

我国莱姆病螺旋体生物媒介的初步调查*

中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所*

张哲夫 窦桂兰 张金声 万康林 朱桂凤 郑理 王宏英 侯学霞

提要 自1987年以来,我们在全国开展了莱姆病调查,从黑龙江、吉林、辽宁、内蒙、河北、新疆、湖北、四川、福建和北京等省、市采集的全沟硬蜱、粒形硬蜱、壤塘硬蜱、嗜群血蜱、二棘血蜱和长角血蜱分离出71株莱姆病螺旋体,其中55株从全沟硬蜱分离。全沟硬蜱是东北和西北针阔叶林区的优势蜱种,其带菌率为20~45%,表明全沟硬蜱是我国北方莱姆病螺旋体的主要生物媒介。虽然从我国南方的某些硬蜱属和血蜱属种类分离到莱姆病螺旋体,但是南方的主要生物媒介还不清楚。从我国蜱体内分离的螺旋体在超微结构、单克隆抗体反应和外表蛋白等方面与美国菌株有某些区别。

关键词 莱姆病螺旋体 生物媒介 全沟硬蜱

莱姆病螺旋体是通过某些硬蜱的吸血活动传播到人和动物的,在北美主要是丹敏硬蜱(*Ixodes dammini*)^[1]、太平洋硬蜱(*Ixodes pacificus*)^[2]和肩板硬蜱(*Ixodes scapularis*)^[3],在欧洲主要是蓖麻硬蜱(*Ixodes ricinus*)^[4],并且还从革蜱^[5]、花蜱^[6]和扇头蜱^[7]发现有该病的螺旋体。1987年我们首次从全沟硬蜱分离到莱姆病螺旋体^[8],近几年在10个省、市从3种硬蜱和3种血蜱分离到莱姆病螺旋体,现报道如下。

材料和方法

一、蜱的收集:1987~1992年,在黑龙江、吉林、辽宁、内蒙、河北、新疆、湖北、四川、福建和北京等地用布旗法采集林区草地上的蜱,少数蜱从野鼠、狗和牛体上采集,共采集蜱约万只,其中有全沟硬蜱(*Ixodes persulcatus*)、粒形硬蜱(*Ixodes granulatus*)、壤塘硬蜱(*Ixodes rangtangensis*)、森林革蜱(*Dermacentor silvarum*)、边缘革蜱(*Dermacentor marginatus*)、嗜群血蜱(*Haemaphysalis concinna*)、二棘血蜱(*Haemaphysalis bispinosa*)、长角血蜱(*Haemaphysalis longicornis*)、亚洲璃眼

蜱(*Hyaloma asiaticum*)和微小牛蜱(*Boophilus microplus*)。

二、蜱的中肠带菌检查:用直接荧光抗体法检查蜱的带菌情况,取蜱的中肠涂片,丙酮固定,用兔抗B31 IgG荧光抗体(本所制备,批号88-1、89-1、90-1)染色。

三、螺旋体的分离:先用灭菌生理盐水将蜱洗3次,然后浸泡于70%酒精30分钟,再用生理盐水洗一次,用灭菌滤纸吸干,以2~5只蜱为一组,放入含有0.5ml BSK培养基的研磨器中,研成悬液,取0.25ml上清接种于BSK培养管中,放33℃培养,每周用暗视野显微镜检查一次。

四、菌种鉴定:

1.形态学:将培养5~7天的M7菌株以5000 r/min离心沉淀20分钟,把沉淀物悬浮于双蒸水,使菌体浓度合适,滴于带有Form-ver膜的铜网上,用2%PTA进行负染色,用上海DXB2-12电镜检查。

2.SDS-PAGE 蛋白图形:试验方法参照Laemmli法^[9]。用10%丙烯酰胺进行电泳,以

* 卫生部科学研究基金资助课题

* 北京, 邮政编码 102206

考马斯亮蓝R-250染色。

3.单克隆抗体反应：单克隆抗体H5332、H6831和H9724由美国Schwan博士赠送。用间接荧光抗体方法对分离菌株进行鉴定^[10]。

结 果

一、不同蜱的带菌及其病原分离结果：

1987~1992年，对从黑龙江、吉林、辽宁、内蒙、河北、新疆、湖北、四川、福建和北京等省、市采集的蜱进行了带菌和病原分离。从全沟硬蜱、粒形硬蜱、壤塘硬蜱、嗜群血蜱、二棘血蜱和长角血蜱分离出莱姆病螺旋体，并发现森林革蜱和微小牛蜱的中肠携带有莱姆病螺旋体。1.全沟硬蜱：在黑龙江、吉林、辽宁、内蒙、河北和新疆等6省区共采集6 000余只蜱，其中有硬蜱属、革蜱属、血蜱属和璃眼蜱属。全沟硬蜱占80%。全沟硬蜱带菌率：黑龙江省牡丹江林区全沟硬蜱成虫带菌率为45% (41/90)，内蒙大兴安岭林区为40% (16/40)，新疆天山西段林区（博乐）为40% (4/10)。从全沟硬蜱分离莱姆病螺旋体：从黑龙江、吉林、辽宁、内蒙、河北和新疆等地林区采集的980只全沟硬蜱分为179组，共分离出55株螺旋体（表1）。2.粒形硬蜱：从福建省建阳县捕捉的野鼠体上采集50只粒形硬蜱，以5只为

1组，分离出1株螺旋体。3.壤塘硬蜱：在湖北省兴山县采集5只壤塘硬蜱，分离出1株螺旋体。4.嗜群血蜱：在辽宁省桓仁县采集250只嗜群血蜱，分为6组接种BSK培养基，从4个组分离出4株螺旋体。5.二棘血蜱：从四川省南川县采集50只二棘血蜱，取中肠涂片，直接荧光抗体法检查，带菌率为40%。从50只二棘血蜱分离出8株螺旋体。6.长角血蜱：从北京北部山区采集的长角血蜱分离出1株螺旋体。7.森林革蜱：从内蒙明水林区采集73只森林革蜱，用直接荧光抗体法检查中肠涂片，3只为阳性，带菌率为4.1%。8.微小牛蜱：从四川省南川县收集47只微小牛蜱，用直接荧光抗体法检查中肠涂片，3只为阳性，带菌率为6.38%。

二、菌种鉴定：

1.超微结构：用电镜比较了从全沟硬蜱分离的M7菌株和美国丹敏硬蜱分离的B31菌株，两者在形态上大致是一致的，但在超微结构上有差别，特别是鞭毛数目不同，B31菌株为有7和11根鞭毛组成的二类螺旋体，而M7菌株至少有7和12根鞭毛组成（图1，见封3）。

2.单克隆抗体反应：从分离到的71株螺旋体中，选出生长良好的20个菌株，用H5332、H6831和H9724单克隆抗体进行间接荧光抗体试验，结果见表2。

3.SDS-PAGE 蛋白图形：试验的菌株，有黑龙江的PD89、M7、H20；内蒙的IM4、IM9、IM25、IM26；四川的SH2；新疆的XI12；辽宁的LH8。用美国菌株B31与黑龙江菌株H20进行SDS-PAGE蛋白图形对比时（另文发表），H20的OspA分子量为31KD，与B31的OspA分子量相同；但是H20的OspB为35.5KD，分子量大于B31的OspB(34KD)。我国其他菌株OspA的分子量位于31.5~32KD，OspB的分子量为36KD（图2，见封3），而且我国菌株IM9和IM26还具有PC(20~22KD)蛋白，这些都明显不同于北美菌株（图2，见封3）。

表1 从我国全沟硬蜱分离出莱姆病螺旋体菌株情况

地 区	蜱数	组数	菌株数
黑龙江 柴 河	109	22	3
海 林	24	8	2
吉 林 浑 江	136	25	3
辽 宁 宽 甸	24	4	3
桓 仁	19	3	3
内 蒙 呼 伦 贝 尔	475	80	30
兴 安	26	5	4
河 北 围 场	31	6	2
新 疆 博 乐	100	20	4
阜 康	36	6	1
共 计	980	179	55

表2

我国和美国菌株对三种单克隆抗体反应的比较

菌株	地区	来源	Monoclonal Antibodies		
			H5332	H6831	H9724
B31	纽约	<i>I. dammini</i>	+	+	+
M7	黑龙江	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
H11	黑龙江	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
H20	黑龙江	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
IM11	内蒙	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
IM19	内蒙	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
IM25	内蒙	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
IM26	内蒙	<i>I. persulcatus</i>	-	-	+
XI3	新疆	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
XI5	新疆	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
XI12	新疆	<i>I. persulcatus</i>	+	-	+
XI18	新疆	<i>I. persulcatus</i>	-	-	+
XI23	新疆	<i>I. persulcatus</i>	-	-	+
LI11	辽宁	<i>I. persulcatus</i>	-	-	+
LH61	辽宁	<i>H. concinna</i>	+	-	+
LH64	辽宁	<i>H. concinna</i>	-	-	+
SH1	四川	<i>H. bispinosa</i>	+	-	+
SH2	四川	<i>H. bispinosa</i>	+	-	+
SH3	四川	<i>H. bispinosa</i>	+	-	+
SH4	四川	<i>H. bispinosa</i>	+	-	+
FL1	福建	<i>I. granulatus</i>	+	-	+

讨 论

美国学者 Burgdorfer 认为莱姆病螺旋体从动物传播到人的主要生物媒介是蓖麻硬蜱种群^[11]，在北美是丹敏硬蜱和太平洋硬蜱，在欧洲是蓖麻硬蜱。在我国，经过几年调查，在东北、西北和华北地区，莱姆病螺旋体的主要生物媒介是全沟硬蜱，其依据：1，经我们和其他人的工作^[12]证明全沟硬蜱是我国北方林区的优势种。2，全沟硬蜱携带莱姆病螺旋体的比例在黑龙江、吉林、内蒙和新疆等省区为 20~45%，其他蜱种不携带或携带比例较低。3，全沟硬蜱成虫的季节消长和慢性游走性红斑病人发生时间是一致的^[13]。虽然我们从南方地区某些硬蜱属和血蜱属分离出莱姆病螺旋体，但是我国南方地区传播莱姆病螺旋体的主要生物媒介尚不清楚。二棘血蜱可能是长江流域莱姆病

螺旋体的重要生物媒介，但是有些学者认为血蜱属在传播莱姆病螺旋体中的作用尚需进一步研究^[14,15]。

从我国不同蜱分离的螺旋体，在超微结构、单克隆抗体反应和外表蛋白等方面，与北美菌株有明显区别，这些区别可能在流行病学和临床学上有重要意义，并对进一步研究莱姆病螺旋体生物学特性和制备预防制剂提供了重要依据。

Survey on Tick Vectors of Lyme Disease Spirochetes in China Zhang Zhefu, et al., Institute of Epidemiology and Microbiology, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing

Since 1987 we have been studying on Lyme disease in China. There were 71 isolates of *Borrelia burgdorferi* recovered from six species of ticks including *Ixodes persulcatus*, *Ixodes granulatus*,

Ixodes rangtangensis, *Haemaphysalis concinna*, *Haemaphysalis bispinosa* and *Haemaphysalis longicornis*, and 55 isolates from *Ixodes persulcatus* collected from Heilongjiang, Jilin, Liaoning, Nei-Monggol, Hebei and Xinjiang region (province). *Ixodes persulcatus* is the dominant species accounted for more than 80% of the total number of collected ticks, 20 or 45 per cent adult *Ixodes persulcatus* contained spirochetes as determined by direct immunofluorescence in the northeast and northwest. The seasonal change of adult *Ixodes persulcatus* is coincident with that of the patient with Erythema migrans. These studies proved that *Ixodes persulcatus* play the leading role in transmission of *Borrelia burgdorferi* to human in north region of China. It is not clear what species of tick is the principle vector in the south region of China, though the spirochetal isolates were cultivated from *Haemaphysalis bispinosa*, *Ixodes granulatus* and *Ixodes rangtangensis*. Comparison between Chinese strains of spirochetes from ticks and American strain B31 in Ultrastructure, monoclonal antibodies reaction and outer surface protein profile revealed certain differences.

Key words Lyme disease Spirochetes vector *Ixodes persulcatus*

参 考 文 献

1. Burgdorfer W, et al. Lyme disease—a tick-borne spirochetosis? *sciences* 1982; 216: 1317.
2. Burgdorfer W, et al. The western black-legged tick, *Ixodes pacificus*, a vector of *Borrelia burgdorferi*. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 925.
3. Magnarelli LA, et al. Spirochetes in ticks and antibodies to *Borrelia burgdorferi* in white-tailed deer from Connecticut, New York state, and North Carolina. *J wildl dis* 1986; 22: 178.
4. Barbour AG, et al. Isolation of a cultivable spirochetes from *Ixodes ricinus* ticks of Switzerland. *Current Microbiol* 1983; 8: 123.
5. Anderson JF, et al. Identification of endemic foci of Lyme disease; Isolation of *Borrelia burgdorferi* from feral rodents and ticks (*Dermacentor variabilis*). *J Clin Microb* 1985; 22(1): 36.
6. Schulze TL, et al. *Amblyomma americanum*, A potential vector of Lyme disease in New Jersey. *Science* 1984; 224: 601.
7. Rawlings JA. Lyme disease in Texas. *Zbl Bakt Hyg* 1986; A263: 483.
8. 张哲夫, 等. 我国东北林区莱姆病的调查. *中华流行病学杂志* 1988; 9(1): 封2.
9. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)* 1970; 680.
10. Barbour AG, et al. Polymorphisms of major surface proteins of *Borrelia burgdorferi*. *Zbl Bakt Hyg* 1986; 263: 83.
11. Burgdorfer W. Vector/host relationship of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *Rheum Dis Clin N Amer* 1989; 15: 775.
12. Chen Guoshi, et al. patterns of spacial structure of ticks and their relations to natural foci of infections. *Chinese J of Epidemiology* 1989; 10 (Suppl 3): 353.
13. 张哲夫, 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(3): 154.
14. Anderson JF. Epizootiology of Lyme Borreliosis. *Scandinavian J of Infect Dis*. 1991; (Suppl 77): 23.
15. Burgdorfer W, et al. Pathophysiology of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in Ixodid ticks. *Reviews of Infect Dis* 1989; 11 (Suppl 6): 1442.

我国莱姆病螺旋体生物媒介的初步调查

正文见271页

正文见271页



图1 M7菌株的一端

- a. 可见7根鞭毛和鞭毛插入点, $\times 25\ 000$
b. 可见12根鞭毛和鞭毛插入点, $\times 25\ 000$
(比原图缩小1/3)

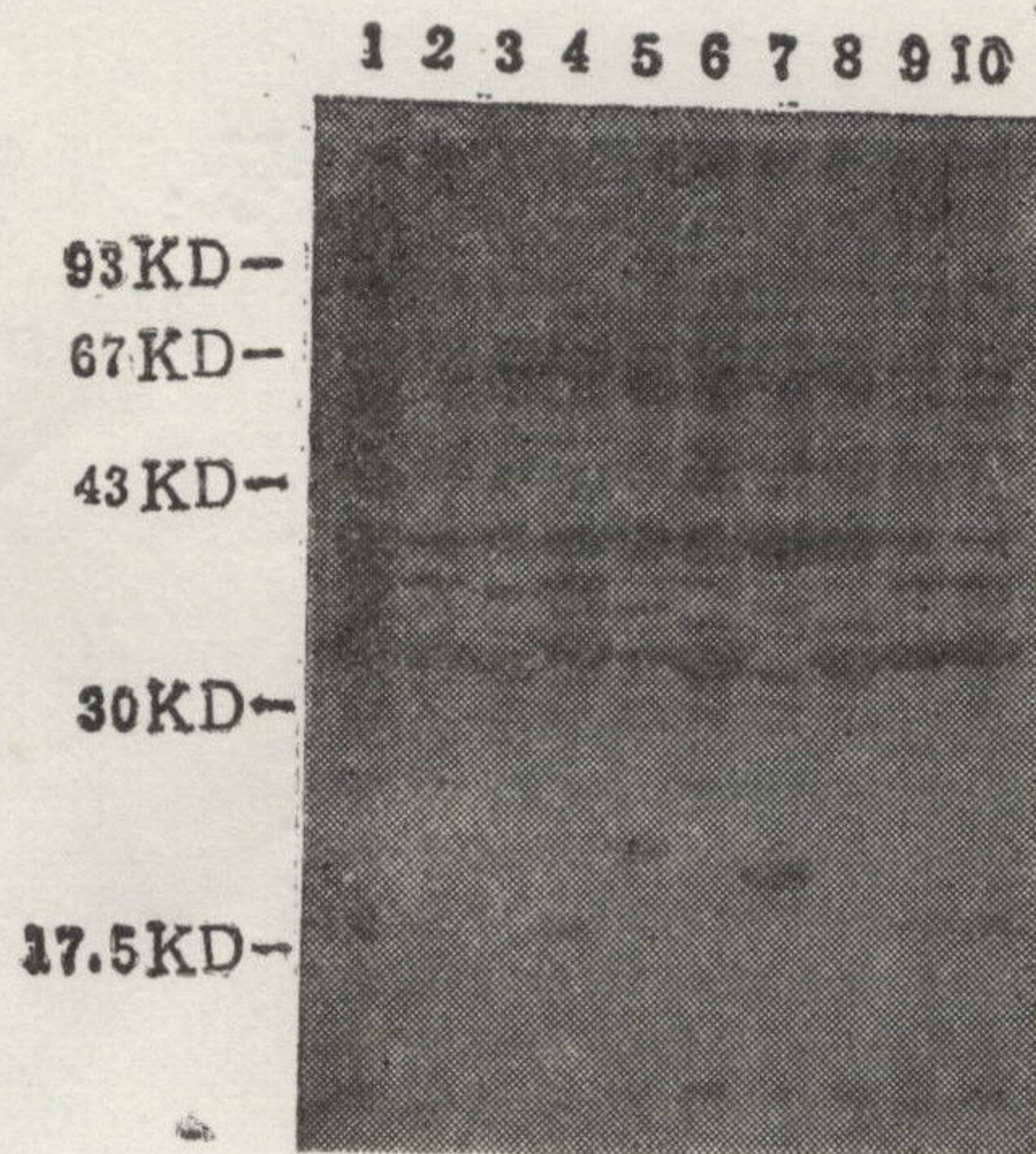


图2 我国菌株SDS-PAGE蛋白图形

1. PD89, 2. M7, 3. H20, 4. IM4, 5. IM9, 6. IM25, 7. IM26, 8. SH2, 9. XI12, 10. LH8. PD89从病人分离, 其余菌株从蜱分离。

一起水型细菌性痢疾爆发流行的调查分析

河南省信阳铁路卫生防疫站* 杨 吉力 张江波 陈宏超 褚树斌 胡新秀

1992年1月, 信阳市铁路地区因水源污染造成一起急性细菌性痢疾爆发流行。调查分析如下。

1. 本次爆发局限于信阳市使用单独水源的铁路地区, 从1991年12月31日开始到1992年1月17日流行终止, 共发病121例, 发病率为37.3/万。而不使用同一水源与铁路地区只有一铁路干线相隔的信阳市区, 同期内发病率为0.059/万, 差异具有显著性意义($\chi^2=621.32$, $P<0.005$)。各年龄组和各职业均有发病, 男女发病无显著性差异($P>0.1$)。

2. 本次爆发发生于冬季, 水源处于严重的枯水期, 分析认为, 水源污染是由直接排入河内的污水造成。1991年12月份又降了一次大雪, 雪融化后将沿河两岸菜地的生粪尿带入河内, 增加了水源污染的程度。水源水细菌总数和大肠菌群均严重超标, 并检出1株

痢疾杆菌。

3. 本次爆发的流行特征: ①发病与供水范围一致, 与直接使用污染水源水有关。②发生于大雪过后的冬季枯水期, 雪融化一周后出现流行高峰, 对饮水采取消毒措施后, 疫情迅速扑灭, 未出现流行“尾巴”。③78.5%的病例集中发生于1992年1月6至13日的一个最长潜伏期内, 形成一个短暂的高峰。④患者一般病情轻、病程短、恢复快。⑤水源与病人粪便中检出的痢疾杆菌菌型完全一致, 都是F2a。

(本文承蒙章扬熙主任医师审阅, 表示衷心感谢, 陈凤玲、朱从中、张六芾、朱全卿、张相兰等同志给予大力协助, 一并致谢)

* 邮政编码 464000