

从全沟硬蜱分离的伯氏疏螺旋体的形态学特征

柴光军

(空军后勤部卫生防疫队, 北京 100076)

张习坦

(军事医学科学院微生物学流行病学研究所, 北京 100071)

比较了从我国不同地区的全沟硬蜱体内分离的伯氏疏螺旋体的超微结构特征。8株螺旋体长 $8.4-36.0\mu\text{m}$, 宽 $0.12-1.35\mu\text{m}$, 有 1—9 个左手螺旋, 螺旋波长 $1.09-4.30\mu\text{m}$, 波幅 $0.38-2.10\mu\text{m}$ 。细胞末端形态有尖锐和略呈纺锤状两种。每侧细胞近末端有 7、8 和 9 根鞭毛三种类型。细胞内部未见空泡。少数细胞处于分裂期。结果表明, 全沟硬蜱分离株具有伯氏疏螺旋体的形态学特征, 且有多种形态学类型。

关键词 全沟硬蜱; 伯氏疏螺旋体; 超微结构

莱姆病是一种经硬蜱属传播的自然疫源性疾病。自 1986 年艾氏^[1]在黑龙江海林发现本病以来, 内蒙古、吉林、北京、新疆、安徽和福建等地相继证实为该病疫源地。现已证实全沟硬蜱 (*Ixodes persulcatus*) 是我国莱姆病的主要传播媒介, 并已从其体内分离出莱姆病的病原体——伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)^[2], 但其超微结构特征尚缺乏系统分析。为此, 我们从 1988 年以来先后从新疆、黑龙江等地采集全沟硬蜱, 分离出多株螺旋体, 并经血清学、免疫化学等研究结果证实为伯氏疏螺旋体^[3]。本文进一步分析了这些分离株的超微结构特征。

材料与 方 法

(一) 菌株

8 个分离株分别从新疆 (XY1、XY2、XS3)、吉林 (JL2、JL3)、内蒙古 (NMS3) 和黑龙江 (VL1、H6) 分离^[3]。将各株分别接种于 BSKII 培养基内, $31\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 4—5 天, $12000g$ 离心 20 分钟, 沉淀悬浮于 $1/15\text{ mol/L}$ PBS 加 5 mmol/L MgCl_2 内。B31 菌株系美国达敏硬蜱分离株, 作为对照。

(二) 电镜观察

每一分离株均经磷钨酸阴性染色及制成约 500nm 厚的超薄切片染色后用 H-600 透射电镜观察; 悬液涂于盖玻片上, 经脱水、置换及喷金后用 S-450 扫描电镜观察。详见参考文献 [2]。

本文于 1991 年 7 月 1 日收到。

承军事医学科学院孔惟惟、李豫川、曹军田、张启恩和张洋河等帮助, 特此致谢。

结 果

(一) 外部形态

每个分离株的长、宽和波长等外部形态特征见表 1 和表 2。8 株螺旋体的长在 8.4—36.0 μm 之间, 平均长度为 13.55—19.80 μm ; 菌体中间宽 0.12—0.35 μm , 平均宽 0.18—0.23 μm 。一般有 1—9 个螺旋, 平均为 3—5 个, 其螺旋的波长为 1.29—4.30 μm , 平均波长为 2.01—2.76 μm ; 波幅 0.38—2.10 μm , 平均波幅为 0.65—1.33 μm 。经 F' 检验, 8 株螺旋体长度的差别有显著性 ($P<0.01$), 但宽度的差别无显著性 ($P>0.05$)。XY2、JL2、XS3 和 NMS3 等菌株末端尖锐, XY1、JL3 和 VL1 三株则略呈纺锤状。细胞近末端部分有与长轴平行发出的一组鞭毛, JL2 株每端有 8 根; NMS3 株系有两种鞭毛数, 一为 7 根, 另一为 9 根 (图 1); 其余菌株均为 7 根。外套 (outer envelope) 位于细胞的最外层, 当培养时

表 1 伯氏疏螺旋体的形态学特征

Table 1 Morphology of *Borrelia burgdorferi* from *Ixodes persulcatus*

分离株 Strain	长 Length*				宽 Width*				鞭毛数 F	末端 End
	测量数 n	范围 Range	均值 \bar{x}	标准差 SD	测量数 n	范围 Range	均值 \bar{x}	标准差 SD		
XY1	7	9.19—23.10	15.24	4.38	6	0.20—0.25	0.23	0.02	7	纺锤状 spindle
XY2	6	11.26—25.17	16.29	5.47	6	0.12—0.23	0.20	0.04	7	尖锐 pointed
JL2	10	12.20—25.10	15.02	2.80	6	0.14—0.27	0.19	0.06	8	尖锐 pointed
JL3	18	10.20—18.30	14.40	2.79	5	0.16—0.27	0.20	0.05	7	纺锤状 spindle
VL1	10	10.08—36.00	19.80	9.90	19	0.16—0.25	0.19	0.03	7	纺锤状 spindle
H6	11	10.00—26.50	14.63	6.97	18	0.13—0.34	0.18	0.06	7	稍尖 slightly pointed
XS3	9	9.24—19.40	14.72	4.31	6	0.15—0.35	0.22	0.07	7	尖锐 pointed
NMS3	7	8.40—21.71	13.55	4.60	4	0.13—0.33	0.23	0.08	7,9	稍尖 slightly pointed
B31	7	10.03—18.30	12.96	3.19	5	0.11—0.25	0.19	0.05	7,11	尖锐 pointed
$F'=33.82 \quad P<0.01$					$F'=2.08 \quad P>0.05$					

* 单位: μm

表 2 伯氏疏螺旋体的形态学特征

Table 2 Morphology of *Borrelia burgdorferi* from *Ixodes persulcatus*

分离株 Strain	波数 Wave number				波长 Wave length*				波幅 Wave amplitude*			
	测量数 n	范围 Range	均值 \bar{x}	标准差 SD	测量数 n	范围 Range	均值 \bar{x}	标准差 SD	测量数 n	范围 Range	均值 \bar{x}	标准差 SD
XY1	6	1—5	3.0	1.80	9	1.34—4.30	2.76	1.10	8	0.52—1.98	1.08	0.69
XY2	4	4—7	5.3	1.26	11	1.67—2.82	2.12	0.35	10	0.43—0.95	0.65	0.19
JL2	5	2—7	5.2	2.05	12	1.57—3.43	2.68	0.75	12	0.54—2.10	1.33	0.50
JL3	16	2—7	4.4	1.54	13	1.09—3.30	2.35	0.67	10	0.38—1.66	0.87	0.38
VL1	7	2—7	4.6	1.51	14	1.26—2.80	2.01	0.43	14	0.50—1.10	0.74	0.17
H6	11	1—6	4.5	1.37	18	1.80—3.30	2.41	0.43	19	0.50—1.73	0.89	0.29
XS3	9	2—9	5.4	2.30	21	1.37—3.38	2.04	0.50	19	0.50—1.20	0.74	0.20
NMS3	8	1—9	5.3	2.38	13	1.68—4.30	2.41	0.79	13	0.42—1.27	0.85	0.29
B31	5	3—6	4.0	1.22	7	1.80—3.80	2.55	0.69	6	0.50—2.01	0.99	0.53

* 单位: μm

间延长, 培养液的 pH 值下降, 外套可自原生质柱分离或形成泡状, 可见鞭毛游离 (图 2)。少部分螺旋体处于分裂期, 分裂一般发生于菌体的中间或靠近中间的部分, 行二分裂。



图 1 NMS3 株末端和鞭毛 (Δ 示鞭毛插入点, ×50000)

Fig. 1 End and flagella of strain NMS3 (Δ denote insertion points of flagella)

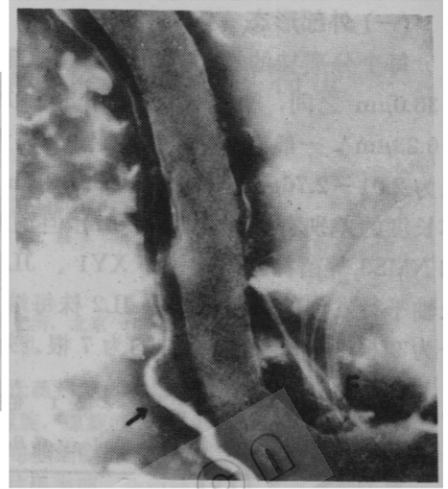


图 2 JL2 株细胞中部 (F 示鞭毛, ↑ 示外套, ×50000)

Fig. 2 Cell of strain JL2 (F denotes flagella. ↑ denote outer envelope)

(二) 立体结构

扫描电镜显示全部分离株均为左手螺旋。常常可见多条螺旋体交织在一起, 呈网状或团状 (图 3)。

(三) 内部结构

每株螺旋体细胞的纵横切面均可展示外套、原生质和鞭毛等结构。不能以横切面计数鞭毛数, 因切面位置不同鞭毛数不同。细胞内部致密, 可见均匀分布的较高密度的颗粒,

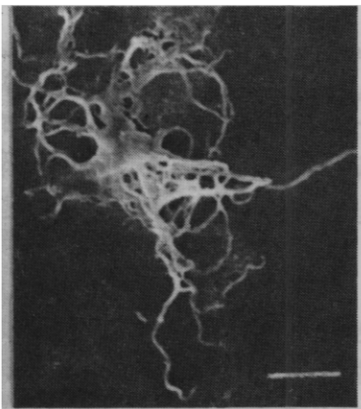


图 3 呈网状的 NMS3 株 (扫描电镜, ×320)

Fig. 3 Web of strain NMS3 seen by scanning microscopy

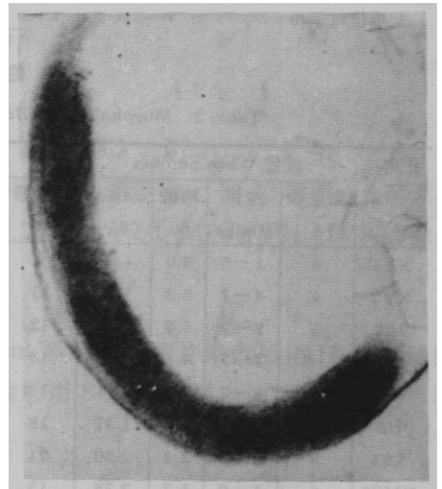


图 4 H6 株纵切面 (×60000)

Fig. 4 Longitudinal section of strain H6

未见空胞(图4)。

讨 论

自1975年莱姆病在美国康涅的格州的莱姆镇(Lyme)发现以来,已在美洲、欧洲、亚洲和大洋洲的几十个国家和地区发现本病。但从不同地区的病人、宿主和媒介分离的伯氏疏螺旋体并不完全相同^[4],其超微结构的差异是一个重要特征^[5,6]。超微结构特别是细胞近末端的鞭毛数是区分不同地区分离株的重要标志,在螺旋体的分类上可能有一定意义^[6],但目前对不同地区分离株超微结构比较研究的报道很少。伯氏疏螺旋体具有多种形态学特征^[7],形态学上不同的螺旋体的毒力、致病性及所致疾病的类型是否有差异尚需进一步探讨。

作者首次比较了我国东北和西北等不同地区全沟硬蜱分离株的形态学特征。结果表明:(1)不同地区分离株在形态学上均具备疏螺旋体的特征:均有疏而不规则的螺旋,且都为左旋,近末端有与长轴平行发出的鞭毛。这些特征与其他地区分离株基本上是相似的。与美国达敏硬蜱或欧洲蓖子硬蜱分离株相比,全沟硬蜱分离株较窄、长,分别具有7根和8根鞭毛数的螺旋体,与美欧分离株相同^[6]。(2)全沟硬蜱分离株具有一些特殊的形态:NMS3株一种有9根鞭毛数的螺旋体,这种形态学特征以前未见报道。本研究还观察到具有纺锤状末端的分离株,系首次发现,可能为全沟硬蜱分离株所特有,需进一步证实。(3)同一地区的分离株可以有不同的形态:如JL2和JL3都自吉林抚松同一地点分离,但两者的鞭毛数分别为7和8根,且末端的形态也不相同,分别为尖锐末端与纺锤状末端。(4)不同地区分离株可以有相同的形态:如地理位置上相差甚远的分离株如新疆XY2和NMS3株的一种细胞都有7根鞭毛和尖锐末端。

综上所述,我国全沟硬蜱体内可以携带多种形态学类型的伯氏疏螺旋体,同一地区的蜱可以携带一种以上形态学类型的伯氏疏螺旋体。我们还观察到这些分离株具有多种免疫化学特征^[3]。这表明我们在进行流行病学调查或临床诊断时应注意到有多种形态学特征的螺旋体以及由此引起的疾病临床特征和分布的差异。

参 考 文 献

- [1] 艾承绪等:军事医学科学院院刊, 11:37—42, 1987。
- [2] 柴光军等:微生物学报, 31:151—155, 1991。
- [3] 柴光军等:军事医学科学院院刊, 15:94—98, 1991。
- [4] Barbour, A. G. et al.: *J. Infect. Dis.*, 152:478—484, 1985。
- [5] Hovind-Hougen, K.: *Yale. J. Biol. Med.*, 57:543—548, 1984。
- [6] Hovind-Hougen, K. et al.: *Zbl. Bakt. Hyg.*, A263:103—111, 1986。
- [7] Aberer, E. et al.: *J. Clin. Microbiol.*, 29:764—772, 1991。

ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF LYME DISEASE SPIROCHETES (*BORRELIA BURGDORFERI*) ISOLATED FROM *IXODES PERSULCATUS* IN CHINA

Chai Guangjun

(Sanitation and Anti-epidemic Brigade, Department of Logistics, Airforce, PLA, Beijing 100076)

Zhang Xitan

(Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences,
Beijing 100071)

This paper analysed morphological characteristics of Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*), isolated from *Ixodes persulcatus* from different areas of China, with scanning and transmissive electron microscopies. Cells of 8 strains were $8.4-36.0\mu\text{m}$ long and $0.12-0.35\mu\text{m}$ wide. There were 1-9 left-handed spires with wavelength of $1.09-4.30\mu\text{m}$ and amplitude of $0.38-2.10\mu\text{m}$. Ends of the cells were pointed or spindle. 7, 8 or 9 flagella were inserted subterminally at each end of the cell. Inner structures of cells were no tubles. A few cells were at stage of division. These results showed that *Ixodes persulcatus* spirochetes possessed morphological characteristics of *Borrelia burgdorferi* and there were many types of morphological characteristics.

Key words *Ixodes persulcatus*; *Borrelia burgdorferi*; Ultrastructure