

in Guangzhou, China. Chin J Prev Med, 2010, 44 (11): 1027-1031. (in Chinese)

程伟彬, 钟斐, 文芳, 等. 广州市男男商业性服务人群 HIV、梅毒感染及 AIDS 相关行为调查. 中华预防医学杂志, 2010, 44(11): 1027-1031.

[3] Qi SZ, Zhang GC, Cao NX, et al. Serological screening of HIV/STDs and assessment of risk factors in male sex workers. Chin J Lepr Skin Dis, 2005, 21(12): 934-936. (in Chinese)

柴淑贞, 张国成, 曹宁校, 等. 男性性工作者血清 HIV/STDs 检测和相关危险因素分析. 中国麻风皮肤病杂志, 2005, 21(12): 934-936.

[4] Cai WD, Zhao J, Zhao JK, et al. HIV prevalence and related risk

factors among male sex workers in Shenzhen, China: results from a time-location sampling survey. Sex Transm Infect, 2010, 86(1): 15-20.

[5] Chen B, Wang Y, Zhang JX, et al. Comparative studies and influential factors on condom use among MB group and normal gay group. Mod Prev Med, 2007, 34(19): 3604-3605. (in Chinese)

陈波, 王颖, 张建新, 等. MB 和一般同志人群安全套使用情况比较及影响因素的调查分析. 现代预防医学, 2007, 34(19): 3604-3605.

(收稿日期: 2011-12-26)
(本文编辑: 尹廉)

山西省宁武县森林革蜱无形体分子流行病学调查

李国华 于强 张秋香 潘磊 张玉农 姚娜 田丽娜 吴海霞 张丽娟

【关键词】 人粒细胞无形体; 森林革蜱; 分子流行病学
Molecular epidemiology regarding *Anaplasma phagocytophilum* in *Dermacentor silvarum* in Ningwu county, Shanxi province Li Guo-hua¹, YU Qiang^{2,3}, ZHANG Qiu-xiang¹, PAN Lei², ZHANG Yu-nong¹, YAO Na^{2,3}, TIAN Li-na², WU Hai-xia², ZHANG Li-juan². 1 Shanxi Provincial Center for Disease Control and Prevention, Taiyuan 030012, China; 2 National Institute of Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention; 3 Shihezi University of Xinjiang

Corresponding author: ZHANG Li-juan, Email: zhanglijuan@icdc.cn
 This work was supported by grants from the National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2010CB530200, 2010CB530206) and Shanxi Provincial Program for Science and Technology Development (No. 20080311068-1).

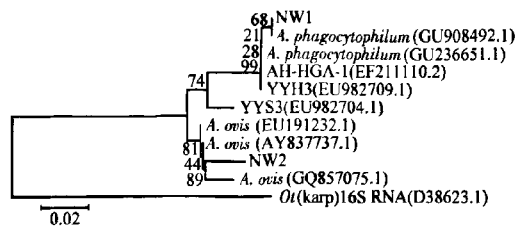
【Key words】 *Anaplasma phagocytophilum*; *Dermacentor silvarum*; Molecular epidemiology

人粒细胞无形体病是由嗜吞噬无形体引起的新发蜱传人兽共患病, 在我国一些地区广泛存在^[1,2]。该病传播媒介主要为硬蜱。宁武县是山西省重点林业县, 生态环境适宜蜱的生长和繁殖, 农林作业及家畜养殖人员多数有蜱暴露史或叮咬史。为此, 山西省疾病预防控制中心与中国疾病预防控制中心无形体研究室合作对该地区进行无形体病原体分子流行病学调查。

1. 材料与方 法: 2011 年 4 月在宁武县余庄乡东庄村和西马坊乡西马坊村、果多伙沟村农户家畜体表和森林地区采集硬蜱。无菌试管低温条件下送至实验室检测。采集的

硬蜱经形态学鉴定均确定为森林革蜱, 并用 75% 乙醇浸泡 30 min 后无菌蒸馏水洗涤 3 次, 每次 10 min。按蜱的体积大小进行组合分组, 每组 1~8 只。使用德国研磨仪 (Retsch MM400) 研磨, 采用 Qiagen 组织提取试剂盒 (Cat. No. 69506) 提取研磨液 DNA, 按同样操作提取无菌水作阴性对照, *A. phagocytophilum* 细胞培养物提取 DNA 作阳性对照。采用巢式 PCR 扩增无形体 16S rRNA 基因^[3]。16S rRNA 进化分析使用 MEGA 4.0 软件, 以 Neighbor-joining 方法构建进化树。

2. 结果: 共采集 594 只森林革蜱, 分为 247 个组进行 PCR 扩增, 其中 144 个组标本扩增出预期大小的片段, 其扩增阳性率为 58.3% (144/247)。将测序成功的 36 个序列 (320 bp) 进行同源比较及进化分析, 结果显示本次检测的序列共分为两群, 按照我国目前多采用的无形体命名方式分别命名为 NW1 和 NW2, 分别占总检出序列的 97.2% (35/36) 和 2.8% (1/36)。其中优势群 NW1 与 2010 年山东省 1 例无形体感染患者血液扩增序列 100% 同源 (GU908492.1)。进化分析结果还显示该群与我国 2006 年安徽省院内感染患者 (EF21110.2) 及 2007 年山东省沂源地区无形体确诊病例 (EU982709.1) 同为一群。本次调查发现的 NW2 群与 GenBank 收录的意大利西西里岛绵羊无形体 Sicily1 分离株相应序列 100% 同源 (GQ857075.1)^[4], 与土耳其绵羊检出序列 (EU191232.1) 及瑞士蚊中肠无形体 G2.12.46 分离株 (AY837737.1) 遗传关系密切^[5] (图 1)。



注: *Ot(karp)* 16S rRNA (D38623.1) 为参比序列 (恙虫病东方体 16S rRNA 基因)

图 1 山西省宁武县森林革蜱无形体 16S rRNA 基因进化分析

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.06.024
 基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (973 计划) (2010CB530200, 2010CB530206); 山西省科技攻关项目 (20080311068-1)
 作者单位: 030012 太原, 山西省疾病预防控制中心 (李国华、张秋香、张玉农); 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所无形体室 (于强、潘磊、姚娜、田丽娜、吴海霞、张丽娟); 新疆石河子大学 (于强、姚娜)
 通信作者: 张丽娟, Email: zhanglijuan@icdc.cn

3. 讨论:近几年我国人粒细胞无形体病报告病例或疑似病例有明显上升趋势。流行病学调查数据也显示该病在我国农业人群及家畜中普遍流行。蜱是目前发现无形体病的主要传播媒介,除全沟硬蜱外,从森林革蜱、嗜群血蜱、草原革蜱等均扩增出人粒细胞无形体 16S rRNA 基因序列。本次调查检测的森林革蜱是我国中原地区尤其是山西省宁武县的优势蜱种,证实该地区此类蜱的无形体携带率高达 58.3%。16S rRNA 部分序列遗传进化分析结果显示当地无形体主要分为两个基因群,其中以 NW1 为主,占整个检出序列的 97.2%,该群与我国部分地区无形体病例检出序列遗传关系密切。

到目前为止山西省尚未报告无形体病例或疑似病例。本次发现调查地区无形体携带率之高以及对当地群众的潜在危害不容忽视。现场调查还发现,在蜱活动季节里,当地居民在外出劳动、养牧或饲养动物过程中遭受蜱叮咬的案例时有发生,存在感染无形体的风险。此次森林革蜱无形体携带率及基因型的研究也提示,宁武县部分乡镇存在无形体感染和发

病的危险,有必要在当地开展发热病例筛查以及血清学调查。

参 考 文 献

[1] Yaxue Z, Hongtao J, Qiuyue W, et al. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodid* ticks in Hebei province, China. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2011, 11: 1323-1327.
 [2] Zhang LJ, Liu Y, Ni DX, et al. Nosocomial transmission of human granulocytic anaplasmosis in China. *JAMA*, 2008, 300: 2263-2270.
 [3] Wen B, Jian R, Zhang Y, et al. Simultaneous detection of *Anaplasma marginale* and a new *Ehrlichia* species closely related to *Ehrlichia chaffeensis* by sequence analyses of 16S ribosomal DNA in *Boophilus microplus* ticks from Tibet. *J Clin Microbiol*, 2002, 40: 3286-3290.
 [4] Zivkovic Z, Torina A, Mitra R, et al. Subolesin expression in response to pathogen infection in ticks. *BMC Immunol*, 2010, 11: 7.
 [5] Lindh JM, Terenius O, Faye I. 16S rRNA gene-based identification of midgut bacteria from field-caught *Anopheles gambiae sensu lato* and *A. funestus* mosquito's reveals new species related to known insect symbionts. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71: 7217-7223.

(收稿日期: 2012-02-14)

(本文编辑: 张林东)

黑龙江林区野鼠伯氏疏螺旋体核酸检测与序列分析

左双燕 唐琨 李颖 于季红 张圆 倪雪冰 郑元春 霍秋波 宋玉东 曾小敏

【关键词】 伯氏疏螺旋体; 序列分析

DNA detection and sequence analysis of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in rodents from Helongjiang forest region ZUO Shuang-yan¹, TANG Kun¹, LI Ying², YU Ji-hong³, ZHANG Yuan¹, NI Xue-bing¹, ZHENG Yuan-chun⁴, HUO Qiu-bo⁴, SONG Yu-dong⁴, ZENG Xiao-min¹. 1 Department of Epidemiology and Health Statistics, School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China; 2 School of Architecture and Urban Environment, Soochow University; 3 Department of Infection Management and Disease Control, General Hospital of the People's Liberation Army; 4 Forestry Center Hospital, Mudanjiang City, Helongjiang Province

Corresponding author: ZENG Xiao-min, Email: zxiaomin@xysm.net

This work was supported by grants from the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program) (No. 2010CB530201) and National Science Fund for Distinguished Young Scholar of China (No. 30725032).

【Key words】 *Borrelia burgdorferi sensu lato*; Sequence analysis

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.06.025

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)(2010CB530201);

国家杰出青年基金(30725032)

作者单位: 410078 长沙, 中南大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系(左双燕、唐琨、张圆、倪雪冰、曾小敏); 苏州大学城市学院(李颖); 解放军总医院感染与控制科(于季红); 黑龙江省牡丹江林业中心医院(郑元春、霍秋波、宋玉东)

通信作者: 曾小敏, Email: zxiaomin@xysm.net

伯氏疏螺旋体共有 13 个基因种, 国内分离到的菌株包括 5 个基因种^[1-3], 本研究对黑龙江地区啮齿动物中伯氏疏螺旋体进行分子流行病学调查和分析。

1. 材料与方法:

(1) 样本采集、处理及 DNA 提取: 2009—2011 年 4—7 月从黑龙江林区采用夹夜法采集野鼠, 每样点 100×2 夹次, 按 5 m 距离布放鼠夹, 晚放晨收。现场鉴定鼠种后, 将捕获的鼠放入鼠袋内, 乙醚麻醉后, 消毒, 无菌取脾脏低温保存。采用天根生化科技(北京)有限公司血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒提取脾脏 DNA, -20 ℃ 贮存备用。

(2) PCR 扩增: 采用巢式 PCR 检测伯氏疏螺旋体 5S~23S rRNA 基因间隔保守区, 引物序列参照文献[3], DNA 模板提取、PCR 反应体系配制、加样、扩增、电泳均在不同的房间操作, 加样与体系配制所用移液器为专用, 同时每次实验均设立空白(水)对照。

(3) 测序及序列分析: 从 PCR 扩增阳性结果的样本中随机抽取部分样本送公司测序, 将测序结果放入 GenBank 中进行同源性比较, 选择相关代表性菌株序列, 采用 MEGA 5.0 软件构建进化树(Bootstrap=5000)。

(4) 统计学分析: 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。

2. 结果:

(1) 鼠类感染情况: 共捕获野鼠 514 只, 包括仓鼠、大仓鼠、大林姬鼠、褐家鼠、黑线姬鼠、红背鼯、胸鼯、棕背鼯、东方田鼠、黑线仓鼠、明纹花松鼠, 以黑线姬鼠、棕背鼯数量最多, 分别占 46.30%(238/514)、18.48%(95/514)。经 PCR 检测, 35 只野鼠检出伯氏疏螺旋体 DNA, 阳性率为 6.81%