

中国蜱传脑炎研究进展

吕志 梁国栋

【关键词】 蜱; 蜱传脑炎

Advances in research on tick-borne encephalitis in China
LY Zhi, LIANG Guo-dong. State Key Laboratory for Infectious
Disease Control and Prevention, National Institute for Viral
Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease
Control and Prevention, Beijing 100052, China

Corresponding author: LIANG Guo-dong, Email: gdliaog@
hotmail.com

【Key words】 Tick; Tick-borne encephalitis

蜱传脑炎(tick-borne encephalitis)是经蜱传播的由蜱传脑炎病毒(TBEV)引起的急性重症神经系统疾病。我国于1943年发现该病,1952年从患者及蜱中分离到蜱传脑炎病毒^[1],并于东北、西北、西南等地区陆续发现多个自然疫源地^[2]。该病临床症状重,多伴有后遗症,病死率高,曾为我国法定职业传染病之一^[3]。近年来,由于地球气候变暖,使该病疫源地传播媒介活动季节延长、活动区域扩大,进而使蜱传脑炎有扩大流行的趋势^[4]。本文是对我国近年来开展蜱传脑炎相关工作的综述。

一、中国蜱传脑炎自然疫源地现状

蜱传脑炎属自然疫源性疾,其分布与传播媒介密切相关,具有明显的地域性^[5]。我国蜱传脑炎主要分布在与俄罗斯等蜱传脑炎流行国家接壤的地区,包括东北部地区的长白山与大小兴安岭的林区以及新疆的天山北坡和阿尔泰山南坡林区^[5,6]。此外,在云南、西藏地区也有相关报道^[7,8],但因缺少相关病原的序列信息,加之地域上传播媒介的差异,本文暂将这两个地区定为蜱传脑炎的疑似疫源地。

1. 东北地区疫源地:包括吉林、黑龙江和内蒙古东北部的山林地带,该地区环境适宜、林区类型多样、动植物种类丰富,加之采伐年代长,林业工作人数多,蜱传脑炎病例数占全国90%以上,是我国最典型的蜱传脑炎流行区。该疫区可具体分为长白山、小兴安岭和大兴安岭地区3个疫源地^[2]。

(1)长白山疫源地:该疫区位于松花江以南,包括张广才岭、老爷岭、长白山、龙岗山、哈达岭、土们岭等山地林区;晖春、汪清、敦化、和龙、抚松、桦甸、靖宇、浑江、临江、辉南、长白、安图、蛟河等市(县)均有该病报道,其中抚松县、浑江市、敦化县发病率较高,病例几乎连年出现^[2]。当地蜱传脑炎的传播媒介主要是全沟硬蜱,其次为嗜群血蜱、日本血蜱

和森林革蜱;花鼠、大林姬鼠可能是重要储存宿主。全沟硬蜱在3月底至4月初开始活动,5月达高峰;人群发病的时间通常较蜱的活动时间推后2周,发病人群以在原始针阔混交林环境工作的林业工人为主^[2]。

(2)小兴安岭疫源地:小兴安岭是位于松花江以北、黑龙江以南的大片林区。全沟硬蜱为当地优势蜱种,蜱数量高峰季节较长白山地略晚,其变化规律相似^[2]。宿主动物以啮齿类为主。黑龙江省蜱传脑炎最早从1952年起有正规记载,1952年发病率最高,全省发病率达3.17/10万,病死率为25.72%。1953年以后,全省推行注射蜱传脑炎疫苗,开展综合性防制措施,发病率明显下降,但根据1952—1998年蜱传脑炎发病统计分析,每隔5~7年有一次发病高峰^[1]。1980—1998年全省蜱传脑炎共报告发病2202例,年平均发病116例,年平均发病率为0.33/10万;1994年以前牡丹江、松花江、伊春地区发病率较高,1995—1998年则主要分布于伊春、双鸭山、鸡西、哈尔滨地区^[1]。当地蜱传脑炎有明显职业发病特点,林业工人、筑路工人以及经常接触牛、马、羊的农牧民易感染。

(3)大兴安岭疫源地:当地媒介蜱有全沟硬蜱、嗜群血蜱和森林革蜱;全沟硬蜱占71%,6月上、中旬是其生长繁殖的高峰季节,宿主动物主要是啮齿类,其他动物感染率不高^[2]。1955年内蒙古大兴安岭图里河林业局发生首例蜱传脑炎。1990—1993年先后有12个林业局发现疑似蜱传脑炎病例24例,1994年大面积暴发蜱传脑炎98例。1992—1993年在全沟硬蜱中和疑似蜱传脑炎死亡的患者脑组织标本中分离到蜱传脑炎病毒,从而证实内蒙古大兴安岭为蜱传脑炎自然疫源地^[9]。

2. 新疆地区疫源地:该疫源地位于新疆天山、阿尔泰山海拔1300~2300m之间的森林草原带及亚高山草甸草原带的阔叶林、针阔混交林及针叶林杂类景观中;全沟硬蜱是主要媒介。1957年6月初在新源县天山林区的林业工作人员中首次观察到3例患者,后经流行病学和血清学证实为蜱传脑炎;1959年新疆卫生防疫站对巩留县小莫河林场进行疫源地调查,证实该地林区为本病自然疫源地^[6]。2004年对在新疆南部地区采集的5045只蜱进行黄病毒属引物检测,无阳性反应^[10];提示新疆南部地区蜱传脑炎病毒可能并不活跃。

3. 云南地区疫源地:该疫源地主要位于云南省西部,属于亚热带雨林气候,与我国东北地区在地理景观、气候条件上均有较大差异。媒介蜱亦有不同,卵形硬蜱和微小牛蜱为当地优势蜱种,携带病毒^[7,11],为当地主要传播媒介。中华姬鼠、克钦城鼠和社鼠在云南省西部山地数量多,病毒分离率高,为重要宿主;此外,在高黎贡山、大理、西双版纳、思茅等

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.06.026

作者单位:100052 北京,中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所 传染病预防控制国家重点实验室

通信作者:梁国栋,Email: gdliaog@hotmail.com

地区鼠类、鸟类、猴子、鼠兔和蝙蝠等多种野生动物均检测出蜱传脑炎病毒及其抗体^[7]。

高黎贡山地区发热患者和健康人群血清的远东型蜱传脑炎抗体阳性率分别为 30.55% 和 19.66%。对云南省其他 9 个县(临沧、西双版纳、孟连、丽江、盈江、施甸、迪庆、元阳、蒙自)的健康人群血清进行蜱传脑炎病毒抗体检测,有 8 个县检测到远东型蜱传脑炎病毒抗体,其中以临沧、迪庆、元阳县较高,分别为 18.6%、16.95% 和 10.15%。这些结果提示,云南大部分地区可能存在蜱传脑炎相关病毒^[7]。

尽管云南地区有病毒分离的报道,但缺乏相关的毒株序列信息,加之传播媒介并非是蜱传脑炎的典型传播媒介,而且地域上与明确的自然疫源地相距较远。考虑到蜱传脑炎同一血清组中有多个抗原性相似的病毒,可能存在抗原交叉反应,因此尚需要分子生物学证据进行分类,故本文中暂将其定为蜱传脑炎疑似疫源地。

4. 西藏地区疫源地: 该疫源地主要位于气候湿润的林芝地区。1993 年对当地人群蜱传脑炎血清抗体调查显示,在不同人群中的抗体阳性率分别为: 农民 11.24% (38/338), 学生 5.03% (10/199), 军人 4.10% (20/488)。林芝地区出生者抗体阳性率为 12.26% (32/261), 其余地区出生者阳性率为 4.71% (38/764), 在当地居住 < 5 年组阳性率为 4.20% (22/524), > 5 年组阳性率为 9.18% (46/501)。表明在该地居住时间越长, 感染的可能性越大, 抗体的阳性率越高^[6]。与云南地区情况相似, 当地缺乏病毒株的序列信息, 因此本文中倾向将该地区定为蜱传脑炎疑似自然疫源地。

二、我国蜱传脑炎病毒的鉴定与分类

蜱传脑炎病毒是黄病毒科黄病毒属成员, 主要流行于欧洲、亚洲的俄罗斯、日本及中国等地区。2005 年国际病毒命名委员会将蜱传脑炎病毒分类为 3 个亚型, 分别为欧洲亚型、西伯利亚亚型和远东亚型。蓖麻硬蜱是欧洲型蜱传脑炎病毒的传播媒介, 另外两种亚型病毒主要由全沟硬蜱传播。远东型蜱传脑炎病毒毒力最强, 患者感染后通常表现为重症脑炎, 病死率高达 5% ~ 35%, 常伴有后遗症; 而欧洲亚型病毒引起的患者症状较前者轻微, 病死率大约为 1%, 较少出现后遗症^[12]。

1. 东北地区病毒株鉴定与分类: 蜱传脑炎病毒(森张株)于 1953 年分离自东北林区, 后该株病毒应用于我国蜱传脑炎疫苗的研制, 是我国东北地区蜱传脑炎的代表株。其编码区序列全长 10 245 个碱基, 包含一个阅读框架编码病毒所有蛋白^[13]。5' ~ 3' 分别编码结构蛋白(衣壳蛋白 C、膜蛋白 prM、包膜蛋白 E)和非结构蛋白(NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b、NS5)。非编码区(UTR)位于阅读框架两侧。同 Oshima5-10、Sofjin-HO、Vasilchenko、Neudoerfl、263、Hyp 相比, 森张株在结构蛋白与非结构蛋白中存在 16 个特异性氨基酸变异, 并且这些氨基酸仅在森张株发生变异, 其余 6 株均保守^[13]。森张株 5' UTR 长 129 nt, 较其他蜱传脑炎病毒短, 且其 5' UTR 在 49、50 位占存在连续 2 个核苷酸缺失^[14]。

通过对森张株(1953 年东北林区患者脑组织分离株)、

MDJ01 株(2001 年牡丹江林业中心医院脑炎患者血清分离株)、DXAL5 株(大兴安岭林区分离株)等的 E 蛋白编码区进行系统进化分析显示, 这几株病毒均为远东亚型(图 1)^[15,16]。此外, 宋宏等^[17]对 T 株(2001 年东北林区全沟硬蜱分离株)和 H 株(2001 年东北林区脑炎患者脑组织分离株)的部分 E 蛋白的编码区进行系统进化分析结果显示这 2 株病毒也均为远东亚型。这些结果提示, 我国北方地区流行株为远东亚型。

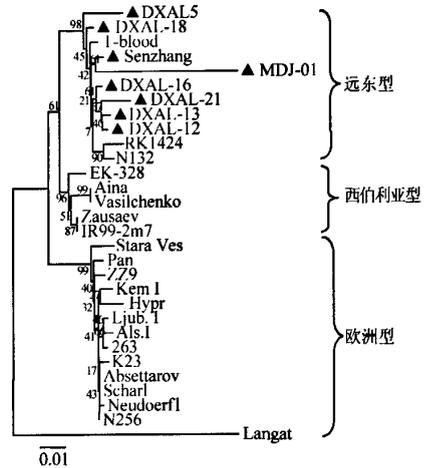


图 1 蜱传脑炎中国分离株 E 基因氨基酸序列系统发生树分析

2. 云南地区病毒株鉴定: 1989 年黄文丽等^[17]从云南省怒江州捕获的两组卵形硬蜱分离到 2 株病毒 T56 和 T57, 从 1 例高热患者血中分离到 1 株病毒 YH; 杨蓝萍等^[11]从微小牛蜱及大马蹄蝠脑组织中分离出 2 株病毒。电镜结果显示, 这几株病毒均呈球形, 直径约为 42 ~ 62 nm, 有囊膜, 囊膜内有电子密度较高的核衣壳。病毒颗粒有包膜, 不耐酸, 对乙醚和氯仿等敏感, 能抵抗 5-氟脱氧尿苷。能在 BHK、Vero、猪胚肾、鼠胚细胞中生长繁殖并产生病变; 也可在鸡胚的羊膜腔、尿囊腔、尿囊膜及卵黄囊中生长并致鸡胚死亡; 接种乳小白鼠均能引起发病死亡。交互血凝抑制试验、交互中和试验等提示, 这些病毒抗原性与远东型蜱传脑炎最为接近; 毒力试验显示, 云南病毒株毒力稍弱, 云南蜱传脑炎病毒与东北蜱传脑炎病毒相比较, 对各种动物的致病性相似, 但又有明显的出血现象。有鉴于此, 云南地区蜱传脑炎病毒株与东北地区病毒株存在一定变异或者这些毒株可能属于其他抗原性相近的病毒, 进一步的鉴定有赖于病原体基因组序列信息的获得。

三、蜱传脑炎的实验室诊断、预后

蜱传脑炎诊断主要靠疫区居留史、蜱叮咬史、流行季节、临床表现和特异性血清学检测。因其病征与其他脑炎相似, 故其确诊主要依赖血清学抗体的检测、病毒分离及分子生物学方法。采用 IgM 捕获 ELISA 法, 该方法简单、敏感、特异, 适用于蜱传脑炎的早期诊断。蜱传脑炎病毒 IgM 特异性抗体在病后 1 周内滴度较高, 病后 2 周左右达到高峰, 然后迅速下降, 5 个月后基本消失。此外, 胡玉洋等^[18]应用实时定量

TaqMan PCR 检测蜱传脑炎病毒核酸,为蜱传脑炎诊断的快速检测提供佐证。

我国蜱传脑炎以远东型为主,临床症状重,常伴有后遗症。在对 542 例蜱传脑炎病例分析发现,有 90 例(16.6%)于蜱传脑炎病程中期或恢复后期遗留不同程度的多种后遗症。其中痴呆 6 例(6.6%),癫痫 12 例(13.3%),头部下垂或无力 7 例(7.7%),震颤 15 例(16.6%),单侧肢体弛缓性瘫 11 例(12.2%),精神障碍 14 例(15.5%),类神经衰弱症状 25 例(27.7%),丧失劳动能力 32 例,占伤残总数的 35.5%^[19]。

四、蜱传脑炎的预防控制

蜱传脑炎是可以预防的疾病,通过疫苗接种得到保护。我国于 1953 年研制出鼠脑和鸡胚组织蜱传脑炎灭活疫苗^[20]。1967 年,我国研制了地鼠肾细胞灭活疫苗,其免疫效果比鸡胚组织灭活疫苗有所提高,毒种为森张株。疫苗中含有人白蛋白稳定剂,甲醛和硫柳汞最终浓度分别为 0.05%、0.005%。基础免疫为 2 针,间隔 7~10 d,剂量分别为 2.0 ml 和 3.0 ml,以后每年连续加强接种 3.0 ml^[20]。地鼠肾细胞灭活疫苗为我国独创,为防治蜱传脑炎作出了重要贡献,但疫苗抗原含量低,使用剂量大,副反应发生率高,免疫效果欠佳^[20]。

2001 年我国自主开发的地鼠肾细胞纯化疫苗研制成功。疫苗株仍选用森张株。该疫苗采用高生物技术,疫苗免疫保护力指数均 $\geq 10 \times 10^6$,杂蛋白去除率 $\geq 99\%$,小牛血清蛋白去除率 $> 99\%$,符合国家 2000 年版“中国生物制品规程”标准^[20]。该疫苗免疫程序为基础免疫 2 针,间隔 14 d,剂量均为 1.0 ml。动物试验结果表明,该纯化疫苗免疫 2 针比原灭活疫苗免疫 3 针的免疫保护力指数高 10 倍以上,具有良好的免疫原性。2002 年 8 月 I 期临床观察结果显示,接受试验的 20 名志愿者,接种 2 针疫苗后的血清中和抗体阳转率达 100%,且均未发生任何全身或局部不良反应^[21]。2005 年进行 II、III 期临床观察,结果显示,接种纯化疫苗 611 人(完成全程观察 607 人),均未发生全身不良反应,5 例仅有注射部位疼痛感;而对照组接种原灭活疫苗 104 人,局部和全身不良反应发生率分别为 23.08% 和 15.38%。志愿者接种 2 针纯化疫苗后的血清中和抗体阳转率超过 85%,而对照组接种 2 针原灭活疫苗后的血清中和抗体阳转率为 26.9%。纯化疫苗有效地克服了蜱传脑炎灭活疫苗副反应重、免疫效果不理想的缺点^[22],是我国目前较理想的蜱传脑炎疫苗。

由于在我国北部地区林业工作者中疫苗的应用,使得该病发病率较以前明显下降。全国目前也仅黑龙江地区将其列为省自行管理的乙类传染病。但是应该意识到,病毒滋生的疫源地并没有消除,而且随着全球气候的变化,使得疫源地的扩散成为可能。随着旅游业和经济合作的迅速发展,越来越多的易感人群进入疫区,增加了感染的概率。因此,蜱传脑炎的预防控制工作仍然任重而道远。

参 考 文 献

- [1] 尹德铭,刘瑞璋. 对中国东北林区森林脑炎防治研究的回顾. 中华流行病学杂志, 2000, 21(5): 387-389.
- [2] 毕维铭,邓厚培,卜笑妍. 森林脑炎自然疫源地地区划研究. 首都师范大学学报(自然科学版), 1997, 18(2): 100-107.
- [3] 张殿鸿,张志学,王耀明,等. 黑龙江省森林脑炎疫情趋势分析. 疾病监测, 2000, 15(2): 57-58.
- [4] Randolph SE, Rogers DJ. Fragile transmission cycles of tick-borne encephalitis virus may be disrupted by predicted climate change. Proc Biol Sci, 2000, 267(1454): 1741-1744.
- [5] 陈国仕. 蜱媒脑炎自然疫源探究. 传染病信息, 2004, 17(1): 7-9.
- [6] 谢杏初,于心,张挺秀,等. 新疆天山、阿尔泰山山地森林脑炎自然疫源地考察报告. 地方病通报, 1991, 6(3): 109-114.
- [7] 黄文丽,侯宗柳,自登云,等. 云南森林脑炎病毒的调查. 中国预防兽医学报, 2001, 23(3): 231-233.
- [8] 马仕金,卢登明,张有植. 西藏林芝地区森林脑炎血清抗体调查. 中华预防医学杂志, 1996, 30(6): 346.
- [9] 王淑英,李炎光,任国松,等. 内蒙古大兴安岭林区森林脑炎自然疫源地调查报告. 地方病通报, 1995, 10(2): 72-74.
- [10] 吕新军,唐青,冯育明,等. 新疆南部地区蜱传虫媒病毒分子生物学调查. 中华实验和临床病毒学杂志, 2005, 19(4): 325-330.
- [11] 杨蓝萍,张天寿,袁晓平,等. 从云南蝙蝠及牛蜱中分离出两株森林脑炎病毒. 中国人兽共患病杂志, 1993, 9(1): 22-23.
- [12] Michael Ecker, Steven L Allison, Tamara Meixner, et al. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. J General Virol, 1999, 80: 179-185.
- [13] 马新英,司炳银,高轩,等. 我国森林脑炎病毒森张株编码区序列测定. 中国病毒学, 2003, 18(4): 322-325.
- [14] 马新英,司炳银,彭文明,等. 森林脑炎病毒森张株 5' 端非编码区序列测定. 微生物学免疫学进展, 2003, 31(3): 9-12.
- [15] 陈露菲,刘彦成,陈淑红,等. 我国新分离森林脑炎病毒 E 基因特征分析. 病毒学报, 2008, 24(3): 202-207.
- [16] 司炳银,马新英,李晓英,等. 我国两株森林脑炎病毒的生物学性质及 E 蛋白基因核苷酸序列的比较. 军事医学科学院院刊, 2003, 27(4): 259-285.
- [17] 宋宏,王环宇,王鹏富,等. 虫媒病毒性脑炎 M-RT-PCR 诊断方法的建立及应用. 中华微生物和免疫学杂志, 2004, 24(4): 317-323.
- [18] 胡玉洋,杨银辉,刘洪,等. 森林脑炎病毒(TBEV)实时定量 TaqMan PCR 检测方法的建立. 解放军医学杂志, 2006, 31(8): 745-748.
- [19] 李华. 森林脑炎后伤残状况 90 例分析. 中国临床康复, 2002, 6(3): 374.
- [20] 宋宗明,刘雁波,黄永成. 森林脑炎疫苗的研究进展. 微生物学免疫学进展, 2005, 33(4): 56-59.
- [21] 宋宗明,董关木,洪成龙,等. 森林脑炎纯化疫苗动物试验及人体 I 期临床观察. 中国生物制品学杂志, 2004, 17(6): 412-413.
- [22] 董关木,宋宗明,刘文雪,等. 森林脑炎纯化疫苗临床免疫效果研究. 中国生物制品学杂志, 2005, 18(6): 514-515.

(收稿日期: 2008-12-28)

(本文编辑: 尹廉)