

新疆地区 *Rickettsia raoultii* 分子流行病学研究

孙响 张桂林 刘然 刘晓明 赵焱 郑重

【关键词】 *Rickettsia raoultii*; 分子流行病学

Molecular epidemiological study of *Rickettsia raoultii* in ticks from Xinjiang, China SUN Xiang, ZHANG Gui-lin, LIU Ran, LIU Xiao-ming, ZHAO Yan, ZHENG Zhong. Xinjiang Military Command Area Center for Disease Control and Prevention, Urumqi 830011, China

Corresponding author: ZHANG Gui-lin, Email: xjglzhang@126.com

This work supported by a grant from the Chinese State Key Laboratory of Pathogen and Bio-security (No. SKLPBS0915).

【Key words】 *Rickettsia raoultii*; Molecular epidemiology

Rickettsia (*R.*) *raoultii* 是一种新发现的斑点热群立克次体 (spotted fever group *Rickettsiae*), 为胞内革兰阴性菌, 主要通过蜱叮咬传播。其分布广泛, 目前已从 13 个国家和地区的革蜱 (*D. silvarum*) 等 10 种蜱中检出^[1,2]。近期研究表明, *R. raoultii* 是蜱致淋巴结病 (tick-borne lymphadenopathy, TIBOLA) 的潜在病原。我国新疆地区地域广阔, 生境多样, 蜱种丰富且数量众多。境内天山山地、伊犁山地及阿勒泰山地植被覆盖率高, 广泛分布有森林革蜱、边缘革蜱 (*D. marginatus*) 和草原革蜱 (*D. nuttallii*) 等蜱种^[3]。本研究利用分子生物学方法, 研究新疆北部阿尔泰山区的白哈巴地区、西部阿拉套山区的夏尔希里地区、中部天山山区的和硕乃仁克地区采集蜱中 *R. raoultii* 自然感染情况。

1. 材料与与方法:

(1) 样本采集与鉴定: 于 2009 年 4 月至 2012 年 7 月采用布旗法和动物体表检查法采集蜱标本, 保存于 70% 乙醇中, 分类鉴定。

(2) 检测方法: ① 核酸制备及 PCR 扩增: 从乙醇取单只蜱, 灭菌蒸馏水冲洗, 用灭菌滤纸吸干水分, 研磨后使用北京全式金生物技术公司提供的 EasyPure Genomic DNA Extraction 试剂盒提取 DNA 模板, -20 °C 保存备用。PCR 扩增体系均为 25 μl, 退火温度分别为 54 °C、60 °C、50 °C (表 1)。阳性扩增产物由上海生工公司测序。② 序列比对与同源性分析: 利用 “BLAST Sequence Similarity Searching” 工具, 与 GenBank 中注册的核苷酸序列进行同源性比较。利用 Mega 5.05 软件通过 Clustal-W 方法构建系统发育树。

(3) 统计学分析: 采用 SPSS 15.0 软件进行阳性率

的统计分析, χ^2 检验确定不同地区及蜱种间阳性率差异, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2. 结果: 共检测蜱 311 只, 72 只检测出斑点热群立克次体 *ompA*、*ompB* 及 *gltA* 基因特异性 DNA 片段, 阳性率为 23.15% (72/311)。见表 2。

经与 GenBank 比对, *ompA* 阳性片段与意大利从边缘革蜱中检测到 *R. raoultii* 的 *ompA* 基因序列 (注册号 HM161789.1) 相似性为 100% (576/576); *ompB* 基因阳性片段与前苏联从网纹革蜱中检出 *R. raoultii* 的 *OmpB* 基因序列 (注册号 DQ365797.1) 相似性为 100% (801/801); *gltA* 基因阳性片段与前苏联从森林革蜱中检出 *R. raoultii* 的 *gltA* 基因序列 (注册号 DQ365803.1) 相似性为 99.7% (348/349)。利用 Mega 5.05 软件分别对 *ompA*、*ompB* 及 *gltA* 基因阳性片段进行序列分析, 与常见 SFGR 种的相应基因序列聚类分析并构建系统发育树 (图 1), 可见均与 *R. raoultii* 关系最近, 处于同一分支。

经统计分析, 森林革蜱与边缘革蜱阳性率间的差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.008, P = 0.929$); 白哈巴、夏尔希里和硕县乃仁克地区阳性率间差异有统计学意义 ($\chi^2 = 10.729, P = 0.005$)。

3. 讨论: 本研究在新疆不同地区森林革蜱和边缘革蜱中均检测出 *R. raoultii*, 证明存在自然感染。3 个地区检测出的 *R. raoultii* 序列相同, 不同地区阳性序列间无碱基差异, 提示 *R. raoultii* 在新疆地区为广布种。白哈巴地区森林革蜱 *R. raoultii* 的阳性率为 31.11%, 边缘革蜱阳性率为 25.45%, 与相邻的东哈萨克斯坦边缘革蜱阳性率 (33.3%, 6/18) 相近^[4]。和硕地区边缘革蜱中检出 *R. raoultii* 阳性率为 4.88%, 与曹务春等在我国东北地区森林革蜱中检出的阳性率 (3.7%, 25/676) 相近^[1]。由统计分析结果可见, 森林革蜱和边缘革蜱中的 *R. raoultii* 阳性率间差异无统计学意义; 白哈巴、夏尔西里、和硕县乃仁克地区间蜱 *R. raoultii* 阳性率间差异有统计

表 1 PCR 扩增引物

引物	引物序列 (5' ~ 3')	目的基因	片段长度 (bp)
ompA190.70p	ATG GCG AAT ATT TCT CCA AAA	ompA	632
ompA190.70l	GTT CCG TTA ATG GCA GCA TCT		
120-M59	CCG CAG GGT TGG TAA CTG C	ompB	787
120-807	CCT TTT AGA TTA CCG CCT AA		
CS-78	GCA AGT ATC GGT GAG GAT GTA AT	gltA	1110
CS-323	GCT TCC TTA AAA TTC AAT AAA TCA GGA T		

表 2 新疆 3 个地区蜱中 *R. raoultii* 检测结果

地区	蜱种	阳性只数	阳性率 (%)
白哈巴	边缘革蜱 (n=90)	28	31.11
	森林革蜱 (n=110)	28	25.45
夏尔西里	森林革蜱 (n=70)	14	20.00
和硕县乃仁克	边缘革蜱 (n=41)	2	4.88

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.07.023

基金项目: 病原微生物生物安全国家重点实验室开放基金 (SKLPBS0915)

作者单位: 830011 乌鲁木齐, 新疆军区疾病预防控制中心

通信作者: 张桂林, Email: xjglzhang@126.com

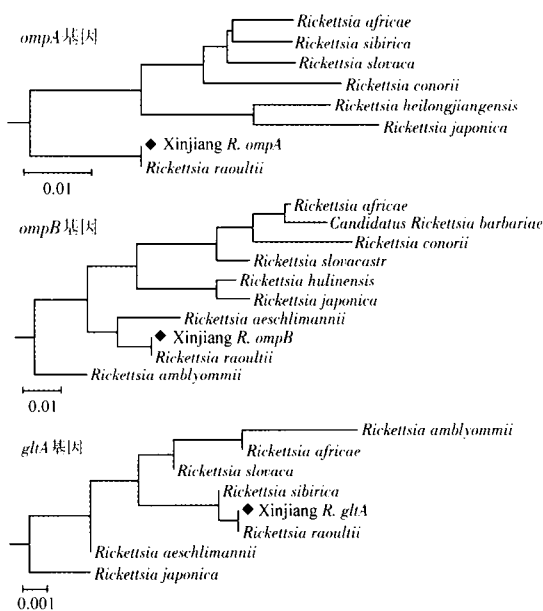


图 1 基于 *ompA*、*ompB* 和 *gltA* 基因的系统发育树 (◆基因阳性片段)

学意义,说明新疆不同地区 *R. raoultii* 感染存在差异。

在媒介生物学理论上,如立克次体能有效通过某种蜱经卵和经期传播,则该种蜱既是立克次体的宿主又是其传播媒介,且立克次体病的分布与该蜱种的分布将一致。国外学者研究证实,*R. raoultii* 能有效通过森林革蜱、边缘革蜱、草原革

蜱和网纹革蜱经卵和经期传播,是 *R. raoultii* 的传播媒介和宿主^[5],*R. raoultii* 及 TIBOLA 的分布应与森林革蜱和边缘革蜱分布相一致。森林革蜱和边缘革蜱为白哈巴地区、夏尔西里地区及和硕地区的优势蜱种,数量众多,分布广泛,这些地区可能存在 *R. raoultii* 及 TIBOLA 的广泛传播流行。本研究未采集到 TIBOLA 病例及其生物标本,尚无法了解 TIBOLA 在新疆的流行病学及病原学状况,需进一步的调查确认。

本研究结果表明,*R. raoultii* 及其引起的立克次体病在新疆地区的分布范围可能超出以往的认识,应引起重视。

参 考 文 献

[1] Cao WC, Zhan L, De Vlas SJ, et al. Molecular detection of spotted fever group rickettsia in *Dermacentor silvarum* from a forest area of northeastern China. *J Med Entomol*, 2008, 45(4): 741-744.
 [2] Tian ZC, Liu GY, Shen H, et al. First report on the occurrence of *Rickettsia slovaca* and *Rickettsia raoultii* in *Dermacentor silvarum* in China. *Parasit Vectors*, 2012, 5: 19.
 [3] Pang DM, Ai CX, Chen GS. Fauna and vertical distribution of ticks in Northern Xinjiang. *Sichuan J Zool*, 1985, 3: 15-18. (in Chinese)
 庞道毛,艾承绪,陈国仕. 新疆北部蜱类的区系及垂直分布. *四川动物*, 1985, 3: 15-18.
 [4] Shpynov S, Fournier PE, Rudakov N, et al. Detection of a rickettsia closely related to *Rickettsia aeschlimannii*, "*Rickettsia heilongjiangensis*", *Rickettsia* sp. strain RpA4, and *Ehrlichia muris* in ticks collected in Russia and Kazakhstan. *J Clin Microbiol*, 2004, 42: 2221-2223.
 [5] Parola P, Rovery C, Rolain JM, et al. *Rickettsia slovaca* and *R. raoultii* in tick-borne Rickettsioses. *Emerg Infect Dis*, 2009, 15: 1105-1108.

(收稿日期:2013-01-27)
(本文编辑:张林东)

北京市男男性行为人群庚型肝炎病毒感染率和流行亚型分析

徐萌 绳波 寇卜心 宋凤丽 袁霖 吴昊 陈德喜 刘志英

【关键词】 庚型肝炎病毒; 男男性行为者; 亚型分析
Prevalence of GB virus type C viraemia and subtype infection in MSM population in Beijing XU Meng, SHENG Bo, KOU Bu-xin, SONG Feng-li, YUAN Lin, WU Hao, CHEN De-xi, LIU Zhi-ying. *STD & HIV/AIDS Research Laboratory, Beijing Key Laboratory, Beijing You' an Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China*
 Corresponding author: LIU Zhi-ying, Email: liuzhiying2005@gmail.com

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of International (Regional) Cooperation and

Exchange Projects (No. 30910183); the Key Biological Markers of Disease Progression and Clinical Outcome of HIV Infection and New Drug Target (No. 2012ZX10001-006); the Single Tube Primer Mini-pool NAAT Screening Applications in HIV Infection Acute Phase (No. 2111107058811071); the Based on the Nucleic Acid Amplification of the Acute Phase of HIV-1 Infection Diagnostic Kit (No. 2011-1011-01 and the GBV-C Co-infected with HIV-1 Effect of HIV-related Encephalopathy (No. BJYAH-2011-062).

【Key words】 GB virus C; Men who have sex with men; Subtype analysis

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.07.024

基金项目: 国家自然科学基金国际(地区)合作交流项目(30910183); HIV 感染者的疾病进展与临床转归的关键生物学标志及新药靶的研究(2012ZX10001-006); 单管多引物 mini-pool NAAT 在 HIV 感染急性期筛查的应用(2111107058811071); 基于核酸扩增的急性期 HIV-1 感染诊断试剂盒(首发 2011-1011-01); GBV-C 共感染 HIV-1 对 HIV 相关性脑病的影响作用研究(BJYAH-2011-062)
 作者单位: 100069 北京, 首都医科大学附属北京佑安医院性病艾滋病实验室

通信作者: 刘志英, Email: liuzhiying2005@gmail.com

庚型肝炎病毒(HGV, GBV-C)与丙型肝炎病毒同属黄病毒科,两者核苷酸有 30% 的同源性^[1]。GBV-C 不引起感染人群肝病或其他疾病,感染数年后能自动清除。GBV-C 与 HIV 具有相似的感染途径,大部分经血液、性接触或者母婴传播,所以在高危人群中存在很高的重叠感染。在 HIV 感染人群中 GBV-C 感染率明显高于正常人群,40% HIV 感染者显示有活跃的 GBV-C 共同感染,46% HIV 感染者有既往 GBV-C 感染(抗 E2 阳性)。近年来一些研究显示, HIV 感染者合并感染