

# 福建省沿海地区鼠形动物巴尔通体感染状况调查及基因类型研究

叶曦 李国伟 姚美琳 罗炜 苏丽琼

**【摘要】** 目的 了解福建省沿海不同地区、不同气温条件下鼠形动物巴尔通体感染状况,并掌握其菌种基因型。方法 通过随机抽样,抽取福建省沿海6个地市各一个调查点,采用笼日法捕获鼠形动物,培养分离巴尔通体,疑似菌株通过PCR证实为巴尔通体,并通过*gltA*基因的379 bp片段序列测定,构建生长发育树,确定巴尔通体菌种,并分析各属种的地区和宿主分布。结果 捕获并培养分离鼠形动物1161只(份),分离到巴尔通体菌株188株,6种被检动物中有5种检出巴尔通体,感染的鼠形动物分属2目2属,分别是臭鼯鼠、褐家鼠、黄胸鼠、小家鼠、黑家鼠。鼠形动物总感染率为16.19%,其中臭鼯鼠最高(21.43%),其次为褐家鼠(13.54%),黄胸鼠(18.27%)。构成东南地区的主要鼠形动物均列其中。调查6个沿海地市的鼠形动物均感染巴尔通体菌,感染率分别为宁德9.25%、福州9.52%、莆田9.38%、泉州28.18%、厦门17.42%、漳州13.33%。比较年积温7000℃以下地区与年积温7000℃以上地区鼠形动物感染率差异有统计学意义( $\chi^2=12.93, P<0.001$ )。序列分析表明福建省沿海地区鼠形动物中共检出3个巴尔通体种群:*B.elizabethae*、*B.queenslandensis*和*B.tribocorum* A、B群,有明显的地域和宿主分布特征。结论 巴尔通体在福建省沿海地区鼠形动物中广泛存在,优势菌种与云南、北京等地区不尽相同。

**【关键词】** 巴尔通体;鼠形动物;分布;基因类型

**Study on the prevalence and genotypes of *Bartonella* species in rodent hosts from Fujian coastal regions** YE Xi, LI Guo-wei, YAO Mei-lin, LUO Wei, SU Li-qiong. Xiamen Haicang Center for Disease Control and Prevention, Xiamen 361026, China

Corresponding author: YE Xi, Email: yx6053366@163.com

**【Abstract】** Objective To investigate *Bartonella* infection in rodent hosts from different environments and types of climate in Fujian coastal regions. Genotypes of the *Bartonella* strains was also studied to provide scientific basis for prevention and control of the correlated diseases. Methods By random sampling method, we selected six study sites in Fujian southeastern coastal regions. Rodents were captured by cages to isolate *Bartonella* strains. *Bartonella*-like isolates were confirmed by polymerase chain reaction (PCR). The 379 bp fragment of *gltA* gene was sequenced and the growth and development tree was constructed to determine *Bartonella* species. Distribution of *Bartonella* species in the different area and related hosts was also analysed. Results *Bartonella* species were isolated from 188 of 1161 small animals including five rodent species. The infected animals were grouped into 2 genera and 2 orders. They were *Suncus murinus*, *Rattus norvegicus*, *Rattus flavipectus*, *Mus musculus* and *Rattus rattus*. The overall prevalence of *Bartonella* bacteremia was 16.19% in the most prevalent species of rodents in Fujian southeastern coastal regions including 21.43% in *Suncus murinus*, 13.54% in *Rattus norvegicus* and 18.27% in *Rattus flavipectus*. Rodents in every investigated areas were infected by *Bartonella* species (9.25% in Ningde, 9.52% in Fuzhou, 9.38% in Putian, 28.18% in Quanzhou, 17.42% in Xiamen and 13.33% in Zhangzhou). There were significant differences among infected rates in different annual accumulated temperature districts ( $\chi^2=12.93, P<0.001$ ). Isolates from rodents were clustered in three genotypes (*B.elizabethae*, *B.queenslandensis* and *B.tribocorum* A, B). Conclusion The local rodents in Fujian southeastern coastal regions were widely infected by *Bartonella* spp. Differences among the prevalent species of *Bartonella* in Fujian southeastern coastal region, Yunan and Beijing were noticed. Our findings suggested there was a need to study the prevalence, related vectors and the molecular organism of *Bartonella* spp.

**【Key words】** *Bartonella*; Rodent; Distribution; Genotype

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.010.001

基金项目:厦门市医学科技计划项目(WZK-0629)

作者单位:361026 厦门市海沧区疾病预防控制中心

通信作者:叶曦, Email: yx6053366@163.com

巴尔通体已确认有 22 个种和亚种,其中已证实感染人类的有 9 种<sup>[1]</sup>,并在许多国家的鼠形动物中广泛分布。巴尔通体的 10 个种和 2 个亚种已从啮齿类鼠形动物中分离出来,其中 4 种鼠形动物所携带的巴尔通体与人类疾病相关, *B.elizabethae* 可导致心内膜炎, *B.grahamii* 与视神经网膜炎有关, *B.vinsonii* subsp. *Arupensis* 与菌血症有关, *B.washoensis* 与心脏病有关。为了解巴尔通体在福建省沿海地区鼠形动物中的流行和遗传特征,开展了此项调查,结果报道如下。

材料与方 法

1. 选点与采样:在福建省沿海 6 个地市随机抽取 1 个样本市(区)作为该地区的调查点,分别是宁德的蕉城区、福州的福清市、莆田的荔城区、泉州的南安市、厦门的海沧区、漳州的龙海市。各调查点于 2005—2008 年 4—9 月采用笼日法捕鼠,从每只鼠形动物股动脉无菌采集血样,保存在-196℃液氮中待检。

2. 细菌分离:巴尔通体的分离方法见文献[2],即取 50 μl 血样加入 200 μl 脑心浸液中,按 1:4 稀释后涂布于 5%兔血琼脂中,在 35℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱内培养 1~6 周后,分离出巴尔通体菌株。

3. *gltA* 的 PCR 扩增:在纯化分离的可疑巴尔通体菌株培养皿中刮取阳性菌落 5~10 个于灭菌纯水中,置 99℃孵育器加热 30 min,制成 DNA 模板,采用 *gltA* 进行 PCR 扩增,所用引物为 BhCS781.p~BhCS1137.n,扩增产物为 379 bp<sup>[3]</sup>(表 1)。取 5 μl 扩增产物于 2%的琼脂糖凝胶经 160 V 45 min 电泳,设标准分子量 50 bp Ladder 和阴性(去离子水)对照,紫外线下观察并拍照,电泳图中出现目标带即判断为阳性菌株,从而证实为巴尔通体。

表 1 巴尔通体 *gltA* 扩增引物

名称	序列(5'~3')	长度(bp)
BhCS781.p(上游)	GGGGACCAGTCATGGTGG	379
BhCS1137.n(下游)	AATGCAAAAAGAACAGTAAACA	379

4. 序列分析:本研究设计引物 Tile.455p~Tala.885.n 扩增产物为核苷酸序列由上海生物工程技术服务公司测定。网上利用核苷酸序列对比程序 BLAST2.0 与 GenBank 中注册的核苷酸序列进行同源性比较。用 DNASTar 软件进行双序列及多序列同源性对比。用 Neighbor-Joining tree(NJ)法建树,采用 Bootstrap 验证(n=1000)。

结 果

1. 鼠形动物捕获情况:从 6 个调查地区共捕获/采集鼠形动物血样 1161 份(只),分属 2 目 2 属 6 个种。其中褐家鼠、黄胸鼠、臭鼯鼠分别占 54.69%、16.02%、25.32%,构成了调查地区鼠形动物三大优势种群(表 2)。

2. 巴尔通体分离情况:对 1161 份血样进行培养分离,其中的 188 份经细胞形态及 PCR 证实为巴尔通体,分离率达 16.19%。感染的鼠形动物中以臭鼯鼠感染率最高(21.43%),黄胸鼠 18.27%,褐家鼠 13.54%,其他类(小家鼠、黑家鼠、黄毛鼠)为 10.87%,其中黄毛鼠仅捕获 2 份样,未分离到巴尔通体,鼠形动物物种被感染率为 83.33%(表 2)。

3. 巴尔通体地区分布:6 个地市的鼠形动物中均检出巴尔通体,从感染率看北纬 24°以上(即《中华人民共和国地方志·福建志·福建自然地图集》气候区划中的南亚热带气候区一级副区)3 个地市宁德、福清、莆田,巴尔通体感染率分别为 9.25%、9.52%、9.38%;北纬 24°以下 3 个市泉州、厦门、漳州巴尔通体感染率分别为 28.18%、17.42%、13.33%。表明巴尔通体广泛分布于福建省沿海地区的鼠形动物中,且年积温 ≥7000℃地区感染率较高。比较两年积温区域巴尔通体感染率的差异有统计学意义( $\chi^2=12.93, P<0.001$ )。

4. 巴尔通体遗传特征:从 188 株巴尔通体分离株随机抽取 50 株做 *gltA* 基因的 379 bp 片段序列测

表 2 2005—2008 年福建省沿海 6 个调查点巴尔通体感染鼠形动物分布

调查点	臭鼯鼠			褐家鼠			黄胸鼠			其他			合计		
	样本数	阳性数	感染率(%)	样本数	阳性数	感染率(%)	样本数	阳性数	感染率(%)	样本数	阳性数	感染率(%)	样本数	阳性数	感染率(%)
宁德	35	5	14.28	50	4	8.00	16	1	6.25	7	0	0	108	10	9.25
福州	17	1	5.88	89	8	8.99	40	5	12.50	1	0	0	147	14	9.52
莆田	15	0	0	7	2	28.57	8	1	12.50	2	0	0	32	3	9.38
泉州	24	5	20.83	50	16	32.00	27	8	29.63	9	2	22.22	110	31	28.18
厦门	191	50	26.18	395	53	13.42	76	14	18.42	27	3	11.11	689	120	17.42
漳州	12	2	16.67	44	3	6.82	19	5	26.32	0	0	0	75	10	13.33
合计	294	63	21.43	635	86	13.54	186	34	18.27	46	5	10.87	1161	188	16.19

定。结果可见菌株分属于3个相互间同源性较高的巴尔通体种：*Elizabethae*、*Queenslandensis* 和 *Tribocorum*。其中 *Tribocorum* 种分为A、B两个群。9株序列属于 *Elizabethae* 种，Bootstrap 值为 84%，这些分离株与各地分离株混杂一起，未表现出明显的地域分布。5株序列属于 *Queenslandensis* 种，Bootstrap 值为 99%，这些株序列与中国云南、日本、孟加拉国等亚洲 *Queenslandensis* 种分离株相互集聚，同源性较高，与分离自中国北京、美国、澳大利亚的 *Queenslandensis* 株形成两个不同的分支。其余的36株序列属于 *Tribocorum* 种，虽然 Bootstrap 值只有 65% (<75%)，但所有的序列与 *Tribocorum* 原型株的同源性均高于 96%，根据同源性达 96% 就可以认为是同一种的原

则，可归属 *Tribocorum* 种；属于该种的分离株分为两个群，A 群中有北京、云南等地的分离株，B 群与印度尼西亚、孟加拉国同源(图1)。

日本 Inoue 等<sup>[4]</sup>和我国白瑛等<sup>[5]</sup>的研究报道，发现2种不同基因组巴尔通体在宿主动物中的双重感染，本次调查未发现。

5. 巴尔通体基因型与地域/宿主的关系：从测序的50株巴尔通体在不同地域、不同鼠种中分型统计结果看(表3)，有两个明显的特点：一是分布具有一定的地域分布特征，即厦门市主要为 *Tribocorum* 种，占 84.00% (21/25)，其中 *Tribocorum*B 群 16 株，*Tribocorum* A 群 5 株；南安市主要为 *Tribocorum* 种 A 群(7/9)；龙海市主要为 *Queenslandensis* 种(3/4)。二

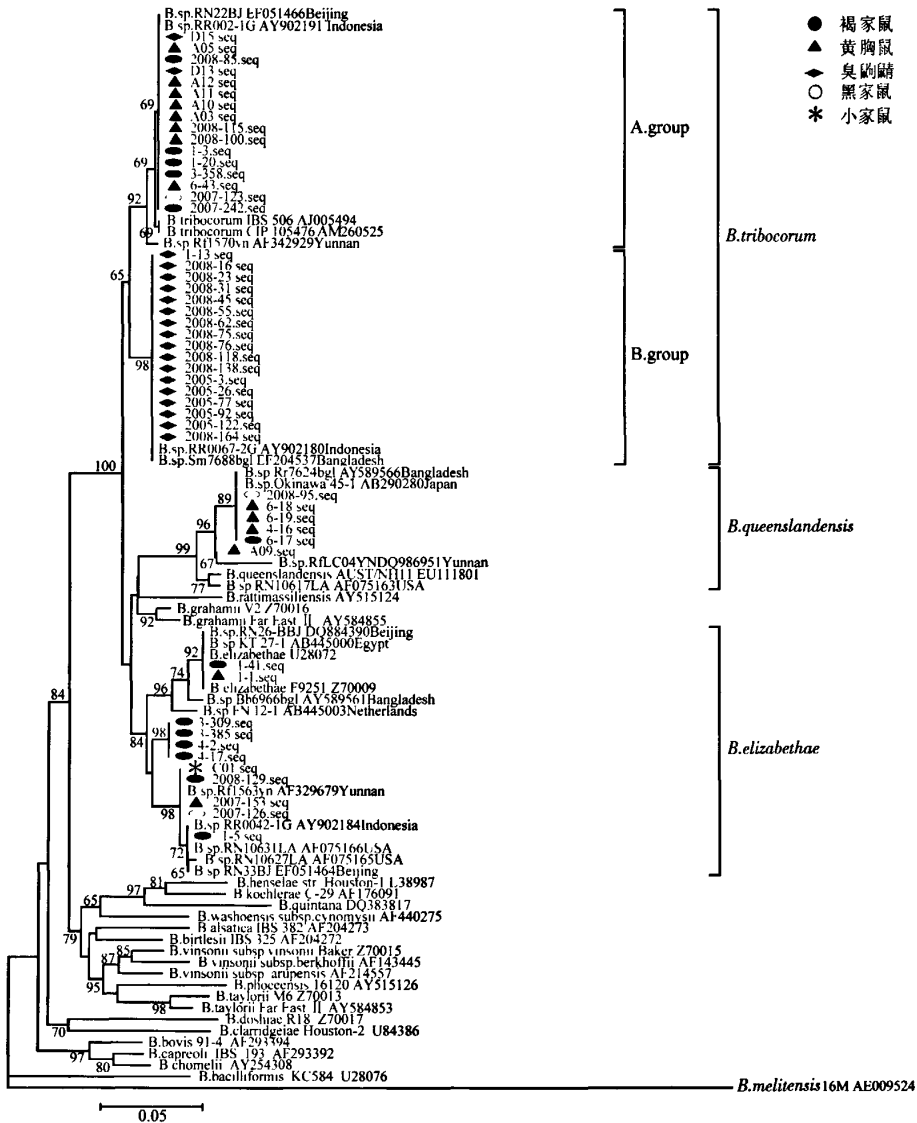


图1 福建省6个调查点分离株与其他巴尔通体遗传系统发育关系的分析

表3 福建省6个调查点不同地域、不同鼠种  
巴尔通体种分型情况

调查点	臭鼯鼠	褐家鼠	黄胸鼠	黑家鼠	小家鼠	株数
宁德	Tb	E/Ta/E				4
福州		Ta/E/Ta/E	E			5
莆田		E/E	Q			3
泉州	Ta/Ta		Ta/Ta/Q / Ta/Ta/Ta		E	9
厦门	Tb/ Tb/ Tb/ Tb/ Tb/ Tb/ Tb/ Tb/ Tb/	Tb/ Tb/ Ta/Ta/E	E/Ta/Ta	Ta/E/Q		25
漳州		Q	Q/Q/Ta			4
株数	19(Ta=2, Tb=17)	13(Ta=5, E=7, Q=1)	14(Ta=8, E=2, Q=4)	3(Ta=1, E=1, Q=1)	1 (E=1)	50

注: Ta为 *Tribocorum*A群, Tb为 *Tribocorum*B群, E为 *Elizabethae*, Q为 *Queenslandensis*

是分布具有一定的宿主分布特征, *Tribocorum*种B群主要感染臭鼯鼠(17/19), 且所有的17株 *Tribocorum*B群菌株均分离自臭鼯鼠, *Queenslandensis*种主要感染黄胸鼠, 分离到的6株 *Queenslandensis*株有4株来自黄胸鼠。 *Elizabethae*种可以感染所有啮齿目鼠属动物: 褐家鼠(7/13)、黄胸鼠(2/14)、黑家鼠(1/3)、小家鼠(1/1)。

### 讨 论

国内外研究均表明, 鼠形动物中的啮齿目、食虫目动物是巴尔通体最主要的自然宿主之一, 是巴尔通体属最大的贮存宿主群, 且带菌率较高, 呈世界性分布<sup>[6]</sup>。2001年以后我国大陆才开始宿主动物巴尔通体感染率的调查<sup>[6]</sup>。本研究调查了福建省沿海两种不同气候区的6个地市(区)鼠形动物中巴尔通体的流行状况, 巴尔通体的总感染率为16.19%(188/1161)。与同处一个纬度带(约北纬23°~28°), 地理生境、景观生态学有许多相似之处的云南省相似<sup>[7]</sup>。按照南亚气候区一级副区, 即年积温≥7000℃地区分界, 可以明显看出, 年积温<7000℃的3个地市宁德、福州、莆田巴尔通体感染率分别为9.25%、9.52%、9.38%, 而年积温≥7000℃的3个地市泉州、厦门、漳州巴尔通体感染率分别为28.18%、17.42%、13.33%, 比较两区域巴尔通体感染率, 差异有统计学意义( $\chi^2=12.93, P<0.001$ )。不同气候区鼠形动物巴尔通体感染率差别如此明显, 其原因有待进一步的流行病学和生态学探究。

本研究的巴尔通体属种系统发育分析表明, 6个调查点中巴尔通体菌种仅分离出3个基因型。第一型 *Elizabethae* 由Ellis等<sup>[8]</sup>从美国褐家鼠分离到该病原体, 是致人类心内膜炎和视神经网膜炎的一个致病因素, *Elizabethae* 感染了本次捕捉到的所有啮齿目动物, 具有特殊的公共卫生学意义; 第二型 *Queenslandensis* 首先分离自印度尼西亚、孟加拉等地, 主要感染黄胸鼠(4/6); 第三型 *Tribocorum* 为Heller等<sup>[9]</sup>分离自法国的褐家鼠, 本研究也从褐家鼠、黄胸鼠、黑家鼠、小家鼠中分离到 *Tribocorum*A群, 但其特殊的是 *Tribocorum*B群共有17株, 全部分离自臭鼯鼠, 且臭鼯鼠仅被 *Tribocorum* 菌感染。综上所述, 巴尔通体对鼠形动物的感染具有明显的地域特征和宿主特异性。这与日本Inoue等<sup>[4]</sup>报告的情况一致, 对巴尔通体及相关疾病的防治具有指导意义。

(感谢宁德市蕉城区、福清市、莆田市荔城区、南安市、龙海市疾病预防控制中心参加样本采集的同仁, 厦门市疾病预防控制中心何水珍博士对序列分析给予的帮助)

### 参 考 文 献

- [1] 叶曦, 姚美琳, 李国伟. 巴尔通体流行病学. 中国病原生物学杂志, 2008, 3(6): 467-470.
- [2] 叶曦, 姚美琳, 李国伟. 福建省鼠形动物巴尔通体感染调查. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(8): 779-781.
- [3] 叶曦, 姚美琳, 李国伟. 巴尔通体实验检测技术简介. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(11): 1160-1162.
- [4] Inoue K, Marugama S, Kabeya H, et al. Prevalence and genetic diversity of *Bartonella* species isolated from wild rodents in Japan. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74(16): 5086-5092.
- [5] 白瑛, Kosoy MY, Maupin GO, 等. 首次证实巴尔通体在我国云南鼠群中流行. 中国人兽共患病杂志, 2002, 18(3): 5-9.
- [6] 栗冬梅, 张建中, 刘起勇. 中国巴尔通体与相关疾病的研究进展. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(8): 762-765
- [7] 白鹤鸣, 杨发莲, 杨慧, 等. 云南省西部地区鼠群中巴尔通体感染的调查. 中华流行病学杂志, 2005, 26(11): 868-870.
- [8] Ellis BA, Regnery RL, Beati L, et al. Rats of the genus *Rattus* are reservoir hosts for pathogenic *Bartonella* species: an old world origin for a new world disease. *J Infect Dis*, 1999, 180: 220-224.
- [9] Heller R, Riegler P, Hansmann Y, et al. *Bartonella Tribocorum* sp. nov, a new *Bartonella* species is isolated from the blood of wild rats. *Int J Syst Bacteriol*, 1998, 48: 1333-1339.

(收稿日期: 2009-05-11)

(本文编辑: 张林东)