

# 中国莱姆病研究的进展

张哲夫

**【作者简介】** 张哲夫,男,汉族,1933 年 11 月生,1958 年毕业于同济医科大学,获医学学士学位,同年进入中国医学科学院流行病学微生物学研究所,现为中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所研究员,螺旋体病研究室主任,中国微生物学会会员。曾任中国微生物学会人兽共患病学会螺旋体学组副组长,第五届国际莱姆病会议顾问委员会成员,卫生部自然疫源性疾病预防专家咨询委员会成员。自 1958 年以来一直从事钩端螺旋体病的流行病学和病原学研究。1985 年开始从事莱姆病的流行病学和病原学研究。主持的“抗钩端螺旋体病口服新药咪唑啉酸酯”获 1980 年国家发明三等奖,“中国莱姆病的病原学和流行病学调查研究”获 1993 年卫生部科技进步一等奖。其他尚有省、市科委颁发的 3 个三等奖。于 1994 年经卫生部批准为有突出贡献的中青年专家,享受国务院政府特殊津贴。

莱姆病是一种由蜱传伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*) 引起的自然疫源性疾病,亦是一种人兽共患病。自 1982 年 Burgdorfer 及其同事分离到莱姆病病原体以来<sup>[1]</sup>,莱姆病在流行病学、病原学、临床学、发病机制及疫苗等方面有了飞速发展。莱姆病的流行范围已扩大到五大洲<sup>[2]</sup>。在北美和欧洲,莱姆病为主要虫媒传染病。美国 CDC 自 1982 年开始莱姆病监测以来,现已有 10 万例病例报告,其中 1996 年报告病例达 1.6 万人<sup>[3]</sup>。据估计,欧洲各国每年诊断的莱姆病达 5 万例以上。我国于 1986、1987 年在黑龙江省和吉林省相继发现莱姆病<sup>[4,5]</sup>。至今已证实 18 个省、区存在莱姆病自然疫源地<sup>[6,7]</sup>,本文拟就我国莱姆病研究的进展作一简介。

## 一、流行病学研究

### 1. 分布特征:

(1) 地区分布:血清流行病学研究表明,我国至少有 23 个省、区人群存在伯氏疏螺旋体的感染,大兴安岭、小兴安岭、长白山、天山、阿尔泰山等林区人群感染率在 10% 以上,秦岭以南林区感染率在 5% ~ 10% 之间,平原地区在 5% 以下。病原学证实 18 个省、区存在莱姆病自然疫源地。以上研究表明,莱姆病在我国分布范围广泛,东北林区、内蒙古林区和西北林区是莱姆病主要流行地区。

(2) 时间分布:不同地区莱姆病发病季节略有不同,例如东北林区为 4 ~ 8 月份<sup>[8]</sup>,福建林区为 5 ~ 9 月份<sup>[9]</sup>。这种发病季节与当地媒介蜱的数量及活动高峰相一致。

(3) 人群分布:不同年龄组均有莱姆病发生,以青壮年人群感染率较高。男女感染率差别不显著。职业以野外工作者、林业工人感染率较高<sup>[6]</sup>。

2. 生物媒介:检查的媒介蜱经鉴定属于 2 个科 8 个属 26 个种,从全沟硬蜱、粒形硬蜱、锐附硬蜱、嗜群血蜱、日本血蜱、长角血蜱、二棘血蜱、台湾角血蜱、草原革蜱和森林革蜱等 10 种蜱分离出伯氏疏螺旋体,并证实全沟硬蜱是北方林区优势种蜱,其带菌率为 20% ~ 50%<sup>[6,7]</sup>,其成虫活动期是 4 ~ 7 月份,与游走性红斑发生关系密切<sup>[8]</sup>,若虫在鼠体上数量高峰期在 6 月上旬,作为莱姆病传播虫期主要是成虫还是若虫尚需进一步研究。全沟硬蜱还有经卵传递伯氏疏螺旋体的可能性<sup>[10]</sup>。调查中从南方地区的粒形硬蜱、二棘血蜱和台湾角血蜱分离出伯氏疏螺旋体,按蜱的数量优势和带菌率,粒形硬蜱和二棘血蜱可能是南方地区莱姆病原体的重要生物媒介。

3. 贮存宿主:现在已认识到小型啮齿动物不仅是幼蜱和若蜱的主要吸血宿主,亦是伯氏疏螺旋体的贮存宿主<sup>[11]</sup>。收集和检查的啮齿动物经鉴定有 4 个科 6 个属 13 个种,从黑线姬鼠、大林姬鼠、小林姬鼠、棕背鼯、花鼠、普通田鼠、白腹鼠、白腹巨鼠、社鼠、黄毛鼠、褐家鼠和华南兔等 12 种啮齿动物分离

到伯氏疏螺旋体,而且还从黑线姬鼠和白腹巨鼠的胎鼠分离出莱姆病病原体<sup>[6,12]</sup>。许多学者认为莱姆病疫源地的存在是伯氏疏螺旋体通过动物—蜱—动物的传播循环而建立起来的。我国从小型啮齿动物胎鼠分离到莱姆病病原体,表明垂直传播亦是疫源地维持的重要方式之一。根据种群数量和感染率分析,姬鼠类和鼯类可能是主要贮存宿主。对大型动物血清学检查结果,狗的感染率在 38%~60% 之间<sup>[9]</sup>,牛在 18%~32% 之间,羊在 17%~61% 之间<sup>[13]</sup>。上述结果表明,这些大动物在维持媒介的种群数量上起着重要作用。

## 二、病原学研究

我国已从病人、动物和蜱分离到 160 余株伯氏疏螺旋体。对上述菌株进行了形态结构、生化组成、基因和基因克隆以及分类的研究。

1. 形态结构:应用电子显微镜对中国的 M<sub>7</sub> 和美国的 B<sub>31</sub> 菌株进行了比较,两者基本形态和结构相同,具有表层、外膜、鞭毛、原生质柱,但两者在鞭毛数目上不同, B<sub>31</sub> 有 7 和 11 根鞭毛组成,而 M<sub>7</sub> 至少有 7 和 12 根鞭毛组成。

2. 生化组成:用气相色谱法分析了中国的 5 个菌株和美国的 B<sub>31</sub> 菌株的脂肪酸组成<sup>[14]</sup>,结果表明,中国菌株和 B<sub>31</sub> 菌株的脂肪酸组成相似,均以棕榈酸和油酸为主,占总脂肪酸的 80%。用 SDS-PAGE 分析了中国的 21 个菌株和美国的 B<sub>31</sub> 菌株的蛋白图形<sup>[15]</sup>。中国菌株主要蛋白呈高度多态性和异质性,外膜蛋白 A 分子量为 32KD,外膜蛋白 B 为 36KD,部分菌株还具有外膜蛋白 C,分子量在 20~24KD 之间。美国菌株外膜蛋白 A 和 B 分别为 31、34KD,美国菌株一般缺外膜蛋白 C。

3. 基因和基因克隆:(1)用热变性温度法测定了中国 VL 菌株和美国 B<sub>31</sub> 菌株的 G+C mol % 含量,VL 株和 B<sub>31</sub> 株的 G+C mol % 含量相近,分别为 28.1% 和 30.0%。而钩端螺旋体菌株的含量则为 37.8%<sup>[16]</sup>。(2)质粒分析表明,中国菌株的质粒组成呈现明显的不均一性和多样性,中国菌株的质粒与北美菌株同源性较弱,中国菌株最大质粒为 53KD,而北美菌株最大质粒为 49KD<sup>[17]</sup>。(3) Southern Blot:提取部分菌株的染色体 DNA 和质粒 DNA,经 Hind III 消化后转膜,与北美菌株 B<sub>31</sub> 全细胞 DNA 探针进行杂交,结果表明,仅有几个中国菌株与 B<sub>31</sub> 菌株有完全一致的 DNA 酶谱,大部分中国菌株与北美菌株不同。(4)基因克隆:对 60KD 抗原的基因克隆,利用质粒为载体,构建伯氏疏螺旋体全细

胞 DNA 基因文库,从文库中选出 1 株表达 60KD 抗原的克隆子,并证明编码该抗原的基因在染色体上,表达单位为 2.2kb,这为研究莱姆病致病机理打下基础<sup>[18]</sup>。

4. 分类:用 16s-23s rRNA 基因探针分析中国莱姆病螺旋体 rRNA 基因限制性图谱<sup>[19]</sup>和用 5s-23s rRNA 基因间隔区扩增子的限制性片段长度多态性分析了 86 株中国菌株,结果表明,中国菌株至少可分为 3 个基因种,其中 *Borrelia burgdorferi sensu stricto* 基因种比例为 5.81%, *Borrelia garinii* 比例为 66.28%, *Borrelia afzelii* 比例为 23.26%, 几株从南方分离的菌株的分类地位尚不能确定。其中 *Borrelia burgdorferi sensu stricto* 基因种在亚洲菌株中是首次发现。上述研究结果表明, *Borrelia garinii* 基因种占优势, *Borrelia afzelii* 占第二位。基因种的地理分布,仅 4 株 *Borrelia burgdorferi sensu stricto* 基因种分别来自北京和湖南, *Borrelia garinii* 基因种菌株来自于北方地区, *Borrelia afzelii* 基因种菌株来源于南方和北方地区。基因种与临床表现有密切关系, *Borrelia garinii* 基因种与神经损伤, *Borrelia afzelii* 与皮肤损伤呈优势反应。

## 三、临床学研究

对莱姆病的早期表现观察和系统的对莱姆病临床研究<sup>[20]</sup>表明,2/3 病人的潜伏期在 1~15 天,以神经系统损害患者潜伏期较长,个别患者潜伏期可达 180 天。早期临床表现包括 I 期和 II 期, I 期常见游走性红斑(EM)、发热、头痛、恶心呕吐和局部淋巴结肿大等。 II 期常见面神经麻痹、脑膜脑炎、多发性红斑,还有脊髓炎、神经根炎、心脏异常等。晚期(III)以关节炎常见,还有周围神经炎、慢性萎缩性肢皮炎,少数病人有精神异常表现。还有眼部受损害的病例<sup>[21~23]</sup>,早期表现为结膜炎,后期主要为葡萄膜炎、视神经炎、虹膜睫状体炎、角膜炎。有的学者认为结节病与伯氏疏螺旋体感染有关<sup>[24]</sup>。

我国学者从游走性红斑、脑膜炎、面神经麻痹、白癜风样皮损、精神异常等病例的标本中分离到伯氏疏螺旋体,表明我国莱姆病临床表现复杂多样。从精神异常病例血液中分离出莱姆病病原体,在世界上尚属首次。

临床治疗,我国对莱姆病的治疗方案尚未统一,对早期局部游走性红斑,应用红霉素、四环素或一般常用剂量的青霉素即可治愈。但对全身多发性红斑、面神经麻痹、脑膜脑炎、神经根炎、脊髓炎、心肌炎、葡萄膜炎、角膜炎、周围神经炎、萎缩性肢皮炎、

关节炎、精神异常等临床病例需用大剂量青霉素(1 000 ~ 2 000 万单位/日)或头孢三嗪才能有效<sup>[20, 21, 23]</sup>。有人还应用青霉素联合甲硝达唑对面神经麻痹病例治疗取得较好效果<sup>[25]</sup>。

#### 四、实验室诊断研究

目前应用的血清学方法有间接免疫荧光试验(IFA)、酶联免疫吸附试验(ELISA)和蛋白印迹(Wb)。病原学检测有多聚酶链反应(PCR)和用 BSK II 培养基从血液、脑脊液、皮肤标本分离病原体。

IFA: 从 1986 年开始, IFA 已广泛应用于临床检验和人群血清学调查。根据健康人和病人对照研究<sup>[9]</sup>, IFA 的 IgM  $\geq 1:64$ , IgG  $\geq 1:128$ , 可判为阳性反应。IFA 对我国莱姆病的病例发现和莱姆病的地理分布研究起了很大作用。

ELISA: 从 1988 年开始, ELISA 应用于测定莱姆病病例的血清抗体<sup>[26]</sup>, ELISA 的敏感性和特异性均较 IFA 好, 一般应用超声波抗原, 90 年代将超声波处理的抗原用葡聚糖层析法进一步纯化, 可提高 ELISA 的敏感性和特异性, 已由中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所研制为 ELISA 试剂盒。

Wb: 从 90 年代开始, Wb 应用于临床诊断, Wb 可以判断和验证 IFA 和 ELISA 的真假阳性, 1995 年用 Wb 证实湖南存在莱姆病病例<sup>[27]</sup>。中国预防医学科学院流研所用 Wb 作为常规检测病人血清抗体。

PCR: 从 90 年代开始研究此法用于临床标本检测, 1995 年 PCR 用于检查蜱和动物标本<sup>[28]</sup>。1998 年本室依据伯氏疏螺旋体独特的 5s-23s rRNA 基因结构, 设计引物, 对病人尿液标本进行 PCR 检测, 不仅能检测出伯氏疏螺旋体, 而且同时可测出病人所感染菌株的基因种。

病原分离: 我国莱姆病开始研究阶段, 曾用自己研制的培养基分离出伯氏疏螺旋体, 随后引进了 BSK I 培养基, 并且进行了清除培养物中杂菌的方法研究<sup>[29]</sup>, 改善了病原体的分离培养。1992 年应用了 BSK II 培养基, 使得病原分离工作进一步得到改善。我国已经从病人、动物和蜱分离出 160 余株病原体。由于病人菌血症期短, 血液中菌量少, 从病人标本分离伯氏疏螺旋体比较困难。

#### 五、结束语

我国莱姆病的研究工作已开展 13 年, 取得了引人瞩目的成就。基本上搞清了莱姆病在我国的地理分布、主要流行区和主要传播媒介, 并应用分子生物学技术证明中国流行菌株与北美菌株有明显区别。

在临床和实验室诊断研究方面取得很大的进展。这为在我国防治莱姆病打下了坚实基础。但是, 近年来北美和欧洲在莱姆病的基础研究方面取得飞速的进展, 特别是在病原的分子生物学和菌苗研究方面, 1997 年美国学者报告了对伯氏疏螺旋体代表株 B<sub>31</sub> 的基因组序列测定结果, 这对了解伯氏疏螺旋体的生活史, 进一步开展防治药物和菌苗的研究有重要意义。1998 年美国学者报告了 O<sub>spA</sub> 亚单位菌苗的 II 期多中心随机对照双盲的临床试验。我们必须结合我国莱姆病原体的生物学特征, 利用以上科学进展, 研制防治莱姆病的药物和菌苗。为防治我国莱姆病做出贡献。

#### 参 考 文 献

- Burgdofer W, Barbour AG, Hayes SF et al. Lyme disease - A tick borne spirochetosis? Science, 1982, 216:1317-1319.
- Nadelman RB, Womser GP. Lyme borreliosis. Lancet, 1998, 352:557-565.
- Anonymous. Lyme disease - united states 1996. MMWR, 1997, 46:531-535.
- 艾承绪, 温玉欣, 张永国, 等. 黑龙江省海林县林区莱姆病的流行病学调查. 中国公共卫生, 1987, 6:82-85.
- 张哲夫, 张金声, 朱桂凤, 等. 我国东北林区莱姆病的调查. 中华流行病学杂志, 1989, 10:261-264.
- 张哲夫, 万康林, 张金声, 等. 我国莱姆病的流行病学和病原学研究. 中华流行病学杂志, 1997, 18:8-11.
- 刘增加, 张晓鹏, 石淑珍, 等. 104 例莱姆病的临床流行病学调查. 解放军预防医学杂志, 1997, 15:334-336.
- 张哲夫, 万康林, 冯文祥, 等. 牡丹江林区莱姆病分布的地理特点. 中华流行病学杂志, 1991, 12:154-157.
- 潘亮, 陈振光, 黄耀平, 等. 福建莱姆病蜱媒及其宿主调查研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1996, 7:437-439.
- 龚桂兰, 杨振. 全沟硬蜱传播莱姆病的研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1990, 1:117-119.
- 许荣满, 郭天宇. 莱姆病媒介和宿主动物研究进展. 寄生虫与医学昆虫学报, 1998, 5:57-61.
- 陈戊申, 万康林, 郝瑞丰, 等. 广东首次分离到莱姆病螺旋体. 中国媒介生物学及控制杂志, 1998, 9:276-277.
- 万康林, 张哲夫, 张金声, 等. 中国 20 个省、区、市动物莱姆病初步调查研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1998, 9:366-370.
- 田惠军, 卢涌泉, 张泮河, 等. 我国莱姆病螺旋体脂肪酸的分析. 中华微生物学和免疫学杂志, 1991, 11:359-361.

- 15 李牧青, 王建辉, 张哲夫. 中国莱姆病螺旋体流行菌株的蛋白分析. 中国人兽共患病杂志, 1994, 10:14-16.
- 16 杜勇, 吴晓明, 郭兆彪, 等. 伯氏疏螺旋体 G + C mol% 含量测定. 军事医学科学院院刊, 1992, 16:11-12.
- 17 李牧青, 王建辉, 张哲夫. 中国莱姆病螺旋体质粒分析. 中国媒介生物学及控制杂志, 1994, 5:203-206.
- 18 李牧青, 王建辉, 张哲夫. 莱姆病螺旋体 60KD 抗原的基因克隆及表达. 中华微生物学和免疫学杂志, 1994, 11:321-327.
- 19 梁军钢, 张哲夫. 中国莱姆病螺旋体 rRNA 基因多态性分析. 中华微生物学和免疫学杂志, 1996, 16:359-362.
- 20 李华, 曹长江, 杨丽清, 等. 内蒙大兴安岭林区莱姆病的临床研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1995, 6:320.
- 21 刘蔼年, 刘海林, 化冰. 莱姆病眼部表现 30 例分析. 中华眼科杂志, 1993, 29:271-273.
- 22 刘蔼年, 刘海林, 化冰. 角膜炎与莱姆病. 中国实用眼科杂志, 1994, 12:561-563.
- 23 朱淑琴, 张惠英, 葛春英, 等. 葡萄膜炎与莱姆病. 中国媒介生物学及控制杂志, 1998, 9:35.
- 24 李庆棣, 化冰, 刘群英, 等. 伯氏疏螺旋体抗体测定对结节病的诊断价值. 中华结核和呼吸杂志, 1994, 17:162-164.
- 25 宋文英, 陈凤玲, 蒋惠荷, 等. 莱姆病的临床治疗探讨. 中国人兽共患病杂志, 1997, 13:38-40.
- 26 施桂英, 黄烽, 周亚非, 等. 莱姆病 15 例的临床及血清学研究. 中华内科杂志, 1988, 27:689-691.
- 27 杨旭, 龚国忠, 何艳, 等. 用免疫印迹法检查 40 例湖南病人血清莱姆病抗体. 湖南医科大学学报, 1995, 20:65.
- 28 孙朝霞, 田红, 李秋瑾, 等. 聚合酶链技术在莱姆病传播途径中的应用. 中国兽医科技, 1996, 26:3-4.
- 29 万康林, 张金声, 张哲夫. 清除莱姆病螺旋体培养物中杂菌的方法研究. 中华流行病学杂志, 1991, 12:299-301.

(收稿: 1999-04-30)

## 一起水痘暴发的调查报告

文中义 王大军 曹一堂

1998 年 4 月 24 日至 5 月 12 日兴山县水月寺镇孔子河小学校发生一起发疹性疾病, 根据临床表现和流行病学调查, 确定为水痘暴发, 现报告如下。

一、流行病学调查: 该校学生来自 5 个村, 共 4 个班 7 个年级(复式班)计 87 名, 其中住读生 74 人。发病 45 例, 患病率为 51.72%。首例病例出现于 4 月 24 日, 是浙江副业队带来的学生。5 月 4 日至 10 日为发病高峰, 发病 38 例(84.44%), 波及该校幼儿班及 1~6 年级学生。发病年龄 9 岁 11 例(24.44%)、12 岁 10 例(22.22%)。男生发病 22 例, 女生发病 23 例, 男女生之比为 0.96:1, 住读生发病 44 例, 走读生发病 1 例( $\chi^2=9.88, P<0.01$ )。

二、临床特点: (1) 所有病例均有发热, 腋下 39℃ 左右。(2) 全部病例均有发疹, 初起为头面部和躯干, 末期波及四肢, 呈离心性发展。初起呈红斑性丘

疹, 迅速发展成 2~4mm 大小的分散水泡, 浅在, 壁厚, 发疹 4~5 天后水泡基底红斑明显。(3) 由于搔痒抓挠而产生皮肤剥脱、血痂, 甚至溃疡。

三、暴发原因分析: 此次水痘暴发主要原因为: (1) 该小学地处深山峡谷, 因有两座小水电站处于新建之中, 外来副业工来往频繁, 所带小孩到该小学上学, 因患水痘造成校内传播, 是这次水痘暴发的主要原因。(2) 首例病人出现后, 乡村医生由于技术及其他原因, 未及时报告疫情, 并延误了对疫情的及时处理。(3) 该校建校 15 年来, 处于半封闭状态, 学生外出、交往少, 从未发生过水痘, 因而易感人群积累, 免疫力低下。(4) 学生从 7~12 岁进校住读, 由于年龄小, 自理、自控能力差。住读生睡觉时拥挤, 造成密切的皮肤接触及呼吸道感染。加之生活、学习的周围环境差, 学生饮食单一, 营养不足, 抵抗力差, 也是原因之一。

作者单位: 443700 湖北省兴山县卫生防疫站(文中义、王大军); 兴山县水月寺镇卫生院(曹一堂)

(收稿: 1999-01-28)