

· 现场调查 ·

中国西部地区生态环境保护与莱姆病传播关系的研究

刘增加 孙毅 何静 米红艳 鲜耀国

【摘要】 目的 了解西部地区大开发中生态环境保护与莱姆病传播的关系。**方法** 采用现场流行病学调查与实验室分子生物学技术相结合的方法。**结果** 天然林保护区莱姆病的媒介蜱类、宿主动物在种群数量、多样性指数等方面均高于苗圃林半保护区和农业开垦区;媒介昆虫和宿主动物潜能及自然疫源地活力也显著高于苗圃林半保护区和农业开垦区;农业开垦区莱姆病的媒介昆虫、宿主动物在种群数量、多样性指数方面均低于苗圃林半保护区;有蜱叮咬史的员工中,在天然林保护区工作的血清抗体阳性率高达 66.7%,在苗圃林半保护区仅为 2.5%;两者差异有统计学意义($P=6.45$, $E-11 < 0.01$, $df=1$)。不同生境亚群中的遗传分散性也存在差异,在天然林保护区和农业开垦区之间有最大遗传分散系数(F_{st})0.557 42。苗圃林半保护区和农业开垦区之间的系数同样大于零,有统计学意义。在苗圃林半保护区和天然林保护区之间的遗传差异系数最低(0.108 02),表明在这两个样地的亚群之间无显著遗传差异;这些亚群中的遗传距离表现出与其生境相似的变化。**结论** 西部大开发天然林保护和退耕还林还草战略工程的实施,对于莱姆病的媒介昆虫、宿主动物在一定程度上起保护作用,其潜能、自然疫源地活力等增加,人群感染的危险性明显增高。

【关键词】 生态保护;莱姆病;现场流行病学

Study on the relation of transmission of Lyme disease and ecological protection from Western Regions in China LIU Zeng-jia^{*}, SUN Yi, HE Jing, MI Hong-Yan, XIAN Yao-guo. ^{*}Center for Disease Control and Prevention of Lanzhou Military Command, Lanzhou 730020, China

【Abstract】 Objective To find out the relationship of ecological environment protection and the transmission of Lyme disease under economic development of western regions in China. **Methods** Both scene molecular and traditional epidemiological methods were used to assess the effects of environmental protection on the transmission of Lyme disease. **Results** Among areas as protected natural forests, semi-protected nursery forests and farmland, the vector tick species and reservoir rodents from protected natural forests area had the highest quantity of population and diversity index and followed by semi-protected nursery forests. Vector competence of reservoir hosts and value of natural foci from protected natural forests area were also remarkably higher than those areas of semi-protected nursery forests and farmland. Staff working in the areas who were bitten by ticks from protected natural forests areas had higher serological positive rate (66.7%) than those from semi-protected nursery forests areas (2.5%), and both showed remarkable difference ($P=6.45$, $E-11 < 0.01$, $df=1$). The difference of genetic divergence among these subpopulations from different habitats being surveyed showed that the biggest genetic divergence index (F_{st}) of 0.557 42 was between protected natural forests area and farmland area. The index between semi-protected nursery forests area and farmland area was also bigger than zero with statistical significance. The genetic divergence index of 0.108 02 between semi-protected nursery forests area and protected natural forests area was the lowest which showed that genetic divergence between the subpopulations of the two sampling areas was not obvious. The genetic distance among these subpopulations had similar change along with their habitats. **Conclusion** Under economic development of western regions in China, when programs as natural forests protections, recovery prairie and grassland from farmland were actively performed, vectors insects and reservoir hosts of Lyme disease might also be protected to some degree but the risk and value of natural foci on Lyme disease might increase. Data suggested that people entering these areas should be told to strengthen their awareness on individual protection against the disease.

【Key words】 Ecological protection; Lyme disease; Field epidemiology

基金项目:国家自然科学基金资助项目(90102008);甘肃省十五科技攻关资助项目(GS022-A43-125)

作者单位:730020 兰州军区疾病预防控制中心(刘增加);军事医学科学院微生物流行病学研究所病原微生物生物安全国家重点实验室(孙毅);甘肃农业大学草业学院(何静、米红艳);解放军第一医院临夏分院(鲜耀国)

莱姆病是由伯氏疏螺旋体引起的一种蜱媒自然疫源性疾病^[1],它与许多虫媒自然疫源性疾病一样,是由媒介昆虫、宿主动物和病原体在特定自然景观条件下构成的生态系统^[2],生态环境保护也就是恢复与保护原有的生态系统,这种恢复与保护势必影响虫媒自然疫源性疾病的流行特征^[3]。为了解中国西部地区大开发中生态环境保护与莱姆病的关系,于1993年3月至2006年6月间在甘肃省迭部腊子口天然林保护区、苗圃林半保护区和农业开垦区开展了较系统的研究。

材料与方 法

1. 样地选择:依据西部生态环境和莱姆病的生态学、生物学历史资料选择了甘肃省迭部林区腊子口三个样地:①天然林保护区:设在腊子口龙爪沟林区,该区为天然亚热带水源涵养原始森林区,面积约85.60 km²,以冷杉、云杉、柏杉、落叶松、桦木等为主要分布树种,目前未经任何采伐作为受到充分保护的天然林区^[4]。②苗圃林半保护区:设在腊子口达拉沟林区,该区与龙爪沟林区相距约30 km,为苗圃林,面积为83.20 km²,树种以冷杉、云杉为主,均为未成林的苗圃^[5]。③农业开垦区:设在腊子口朱立沟农区;该区与上述两个样区距离均在30 km以上,以农为主的农牧混交区,面积约76.38 km²,主要种植蚕豆、小麦等农作物,植被以低矮灌丛和阔叶栎树为主。

2. 材料:人血标本采自在迭部腊子口林区两个样地长期(1年以上)居住人群的上肘窝静脉血。仪器和试剂中除荧光显微镜、暗视野显微镜、多功能显微镜和普通试剂等由兰州军区疾病预防控制中心提供,其余均由军事医学科学院微生物流行病研究所提供。莱姆病螺旋体菌株 *B. garinii* CIINM4 于1999年采自内蒙古全沟硬蜱中分离^[6],昆明小鼠(KM鼠)由军事医学科学院实验动物中心提供。

3. 方法:

(1) 蜱类及宿主动物标本的采集:游离蜱类标本采用常规拖旗法进行,每样点不低于2000只。啮齿动物及寄生蜱的采集采用常规夹夜法进行,每个样点累计采集900夹次,并采集捕获的啮齿类动物体外寄生蜱和心、肝、脾、肾等脏器标本,立即冷冻备用。

(2) 人群血清流行病学调查:依据作业环境,分别提取在天然林保护区和苗圃林半保护区常年工作、年龄在20~40岁的员工,采用问卷和血清抗体

检测相结合的方法进行调查,每个样点采集符合标准的人静脉血标本300份,血清学检测以美国标准株B31为参比抗原,国内优势分离株 *B. garinii* 为抗原,采用间接免疫荧光方法进行,以抗体滴度 > 1:128为阳性感染^[7]。

(3) 自然感染莱姆病螺旋体的检测:蜱类基因组DNA和莱姆病螺旋体DNA模板的简易制备参照文献[8]方法;鼠类基因组DNA的制备参照文献[9]方法;以鞭毛蛋白编码基因为靶基因的PCR引物及检测条件参照文献[10]方法。

(4) 伽氏疏螺旋体遗传变异研究:针对 *ospA* 编码伽氏疏螺旋体的外膜蛋白^[11],本研究采用如下引物: F_1 5'-AAA AAA TAT TTA TTG GGA ATA GG-3',由第4位点开始扩增; R_1 5'-GT TTT TTT GCT GTT TAC ACT AAT TGT TAA-3',由695位点开始; F_2 5'-GGA GTA CTT GAA GGC G-3',由220位点开始; R_2 5'-GCT TAA AGT AAC AGT TAA-3',由564位点开始。*ospA*的引物对 F_1 和 R_1 用于第一阶段的702 bp序列片段扩增;之后,这个片段作为第二阶段中两个内引物 F_2 和 R_2 的一个模板。由内引物扩增一个345 bp序列片段。在第一阶段的PCR扩增中,使用感染疏螺旋体蜱的DNA提取物2 μ l,脱氧核苷三磷酸盐混合物(10 mmol中含1个DNTP)3 μ l,10倍的PCR缓冲液3 μ l(500 mmol KCl, 100 mmol Tris-HCl, pH值8.3)和1.5 mmol Mg^{2+} , 1.5 U的Taq聚合酶(TaKaRa), 1 μ l的外引物溶液(10 pmol/ μ l),扩增体系为30 μ l。全程温度如下:96 $^{\circ}$ C 2 min, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 37 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min, 共30个循环。处理结束后,使用第一阶段的PCR扩增混合物3 μ l用作第二阶段PCR反应的模板DNA,上述混合反应试剂除了2 μ l内引物(10 pmol/ μ l)不同外,其成分与第一阶段类似。第二阶段扩增的全程循环温度为96 $^{\circ}$ C 2 min,之后94 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 2 min,共循环10次。下一次10个循环采用55 $^{\circ}$ C的退火温度;接着为50 $^{\circ}$ C的退火温度,最后45 $^{\circ}$ C下5个循环。巢式PCR产物10 μ l用于1%琼脂糖凝胶电泳,在1 \times TAE缓冲液(40 mmol Tris-HAc, 2 mmol EDTA, pH值8.5)中用溴化乙锭进行染色,通过UV灯显影,来证实伯氏疏螺旋体的感染,其余的用于以下提到的冷式单链构象多态性(SSCP)分析法检测伽氏疏螺旋体的种群差异性。为避免污染,DNA提取、试剂配制、扩增和琼脂糖电泳

等过程均在隔离室中完成。

冷式 SSCP 分析伯氏疏螺旋体的遗传变异:通过巢式扩增程序产生的疏螺旋体 *ospA* 基因片段,通过冷式 SSCP 分析程序检测点突变^[12],最后在 UV 透光仪下进行显影照相。

4. 统计学分析:①原始森林保护区与开发区群落的多样性和均匀性指数的计算参照 Shannon-Weiner 多样性指数;媒介、宿主潜能和自然疫源地活力的计算参照文献^[13]方法。②将来自不同生境蜱中的伽氏疏螺旋体流行传播差异进行 χ^2 检验比较,并应用遗传数据分析软件 POP5 计算和分析在全沟硬蜱体内感染的伽氏疏螺旋体的变异^[14];通过估计样本染色体数量(2N)、等位点数量、杂合度期望值和观察值(He/Ho)及有关样本构型(*f*)评价的固定值、系数 $D_A\chi^2$ 分析检验哈迪-温伯格不平衡。所有数据的处理均采用 SAS 8.0 软件进行计算。

结 果

1. 天然林保护对莱姆病潜在媒介和宿主动物群落的影响:以拖旗法测定天然林保护区、苗圃林半保护区和农业开垦区游离蜱的密度,结果表明,苗圃林半保护区密度最高达到每人每小时采集112.9只,天然林保护区次之,为每人每小时采集34.3只,而农业开垦区最低,仅为每人每小时采集9.8只。在蜱类构成上,天然林保护区中共采集到蜱3属6种,虽然仍以青海血蜱为优势种,但全沟硬蜱、卵形硬蜱、钝跗硬蜱的组成分别达到9.0%、15.0%和12.0%;血红扇头蜱为2.8%,森林革蜱最少。苗圃林半保护区采集到的蜱3属3种,以青海血蜱为绝对优势种,占总数的96.32%,血红扇头蜱次之占3.5%,森林革蜱最少占0.18%。而在农业开垦区所有采集到的蜱类均为青海血蜱。在这三类样地中游离蜱的种群多样性指数分别为0.564、0.089和0,均匀度指数天然林保护区最高为0.847,苗圃林半保护区最低为0.219,农业开垦区为0。

三类样地的宿主动物密度也不相同,以苗圃林半保护区最多为每天每公顷7.418只,天然林保护区次之为每天每公顷5.989只,农业开垦区最少为每天每公顷2.433只。在构成上,天然林保护区共采集到潜在宿主动物2目4属7种,其中,共以小林姬鼠、大林姬鼠和社鼠为优势种群,分别占32.09%、11.12%和44.44%。在苗圃林半保护区采集潜在宿主动物标本4目5属10种,其中以社鼠为绝对优势

种,占总捕获量的64.2%。小林姬鼠和大林姬鼠分别为15.1%和10.6%。而在农业开垦区,采集到潜在宿主动物标本3属6种,以社鼠为绝对优势种,黑线姬鼠、大林姬鼠和小林姬鼠次之;并且出现了部分农区鼠种,如根田鼠、黑线仓鼠和大仓鼠等。这些样区中,莱姆病潜在宿主动物的种群多样性指数分别为0.824(天然林保护区)、0.523(苗圃林半保护区)和0.315(农业开垦区)。其均匀度分别为0.465、0.157和0.109。

同时,所采集到动物体外寄生蜱在组成和数量上也显著不同,天然林保护区共采集到体外寄生蜱3属4种,其中全沟硬蜱占56.3%(9/16),钝跗硬蜱占31.3%(5/16)、青海血蜱和森林革蜱各占6.2%。而在苗圃林半保护区采集到的体外寄生蜱中,以钝跗硬蜱为主,占所捕获总数的61.1%、青海血蜱3只、鼯鼠硬蜱3只、血红扇头蜱1只。农业开垦区中采集到蜱类2属2种,分别为青海血蜱和卵形硬蜱。在天然林保护区,染蜱率(寄生有蜱的动物数占所捕获的该种动物总数的比例)以小林姬鼠最高,达到17.3%(9/52),大林姬鼠次之为5.5%(1/18),社鼠最低为1.38%(1/72);在苗圃林半保护区中,大林姬鼠和小林姬鼠的染蜱率均较低,社鼠较高为11.4%(16/140)。在农业开垦区,大仓鼠的染蜱率最高为8.0%,大林姬鼠和小林姬鼠均较低,分别为4.0%和1.25%。至于染蜱指数(所有获得蜱数占某种被蜱寄生的动物数的比例),天然林保护区内,小林姬鼠、大林姬鼠和社鼠的染蜱指数分别为3.42、2.17和1.12;苗圃林半保护区的染蜱指数分别为3.00、1.00和1.60;农业开垦区的染蜱指数分别为1.00、1.00和0。

2. 天然林保护区对莱姆病潜在媒介和宿主动物自然感染状况的影响:对莱姆病螺旋体的检测结果表明(表1),在天然林保护区分别从寄生的全沟硬蜱、钝跗硬蜱检测到莱姆病螺旋体,感染阳性率分别为50.0%和20.0%。在苗圃林半保护区分别从3只寄生的钝跗硬蜱和2只寄生的鼯鼠硬蜱中检测到莱姆病螺旋体,感染阳性率分别为27.3%和50.0%。农业开垦区寄生蜱的检测结果均为阴性。对于游离蜱,仅从天然林保护区的全沟硬蜱中检测到阳性,感染率为13.2%(27/50),卵形硬蜱、钝跗硬蜱、青海血蜱等的检测结果均为阴性。

而在潜在宿主动物感染方面,仅从农业开垦区1只大林姬鼠中检测到阳性(阳性率5.26%)。苗圃林半保护区内小林姬鼠、大林姬鼠、黑线姬鼠和社鼠

的感染阳性率分别为 57.1% (16/28)、50.0% (9/18)、25.0% (2/8) 和 15.8% (19/120); 在天然林保护区小林姬鼠、大林姬鼠、黑线姬鼠和社鼠的感染阳性率分别为 57.7% (30/52)、55.6% (10/18)、13.3% (1/6) 和 23.6% (17/72); 另外, 在培养分离莱姆病螺旋体方面, 天然林保护区黑线姬鼠阳性率为 4.44% (2/45), 苗圃林半保护区黑线姬鼠阳性率为 1.54% (1/65) 和社鼠阳性率为 20.00% (1/5)。除黑线姬鼠外, 天然林保护区阳性率都略高于苗圃林半保护区, 但只有社鼠的阳性率差异显著, 天然林保护区和苗圃林半保护区宿主动物阳性率显著高于农区。

表 1 不同开发程度的林区内潜在宿主动物及其寄生蜱感染莱姆病螺旋体的检测结果

鼠种/蜱种	天然林区	苗圃林区	农区	P 值
小林姬鼠	57.7(30/52)	57.1(16/28)	0(0/9)	0.189
大林姬鼠	55.6(10/18)	50.0(9/18)	5.26(1/19)	0.247
黑线姬鼠	13.3(1/6)	25.0(2/8)	0(0/13)	0.462
社鼠	23.6(17/72)	15.8(19/120)	2.56(0/78)	0.0004
甘肃鼠兔	-	0(0/2)	0(0/1)	Nd
其他	0(0/14)	0(0/13)	0(0/9)	1
全沟硬蜱	50.0(6/12)	0(0/13)	0(0/4)	0.052
钝跗硬蜱	20.0(10/50)	27.3(3/11)	0(0/0)	0.285
鬲鼠硬蜱	-	50.0(2/4)	0(0/0)	Nd
血红扇头蜱	0(0/10)	0(0/1)	0(0/12)	1
青海血蜱	0(0/10)	0(0/3)	0(0/17)	1
其他	-	-	-	-

注: 括号外数据为阳性率(%), 括号内数据为阳性只数/捕获只数; “-”未检测出

3. 天然林保护区对莱姆病自然疫源地活力的影响: 通过计算并比较了天然林保护区和苗圃林半保护区的莱姆病自然疫源地活力。结果表明, 在天然林保护区, 媒介和宿主潜能分别为 0.005 71 和 9.11, 自然疫源地活力为 9.68, 其中媒介以全沟硬蜱为主, 其潜能为 0.0214; 宿主潜能以小林姬鼠为主, 大林姬鼠次之, 其潜能分别为 7.95 和 1.132。而在苗圃林半保护区, 媒介和宿主潜能分别为 0.002 85 和 6.16, 自然疫源地活力为 6.34, 均低于天然林保护区。其中可能媒介以钝跗硬蜱为主, 其潜能为 0.0214; 宿主潜能以小林姬鼠为主, 大林姬鼠次之, 其潜能分别为 4.03 和 1.29。苗圃林半保护区的小林姬鼠宿主潜能也明显低于天然林保护区。

4. 天然林保护区对莱姆病人群自然感染状况的影响: 在天然林保护区与苗圃林半保护区经常作业的员工受到蜱类叮咬的比例分别为 35.0% 和 32.5% ($n = 300$), 差异无统计学意义 ($P = 0.4409 > 0.05$, $df = 1$)。而具有蜱叮咬史的员工中, 在天然林保护区工作的血清抗体阳性率较高, 达到 66.7%; 在苗圃

林半保护区的血清抗体阳性率较低, 仅为 2.5%。两者差异有统计学意义 ($P = 6.45$, $E-11 < 0.01$, $df = 1$); 没有蜱叮咬史的员工中, 天然林保护区和苗圃林半保护区的血清抗体阳性率均较低, 分别为 1.28% 和 1.23%, 两者差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.5030 > 0.05$, $df = 1$)。

5. 不同生境全沟硬蜱莱姆病螺旋体的遗传分析: 所有试蜱为未饱血成虫, 其中雄虫与雌虫数约均等; 在 95 个所测试蜱中有 18 个的 345 bp 条带清晰可见, 获得了明显的阳性结果, 表明是由伯氏疏螺旋体引起的感染。冷式 SSCP 分析感染伽氏疏螺旋体呈阳性结果蜱的 PCR 产物来决定个体蜱中的遗传异质性水平。在不同的生境下, 伯氏疏螺旋体亚群有不同的杂和度期望值、观察值以及固定值。其中, 与天然林保护区和苗圃林半保护区相比较, 农业开垦区的伽氏疏螺旋体杂合度是最低的 ($\chi^2 = 1.049$; $P = 0.0001$)。然而, 在天然林保护区和苗圃林半保护区的伽氏疏螺旋体杂合度之间差异无统计学意义。就固定值而言, 天然林保护区和苗圃林半保护区的伽氏疏螺旋体之间虽然前者相比后者较大, 但差异无统计学意义。来自农业开垦区样地的伽氏疏螺旋体固定值最低, 表现出较强的生境选择压力。

不同生境亚群中莱姆病螺旋体的遗传分散性也存在差异。在天然林保护区和农业开垦区之间有最大遗传分散系数 (F_{st}) 0.557 42。苗圃林保护区和农业开垦区之间的系数同样大于零, 有统计学意义。在苗圃林半保护区和天然林保护区之间的遗传差异系数最低 (0.108 02), 表明在这两个样地的亚群之间无显著遗传差异。这些亚群中的遗传距离表现出与其生境相似的变化。其中, 天然林保护区和苗圃林半保护区间的 N_m 值最大, 表明在这两种生境下的伽氏疏螺旋体亚群之间有频繁的基因迁移和漂流。天然林保护区和农业开垦区样地间的 N_m 值最低, 表明在这两种生境下的螺旋体亚群间存在基因交流中断, 但其原因尚不清楚。

讨 论

作为一种典型的自然疫源性疾, 莱姆病自然循环于宿主动物和媒介蜱种之间, 它们密切依赖环境而生存, 国内外有关蜱和宿主动物自然感染、病原体遗传特征和致病性的研究较多^[15-18], 但有关环境因素变化对其传播特征的影响, 国内外尚未见报道。本项目在我国西部大开发天然林保护工程启动的时机, 及时

地开展了这项研究,从理论上阐述疾病传播与环境扰动因素的关系,在实践上提出人类开发过程中开展莱姆病预防和控制的迫切性和必要性。

本研究结果发现,天然林保护工程的实施对于莱姆病的媒介、宿主及其潜在在一定程度上起保护作用,其媒介、宿主等亚群落多样性也得到了一定的保护,自然疫源地活力将有所增加。因此,西部开发中,尤其是天然林保护工程实施过程中,莱姆病的感染风险将有一定增加,但事实上,随着天然林保护工程的进一步深入,非法砍伐和开垦得到有效遏制,将减少深入原始林区的人员数量和频率,同时减少人群同蜱类接触的机会,将降低人群感染莱姆病的机会,本研究对林业工人的调查结果就说明了这点,如能加强对深入林区尤其是原始森林保护区人员的个人防护和监管,可进一步控制和预防莱姆病的感染和危害。

Tallkellin 等^[19]对瑞典 Bogesund 地区 6-10 月份的宿主潜能进行比较,首次探讨特定地域宿主潜能的时间格局,认为自然疫源地的特征是一个随时间、空间变动的特征。另外,一些学者曾尝试使用许多模式对莱姆病的传播模式进行模拟和预测,主要包括线性模型和矩阵转移模型^[20-23],但确切来讲,仅仅依赖分离或检测的结果尚不足以明确某一蜱种/动物的媒介/宿主地位,还需要一些必要的传播、感染证据和流行病学资料。然而,目前我国的莱姆病自然疫源地仅有莱姆病螺旋体分离培养或检测的证据,还缺乏媒介、宿主及其潜能和活力等特征的更进一步认识,还需要进一步探讨莱姆病的时空分布特征、流行格局,以及影响该病流行的主要自然因素,以便从动态角度认识莱姆病的自然疫源地特征。

本次研究发现,甘肃迭部腊子口林区有全沟硬蜱分布,明确了全沟硬蜱为莱姆病的传播媒介,该林区为莱姆病的自然疫源地。这样我国以全沟硬蜱为媒介的北方莱姆病自然疫源地,从过去已知的燕山山脉以北地区向南扩展到秦岭南麓迭部腊子口林区^[24]。但伯氏疏螺旋体的主要贮存宿主与黑龙江、北京、新疆天山等地区的疫源地有些不同,腊子口林区以社鼠为主,而上述三地以姬鼠和鼯鼠为主。另外,本研究从种群分子遗传学角度,分析了病原体、媒介生物、宿主动物遗传结构的改变,发现伽氏疏螺旋体在天然林和苗圃林生境之间有频繁的基因迁移和漂流。而苗圃林和农业开垦区之间亚群间存在基因交流中断,表明了人为干预对生物遗传结构的影响,这可能是环境因素改变传染病传播的遗传能力

之一。同时,从该地林业工人中也检出 4 例莱姆病患者,均为晚期关节型的临床症状,这和以前发现的病例特征相似,但发病率有所下降,这可能与天然林保护工程实施后,森林砍伐作业量锐减,大部分工人转入护林、育林工作有关。本研究还从自然疫源地活力、媒介潜能、宿主潜能等角度分析天然林保护程度对这些传播动力学参数的影响,提出莱姆病自然疫源地活力动态变化的观点,这为科学制定防治策略提供科学依据和技术支持。

参 考 文 献

- [1] Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, et al. Lyme disease a tick borne spirochetes? Science, 1982, 216: 1317-1319.
- [2] 刘增加. 我国莱姆病流行病学研究现状与展望. 中国公共卫生, 2002, 18 增刊: 34-37.
- [3] Hubbard MJ, Cann KJ. Lyme borreliosis: a tick-borne spirochete disease. Rev Med Microbiol, 1998, 9: 99-107.
- [4] 刘增加, 杨银书, 张晓鹏, 等. 甘肃省岷山北麓迭部林区莱姆病保菌宿主鼠类的研究. 兰州大学学报(自然科学版), 1994, 30 专辑: 27-30.
- [5] 刘增加, 石淑珍, 杨银书, 等. 甘肃省迭部林区莱姆病媒介的研究. 兰州大学学报(自然科学版), 1994, 30 专辑: 23-26.
- [6] 孙毅, 许荣满, 张泮河, 等. 我国常见蜱种的莱姆病螺旋体的分离与鉴定. 寄生虫与医学昆虫学报, 2002, 9(2): 114-119.
- [7] 刘增加, 张晓鹏, 石淑珍, 等. 104 例莱姆病临床流行病学调查. 解放军预防医学杂志, 1997, 15(5): 334-337.
- [8] Sun Y, Guo TY, Xu RM, et al. Natural foci of Lyme disease in potential vector ticks and reservoir rodent in the Donglinshan mountain area of Beijing. Sys Appl Acarol, 2001, 6: 13-17.
- [9] 刘增加, 孙毅, 石淑珍, 等. 腊子口林区莱姆病自然疫源地调查研究. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20(5): 445-447.
- [10] Sun Y, Xu RM, Guo TY, et al. Ability of Ixodes persulcatus *Haemaphysalis concinna* and *Dermacentor silveryum* to acquire and transmit the Lyme disease spirochete *Borrelia garinii*. Sys Appl Acarol, 2002, 7: 15-22.
- [11] McGrath BC, Dunn JJ, Gorgone G, et al. Identification of an immunologically important hypervariable domain of the major outer surface protein A of *Borrelia burgdorferi*. Infect Immun, 1995, 63: 1356-1361.
- [12] Hongyo T, Buzard GS, Calvert RJ, et al. 'Cold SSCP': a simple, rapid and nonradioactive method for optimized single strand conformation polymorphism analyses. Nucleic Acids Res, 1993, 21: 3637-3642.
- [13] 孙毅, 刘增加, 许荣满, 等. 天然林保护对莱姆病自然疫源地特征的影响. 寄生虫与医学昆虫学报, 2005, 12(2): 106-111.
- [14] Marketa D, Lorenza B, Branislav PG, et al. enetic Variability within *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies established by PCR-single-strand conformation polymorphism analysis of the rrfA-rrlB intergenic spacer in Ixodes ricinus ticks from the Czech Republic. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(1): 509-516.
- [15] Ai CX, Wen YX, Zhang YG, et al. Clinical manifestation and epidemiology characters of Lyme disease in Hallin county, Heilongjiang province, China. Ann NY Acad Sci, 1988, 539: 302-313.
- [16] 万康林, 张哲夫, 窦桂兰, 等. 中国 29 个省市自治区动物莱姆病的初步调查. 中国媒介生物学及控制杂志, 1998, 9(5): 366-371.
- [17] Minoru N, Miyamoto K. Susceptibility of *Ixodes persulcatus* and *I. ovatus* (Acari: Ixodidae) to Lyme disease spirochetes isolated from humans in Japan. J Med Entomol, 1994, 31: 467-473.
- [18] Angelov L, Dimova P, Berbencova W. Clinical and laboratory evidence of the importance of the tick *D. marginatus* as vector of *B. burgdorferi* in some areas of sporadic Lyme disease in Bulgaria. Eur J Epidemiol, 1996, 12: 499-502.
- [19] Tallkellin L, Jaenson TGT, Mather NT. Seasonal variation in the capacity of the bank vole to infect larvae tick (Acari: Ixodidae) with Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. J Med Entomol, 1993, 30(4): 812-815.
- [20] Mather TN, Wilson ML, Moore SL, et al. Comparing the relative potential of rodents as reservoir of Lyme disease spirochetes

- Borrelia burgdorferi*. Am J Epidemiol, 1989, 130(1):143-150.
- [21] Magnarelli LA, Anderson JF. Ticks and biting insects infected with the etiologic agent of Lyme disease *Borrelia burgdorferi*. J Clin Microbiol, 1988, 26:1482-1486.
- [22] Porco TC. A mathematic model of the ecology of Lyme disease. IMA J Math Appl Med Biol, 1999, 16(3):161-169.
- [23] 张德才, 张仲秋, 孙广久, 等. 辽宁东部山区莱姆病调查研究. 中华流行病学杂志, 1996, 17(2):271.
- [24] 李志刚, 马福海, 吴美云, 等. 宁夏六盘山莱姆病调查研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1997, 8(5):441-443.

(收稿日期:2007-08-30)
(本文编辑:尹廉)

· 疾病控制 ·

流行性脑脊髓膜炎并一过性多发颅神经损伤及截瘫一例

韩艳 王振福 陈现红 孙虹

流行性脑脊髓膜炎(流脑)损伤部位除血管内皮、软脑膜、蛛网膜、脑实质外,亦可发生视神经、动眼神经、面神经等颅神经损害,但同时合并面神经、听神经损伤和截瘫很少见。通过对 2005 年收治 1 例混合型暴发型流脑合并周围性面瘫、耳聋和截瘫的报告分析,旨在提高对该病特殊表现的认识。

患者男性,15 岁,因发热、咽痛、头痛 2 d,意识不清 8 h 入院。入院前 2 d 无明显诱因出现发热(自测体温 39.0℃)、咽痛、头痛,伴恶心、呕吐,呈喷射状,呕吐物为胃内容物,无血性物。按“感冒”治疗。入院前 8 h 出现意识不清、烦躁不安,无抽搐,无大、小便失禁。查体:体温 36.0℃,心率 120 次/min,律齐,呼吸 26 次/min,血压 80/60 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa),全身皮肤黏膜可见广泛分布淤斑,有大片融合。皮肤温度低。出现浅昏迷,伴有谵妄。双侧瞳孔等大等圆,直径约 2.0 mm,对光反射迟钝。颈项强直。双肺听诊阴性。肝脾未触及,膀胱充盈明显。双下肢肌张力低,肢体坠落试验阳性。腹壁反射正常;双侧膝、跟腱反射减弱,提睾反射、肛门反射消失;双侧巴彬斯基征阳性。血常规:白细胞 $15.3 \times 10^9/L$,中性粒细胞 86%,淋巴细胞 14%,血小板 $52 \times 10^9/L$;凝血酶原时间 15.3 s;脑 CT 检查:脑室缩小,脑蛛网膜下腔、脑沟增宽;脑脊液呈乳黄色混浊,潘氏试验阳性,白细胞 1.52×10^9 个/L,中性粒细胞 80%,淋巴细胞 20%,氯 121.7 mmol/L,葡萄糖 2.25 mmol/L,蛋白定量 1.2 g/L;血沉 35 mm/h;C-反应蛋白弱阳性;脑脊液涂片未找到细菌,皮肤淤斑刺破后取组织液涂片见革兰阴性双球菌。诊断暴发型流脑(混合型)。积极给予抗休克、降颅压、抗感染、营养神经等治疗。入院第 4 天患者意识渐转清,呈嗜睡状,血压 105/70 mm Hg,体温恢复正常,查体发现患者左侧额纹变浅、眼睑闭合不全、鼻唇沟变浅,口角向右侧歪斜;音叉气导、骨导均消失;双上肢肌力 5 级,双下肢肌力 2⁺级。T₁₂ 以下皮肤痛温、触觉及深感觉减退;颈项强直,克尼格征、布鲁金斯基征阳性;余查体同前。因患者经济困难未做脊髓磁共振检查。加用脑脊液置换治疗,于腰椎穿刺刺取标本后用 10 ml 生理盐水缓慢等量置换 10 ml 脑脊液,放出炎性渗出物,以防治颅底部炎症、粘连,每周 2 次。住院 25 d 后患者面瘫,听力及双下肢肌力、感觉均有明显恢复,病理征阴性,可自行小便。第

五次脑脊液检查:无色清亮,潘氏试验弱阳性,白细胞 $0.02 \times 10^9/L$,蛋白定量 0.51 g/L,余项正常;血常规及肝肾功能正常后出院。6 个月后随访,患者已复学,无后遗症。

讨论:暴发型流脑起病急,病势凶险,进展迅速,如不及时治疗可于 24 h 内危及生命。常见微循环障碍的休克型、脑实质损害的脑膜脑炎型及混合型,而同时并发面神经、听神经及截瘫较罕见。本例病程中有严重的菌血症表现如持续高热,皮肤淤斑,休克;随后出现意识障碍,全身皮肤黏膜广泛淤斑,有大片融合。同时又有脑膜炎表现,如剧烈头痛、脑膜刺激征等。还伴有周围性面瘫、耳聋及截瘫。故诊断为混合型暴发型流脑(休克型、脑膜脑炎型)。

该患者流脑同时并发周围性面瘫、听力下降考虑可能由于脑膜血管充血、炎症,大量纤维蛋白、中性粒细胞及血浆外渗引起颅底部炎症、粘连,而发生面神经和听神经损害所致^[1,2],而非损伤脑干累及面神经和耳蜗神经核引起^[3]。本例患者的周围性面瘫和听力下降经抗感染、脑脊液置换、营养神经等治疗后恢复,无后遗症,但该病例耳聋有时发生在脑膜刺激症状出现之前^[2],临床表现不典型,容易误诊,应提高警惕,以免延误治疗,遗留严重后果。流脑并发截瘫的原因目前尚不清楚:①炎症反应波及脊髓膜,进而侵犯脊髓前动脉,引起动脉炎和血管血栓形成,造成脊髓损伤;②细菌入侵脊髓后形成脊髓脓肿,可造成脊髓损伤;③由于脊髓置于脓性分泌物中,引起急性脊髓炎症。该病例经过抗菌等治疗及康复训练后肌力、感觉和排尿等均恢复正常,结合张冬森等^[4]报道病例,提示此类并发症是可逆的,经过积极治疗可以恢复。

本例患者除了流脑常见临床表现外,还同时合并周围性面瘫、耳聋和截瘫,临床少见。因此,临床医生在遇到不典型流脑病例或流脑伴有并发症时应进行综合分析,明确诊断,及早治疗,以减轻后遗症。

参 考 文 献

- [1] 蒋道荣. 流行性脑脊髓膜炎//黄祖瑚,李军. 传染病学. 北京:科学出版社,2002:155-163.
- [2] 高成华. 遗传性聋和感染性聋的诊断. 现代康复杂志,2000,4(6):958-959.
- [3] 罗祖明,王维治. 神经系统疾病的诊断原则//王维治. 神经病学. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2001:68-70.
- [4] 张冬森,张凤茹. 以截瘫为首发症状的流行性脑脊髓膜炎 1 例. 临床荟萃,2006,16(21):1149.

(收稿日期:2007-12-06)
(本文编辑:张林东)