

首次调查发现山东省存在莱姆病自然疫源地

王丽娟 万康林 刘士礼 陈志林 冯开军 侯学霞 史翠霞

【摘要】 目的 调查山东省的莱姆病自然疫源地。方法 于 1992~1999 年,在山东省的山林地区设点,用间接免疫荧光抗体试验进行人群莱姆病感染调查,结合流行病学史、临床表现和实验室检查结果进行莱姆病病例诊断,对主要媒介蜱进行调查,用布旗法采集蜱类,分类鉴定,直接免疫荧光抗体法进行中肠带螺旋体率的调查,用 BSK 培养基分离病原,宿主动物调查,用鼠笼和鼠夹捕获鼠类,分类、解剖,取肾脏、膀胱等,用 BSK 培养基分离病原。结果 山东省的山林地区人群中存在莱姆病的感染,平均感染率为 6.25%。经个案流行病学调查,结合临床症状和血清学检查结果确诊典型病例 19 例,该地区的蜱类以长角血蜱为优势种,该蜱中肠携带莱姆病螺旋体率为 12.0%,从 86 组长角血蜱培养物中获得 2 株莱姆病螺旋体,肾脏带菌率检查 46 只鼠类,发现 6 只鼠的肾脏内带有典型的莱姆病螺旋体,带菌率为 13.04%。结论 首次调查证实山东省的山林地区存在莱姆病的自然疫源地。

【关键词】 莱姆病;莱姆病螺旋体;自然疫源地;长角血蜱

The first discovery of endemic Lyme disease in Shandong province WANG Lijuan*, WAN Kanglin, LIU Shili, et al. *Sanitation and Anti-epidemic Station of Shandong Province, Jinan 250014, China

【Abstract】 Objective To investigate the endemic area of Lyme disease in Shandong province. **Methods** An investigation on endemic Lyme disease was conducted by means of serological and etiological methods in Shandong province from 1992 to 1999. **Results** Of 1919 forestry residents, 120 residents had a significant antibody titer against *Borrelia burgdorferi* strain B₃₁. The prevalence rate of Lyme disease was 6.25%. *Haemaphysalis longicornis* was a prevailing species of *Ixodidae* in the region. Spirochetes were observed in the midguts of 50 *H. longicornis* in this area by direct fluorescence antibody method. The overall positive rate was 12.0% (6/50). Two strains (TSH₁, TSH₃) of spirochetes were isolated from *H. longicornis*. Both TSH₁ and TSH₃ were positively responded to McAb H₅₃₃₂ and H₉₇₂₄, but negatively to H₆₈₃₁. Spirochetes were observed in the kidneys of 46 *Rattus* in this area by direct fluorescence antibody method with a positive rate of 13.26% (6/46). **Conclusion** It was the first time that the mountainous areas in Shandong province was confirmed endemic areas of Lyme disease.

【Key words】 Lyme disease; *Borrelia burgdorferi*; Endemic area; *Haemaphysalis longicornis*

莱姆病是一种新发现的自然疫源性传染病^[1],世界五大洲 30 多个国家有本病发生,已被 WHO 列为需重点加以防制研究的疾病之一^[2]。调查发现莱姆病在我国具有广泛的分布,22 个省(市、自治区)的人群中存在莱姆病的感染,17 个省(市、自治区)存在莱姆病的自然疫源地^[3]。为了查明山东省是否存在莱姆病的自然疫源地,人群中莱姆病的感染及危害程度,我们于 1992~1999 年在全省选点进行了调查。

材料和方法

1. 调查点:根据山东省的具体情况,选取具有代

表性的鲁南地区的泰安、蒙阴和费县,鲁西北地区的莘县,胶东地区的牟平和栖霞等 6 个县(市)作为调查点。

2. 人群调查:抽样采集调查点的林业工人、林区居民和一定数量的非林区人群的静脉血 3 ml,用间接免疫荧光抗体试验(IFA)^[4]检测人血清抗莱姆病螺旋体抗体(IgG),以血清抗体效价 $\geq 1:128$ 者为阳性。对阳性者检测抗钩端螺旋体抗体的显微镜凝集试验和检测抗梅毒螺旋体抗体的非加热血浆反应素试验。如检测抗钩端螺旋体抗体和抗梅毒螺旋体抗体均为阴性者,可判为莱姆病血清抗体阳性。

3. 媒介生物调查:在调查点的山林地带,用布旗法和直接在牛、羊等动物体表捕获蜱类,鉴定分类后,用直接免疫荧光抗体试验(DFA)^[5]检查该地区优势蜱种的中肠携带莱姆病螺旋体情况,并且按 8~

作者单位:250014 山东省卫生防疫站(王丽娟、陈志林、冯开军);中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所(万康林、侯学霞、史翠霞);山东省费县卫生防疫站(刘士礼)

10 只一组,用 BSK 培养基分离培养莱姆病螺旋体^[6],33℃ 培养 7 d 后暗视野显微镜检查,以后每周检查 2~3 次,直至 3 个月后,仍为阴性者可放弃。

4. 宿主动物调查:在调查点的山林地带,用鼠笼和鼠夹捕获鼠类,分类鉴定后,无菌解剖,取其肾脏、膀胱各小块,分别接种于 BSK 培养基分离莱姆病螺旋体,33℃ 培养 7 d 后暗视野显微镜检查,以后每周检查 2~3 次,直至 3 个月后,仍为阴性者可放弃。同时,将鼠肾压片,干燥后,丙酮固定 15 min,用 DFA 检查肾脏携带莱姆病螺旋体情况。

5. 菌株的纯化和鉴定:对伴有杂菌生长的螺旋体培养物,采用微孔滤膜过滤法^[5]进行纯化,获得纯培养的螺旋体培养物,采用兔抗 B₃₁ 免疫血清和 H₅₃₃₂、H₆₈₃₁、H₉₇₂₄ 单克隆抗体,IFA 进行菌株的鉴定。

6. 主要试剂:莱姆病螺旋体 B₃₁ 抗原片、BSK 培养基和兔抗 B₃₁ 荧光抗体由中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所制备提供。羊抗人 IgG 荧光抗体购自上海生物制品研究所,羊抗兔和羊抗鼠荧光抗体购自北京生物制品研究所。H₅₃₃₂、H₆₈₃₁、H₉₇₂₄ 单克隆抗体由美国 Schwan 博士赠送。

结 果

一、人群莱姆病感染状况

本次采用血清学方法在 3 个地区 6 个县共调查 1 919 人,血清抗莱姆病螺旋体抗体阳性者 120 人,平均阳性率为 6.25%,其中鲁南地区为 7.05%,鲁西北地区为 9.84%,胶东地区为 5.76%,6 个县(市)的人群莱姆病感染率以蒙阴、莘县和牟平为高,费县次之(表 1)。在费县的调查发现林区人群(含林业工人和林区居民)695 人,阳性者 49 人,阳性率为 7.50%。林区人群的莱姆病感染率明显高于非林区人群的莱姆病感染率,林业工人的莱姆病感染率也明显高于林区居民的莱姆病感染率(表 2)。感染者中年龄最小者 10 岁,最大者 72 岁,各年龄组及性别间的莱姆病感染率的差异不明显。

经综合流行病学史(蜱叮咬史)、临床表现和血清学检查结果确诊莱姆病病例 19 例,其临床表现主要为关节炎(11 例)、慢性游走性红斑(6 例)和心脏异常(5 例)。

二、媒介蜱类中肠带螺旋体情况及其季节消长规律

表1 山东省调查点人群血清抗莱姆病螺旋体抗体阳性率

县(市)	检查人数	阳性例数	阳性率(%)
蒙 阴	170	18	10.59
莘 县	305	30	9.84
牟 平	412	39	9.47
费 县	525	31	5.90
栖霞	300	2	0.67
泰 安	209	0	0.00
合 计	1 919	120	6.25

表2 不同职业人群血清抗莱姆病螺旋体抗体阳性率

人 群	检查人数	阳性例数	阳性率(%)
林业工人	170	18	10.59
林区居民	525	31	5.90
非林区人	100	1	1.00
合 计	795	50	6.29

在调查点的山林地区共捕获到 900 只蜱,经鉴定均为长角血蜱(*Haemaphysalis*)。取 50 只的中肠,用 DFA 检查发现 6 只的中肠内有莱姆病螺旋体,带菌率为 12.0%。将 850 只长角血蜱分为 86 组培养,分离出 2 株疏螺旋体,命名为 TSH₁ 和 TSH₃。

长角血蜱的季节消长,经过每月定时定点的用布旗法在山林地区捕获蜱类,发现每年的 4~11 月份均能捕获到长角血蜱,但其活动呈双峰型,5 月上旬为一个大的活动高峰,而在 9 月中、下旬出现小的活动高峰。

三、宿主动物带菌调查

捕获鼠类 56 只,其中黑线姬鼠(*A. agrarius*) 30 只、大林姬鼠(*A. speciosus*) 11 只、褐家鼠(*R. norvegicus*) 12 只、棕背 (*C. rufocanus*) 2 只、大仓鼠(*C. triton*) 1 只。均进行了病原分离培养,结果还在观察之中。用 DFA 检查 46 只鼠类肾脏,发现有 6 只鼠的肾脏携带有典型的疏螺旋体,带螺旋体率为 13.26%。其中检查黑线姬鼠 21 只,阳性者 3 只;大林姬鼠 11 只,阳性者 1 只;褐家鼠 12 只,阳性者 1 只;棕背 2 只,阳性者 1 只。

四、分离菌株鉴定

新获得的螺旋体培养物,经纯化培养后,用兔抗 B₃₁ 荧光抗体和针对莱姆病螺旋体种属特异的 H₅₃₃₂、H₆₈₃₁ 和 H₉₇₂₄ 单克隆抗体鉴定,确定新分离的 2 株疏螺旋体为莱姆病螺旋体(表 3)。

表3 从长角血蜱分离的 2 株螺旋体的鉴定结果

菌株	分离地区	来 源	兔抗 B ₃₁	H ₅₃₃₂	H ₆₈₃₁	H ₉₇₂₄
TSH ₁	山东费县	长角血蜱	+	+	-	+
TSH ₃	山东费县	长角血蜱	+	+	-	+
M ₇	黑 龙 江	全钩硬蜱	+	+	-	+
B ₃₁	美国纽约	肩板硬蜱	+	+	+	+

讨 论

莱姆病是一种新发现的自然疫源性传染病,莱姆病螺旋体在蜱和动物之间循环,当人们进入疫区,通过蜱叮咬而被传染^[1]。我们调查发现,山东省的山林地区人群中存在莱姆病的感染,平均感染率为 6.25%。林区人群(含林业工人和林区居民)的莱姆病感染率明显高于非林区人群的莱姆病感染率,林业工人的莱姆病感染率也明显高于林区居民的莱姆病感染率,这与不同人群暴露于蜱环境,被蜱叮咬的机会密切相关,林业工人和林区居民被蜱叮咬的机会远远高于非林区人群。感染者中年龄最小者 10 岁,最大者 72 岁,但是各年龄组及性别间的莱姆病感染率的差异无显著性意义,证实人群对莱姆病螺旋体普遍易感。经综合流行病学史(蜱叮咬史)、临床表现和血清学检查结果确诊莱姆病病例 19 例,其临床表现以关节炎、慢性游走性红斑和心脏异常为主,证实山东省的人群中有莱姆病的发生,甚至流行。调查发现山东省山林地区的蜱类以长角血蜱为优势种,该蜱中肠携带有莱姆病螺旋体,带菌率为 12.0%,并从 86 组长角血蜱培养物中获得 2 株螺旋体,经鉴定,这 2 株螺旋体对兔抗 B₃₁ 荧光抗体和 3

个针对美国 B₃₁ 菌株的单克隆抗体的反应性,与国内菌株 M₇ 的反应性相同,而与美国菌株 B₃₁ 略有差异,证实为中国莱姆病螺旋体。调查发现 46 只鼠中有 6 只鼠的肾脏携带有典型的疏螺旋体,带螺旋体率为 13.26%,黑线姬鼠的带菌率达 14.24%(3/21),是当地莱姆病螺旋体的一种重要的宿主动物。首次从病原学上证实山东省山林地区存在莱姆病的自然疫源地。

参 考 文 献

- 1 Steere AC. Lyme disease. N Engl J Med, 1989, 321:586-596.
- 2 万康林,张哲夫.莱姆病的流行病学.中华流行病学杂志,1997, 18:187-188.
- 3 万康林.中国莱姆病的研究现状与展望.中国媒介生物学及控制杂志,1998,9:401-405.
- 4 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.
- 5 万康林,张哲夫,冀桂兰,等.中国莱姆病螺旋体主要生物媒介的调查研究.中华流行病学杂志,1998,19:263-266.
- 6 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.
- 7 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.

(收稿日期 2000-02-02)