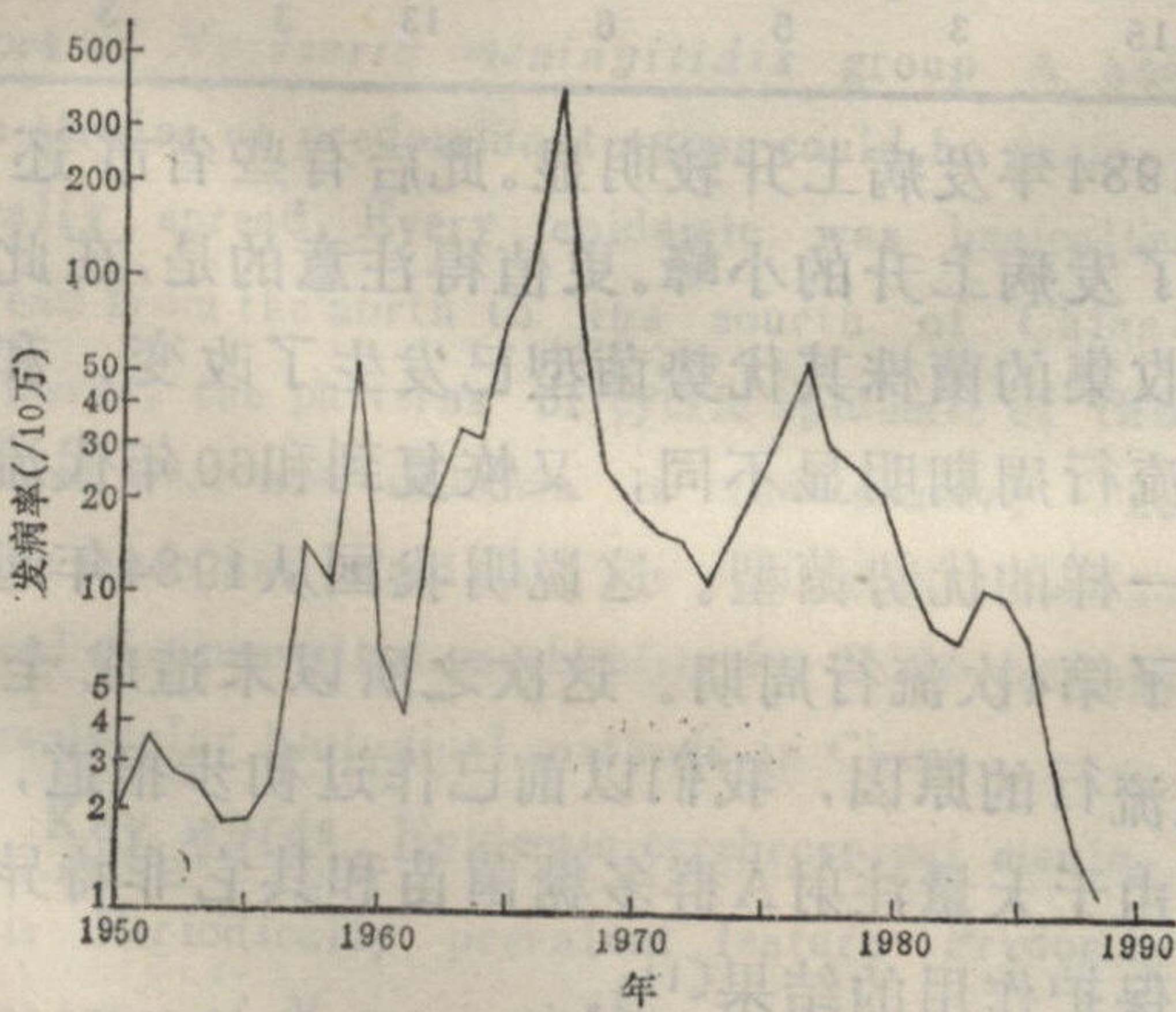
上升；将我国1950年至今的流脑发病曲线绘成附图。由此图可见，从1950~1983年，我国曾发生三次周期性大流行：第一次是1954~1961年；第二次是1962~1973年；第三次是1974~1983年。每次流行皆经历了1个上升期（4~6年），高峰期（2年）和下降期（2~6年）。这三次流行的周期相应地为8、12和10年。流行高峰分别为1959、1967和1977年，它们的间隔是8和10年。按照上述规律，80年代我国将会出现新的流行周期。事实上，20个省市在1984年发病上升，全国发病率较1983年同期上升约50%。由于1985年以后全国发病率连年下降，只是一些省市发生小范围流行，引起小的上升波，所以全国周期性发病高峰的特征不如过去明显。

至1959年；第2次流行时首先于1965年形成发病高峰的省（自治区）包括：河北、江苏等，其它省、区发病高峰延迟到1967年；第3次流行时首先于1975年出现高峰的省（自治区）包括：黑龙江、吉林、辽宁、河北等，其它省、区发病高峰延至1979年以后；1984年以前出现发病高峰的省（自治区）包括：黑龙江、吉林、辽宁、河北、山东、河南、甘肃、新疆等，其它省（区）在1986年以后才出现发病高峰。

三、A群Nm不同优势亚型轮换出现：我国流脑流行一直是以A群Nm为主要病原菌。我们从发病较多的17个省市中收集了近30年来所分离的193株A群Nm菌株，其中病人菌株166株，余为带菌者菌株。应用前述方法对它们进行了亚型检定。在上述菌株中156株可以分成10个亚型和复合亚型，总分型率为80.8%，其中以P1.9亚型和P1.7, 10复合亚型为优势。P1.7, P1.10, P1.1, P1.2, P1.12, P1.14, P1.15, P1.16亚型少见。上述优势亚型在不同流行周期中是轮换出现。由表1可见，虽然在第2次流行周期中（本文缺第一次流行的菌株）只收集到11株，但它们均为P1.9亚型。在第3次流行周期中以P1.7, 10复合亚型为优势，占此期可分型菌株的74.3%。到1983年以后，P1.9亚型又重新成为此时期的优势亚型，占85.9%。

表1 在不同流行周期中156株A群Nm的优势亚型

流行周期	可分型菌株	亚型(%)		
		P1.7, 10	P1.9	其它
第二次	11		11(100)	
第三次	74	55(74.3)	5(6.7)	14(18.9)
1983~1989	71	2(2.8)	61(85.9)	8(11.3)



附图 我国1950~1989年流脑的发病率

二、流脑每次流行基本上是从北方向南方扩散：上述流行周期是按全国总的发病率划分的。因我国幅员辽阔，少数省市的流行比全国情况可能会早或晚1~2年。当分析各省形成发病高峰的时间时则发现，我国流脑每次流行高峰形成基本上是从我国北方开始向南方扩散。

如第1次流行时，首先于1957年形成发病高峰的省（自治区）包括：新疆、甘肃、青海、陕西、山西、河南等，其它省、区发病高峰延

四、A群Nm不同优势克隆群周期性变换：我们采用多位点酶电泳技术可将所收集的200株菌株分为23个电泳型，再聚类分析为7个克隆群（I~VII），以克隆群IV和V为优势。每次主要由一个优势克隆群菌株引起流行。优势克隆群在不同流行周期中轮换出现。如表2所示，在第2次流行周期中以克隆群IV为优势，

表2 在不同流行周期中200株A群Nm优势克隆群

克隆群	流行周期		
	第2次	第3次	1982~1988年
Ⅳ	12 (85.7)	6 (6.3)	75 (82.4)
Ⅴ	2 (14.3)	84 (88.4)	16 (17.6)
其它		5 (5.3)	
总计(%)	14 (100)	95 (100)	91 (100)

到第3次周期时,则以克隆群Ⅴ为优势,可是从1982年以后又重新以克隆群Ⅳ为主。

五、不同流行周期A群Nm染色体DNA的

表3 不同流行周期A群Nm的DNA酶切谱型

流行周期	所试菌株	DFT										
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	其它
第2次	12		7				2				2	1
第3次	84	21	12	26	7	15	1				1	1
1983~1989年	49	2	22					5	6	13		1
总计	145	23	41	26	7	15	3	5	6	13	3	3

讨 论

我们采用多位点酶和DNA酶切等技术对A群Nm菌株进行了分型。因为这种分型与菌株的遗传结构有关,所得到的细菌菌型比表型分型的分型率高且稳定,重复性好。因此,它是研究流脑流行病学特征及其流行机制有效的技术。Achtman和Moore等(1989)对A群Nm进行克隆群结构分析时以及Achtman与Wedge(1990)对该群Nm进行亚型检定时均揭示了该群菌株在国际间传播的一些规律<sup>[8~10]</sup>,但我们所获得的A群Nm克隆群分型与DNA酶切谱型以及A群Nm亚型检定的结果均证明了本国流脑不同周期的流行是由A群Nm不同优势菌型菌株周期变换所引起的。这些结果进一步证明了我国流脑发病率曲线以及此病在我国沿着一定的方向传播所显示的周期性流行的特征。虽然80年代流行高峰不如以往显著,但20个省市

酶切谱型:根据145株A群Nm染色体DNA带谱不同可以将它们分成10种以上的DNA指纹谱型(DFT)。从表3可见,在第2次流行时以DFT-Ⅱ型为主,第3次流行时,以DFT-Ⅲ和DFT-Ⅰ型为主,其次是DFT-Ⅴ与DFT-Ⅱ型。1984年以后又恢复到DFT-Ⅱ型为主,其次是DFT-Ⅸ型。因此,在不同流行周期中,A群Nm的DNA酶切谱型不相同,但其DFT在一定程度上也显示了各周期中优势菌型轮换流行的特点。

于1984年发病上升较明显。此后有些省市还出现了发病上升的小峰。更值得注意的是,在此时期收集的菌株其优势菌型已发生了改变,和上次流行周期明显不同,又恢复到和60年代流行时一样的优势菌型。这说明我国从1984年起开始了第4次流行周期。这次之所以未造成全国性流行的原因,我们以前已作过初步报道,它是由于大量注射A群多糖菌苗和其它非特异因素保护作用的结果<sup>[11]</sup>。

我们所获得的结果清楚地证明了我国流脑确实具有周期性流行的特征。不过其周期性流行的模式不大固定。因各个周期的长短,流行的强度,高峰年的间隔时间以及引起流行的A群Nm优势菌型等皆不完全一致。这些情况也反映了流脑周期性流行的复杂性。我们目前所获得的结果,为我国今后开展流脑分子流行病学的研究,从而进一步揭示此病的流行机制奠定了一些基础。

### Study on Periodically Prevalent Feature for Epidemic cerebrospinal Meningitis in China

Hu Xujing, et al., Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing

A study on periodically prevalent feature for epidemic cerebrospinal meningitis (ECM) in China was carried out by means of cluster analysis of multilocus enzyme electrophoresis, as well as chromosomal DNA fingerprinting and subserotyping of outer membrane protein class 1 of *Neisseria meningitidis* group A. Two hundred strains tested were isolated from the patients for ECM and carriers during the 1960s to 1980s in 17 provinces and municipalities. Overall analysis on the bacterial types of the strains above mentioned and data of morbidity of this disease for recent 40 years was undertaken. The research results indicated that ECM really possessed the feature of cyclic prevalence in China, the cyclic epidemics were caused by the different predominant types of *Neisseria meningitidis* group A and the strains of predominant types could be periodically spread. Every epidemic was basically spread from the north to the south of China. However, the patterns of cyclic epidemic of this disease were not uniform in the country. The above study has established the preliminary base to reveal the prevalent mechanism for ECM by use of molecular biological methods in China.

**Key words** Epidemic cerebrospinal meningitis Periodically prevalent feature Predominant types of *N. meningitidis* group A

#### 参考文献

1. 胡绪敬. 国内外流脑流行病学监测与防制概况的比较. 中国疾病监测 1989; 4(4): 50.

2. Hu Xujing, et al. Epidemiological features of epidemic cerebrospinal meningitis in China (in the press).

3. Abdillahi H and JT Poolman. Whole-cell ELISA for typing *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies. FEMS Microbiol Letters. 1987; 48: 367.

4. Selender RK, et al. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. Appl Environ Microbiol 1986; 51: 873.

5. Chun PK and GF Sendsabaugh. Genetic relationships among *Neisseria* species assessed by comparative enzyme electrophoresis. J Gen Microbiol 1985; 131: 3105.

6. Bjorvatn B, et al. Applications of restriction endonuclease fingerprinting of chromosomal DNA of *Neisseria meningitidis*. J Clin Microbiol 1984; 19(6): 763.

7. Kristiansen BE, et al. Restriction fingerprinting and serology in a small outbreak of B15 meningococcal disease among Norwegian soldiers. Scand J Inf Dis 1985; 17(1): 19.

8. Achtman M. Global patterns of epidemic spread and antigenicity of a clone of *Neisseria meningitidis* serogroup A (in press).

9. Moore PS, et al. Intercontinental spread of an epidemic group A *Neisseria meningitidis* strains. Lancet 1989; Vol II (8657): 260.

10. Wedege E, et al. Serotyping and subserotyping of *Neisseria meningitidis* isolates by co-agglutination, dot-blotting and ELISA. J Med Microbiol 1990; 31: 195.

11. 胡绪敬, 等. 本世纪八十年代我国流脑流行病学特征的监测 中华流行病学杂志 1990; 11(6): 321.  
(1990年2月收稿, 1990年3月修回)

### 全国流行病学学术会议消息

从中华预防医学会预会字(91)第26号文获悉, 第三次全国流行病学学术会议拟于1991年11月份召开。

本刊编辑部