

· 实验室研究 ·

云南省保山市一起地方性斑疹伤寒暴发的调查

亚红祥 张海林 周济华 段恒先 赵孝泽 孙桂娟 郑维斌 黄文丽

【摘要】 目的 了解云南省保山市一起地方性斑疹伤寒暴发的流行病学特征。方法 收集患者的流行病学资料。应用外斐反应和间接免疫荧光方法同时检测患者血清中莫氏立克次体、恙虫病东方体 IgG 抗体。用 PCR 检测鼠类脾脏标本中莫氏立克次体、普氏立克次体 *gluA* 基因,恙虫病东方体 56 kDa 蛋白基因,斑点热群立克次体 *ompA* 基因,埃立克体 16S rRNA 基因和无形体 16S rRNA 基因。结果 2009 年 7—8 月保山市隆阳区该起地方性斑疹伤寒累计发病 58 例,其中 48 例为临床诊断病例,10 例为实验室诊断病例。3 例地方性斑疹伤寒实验室诊断病例存在 Karp 型恙虫病东方体感染。PCR 检测黄胸鼠脾脏 85 份,其中莫氏立克次体 *gluA* 片段阳性 3 份(阳性率为 3.5%),其序列与莫氏立克次体 Wilmington 株(GenBank U59714.1)同源性为 100%;普氏立克次体、恙虫病东方体、斑点热群立克次体、无形体和埃立克体均为阴性。结论 经流行病学、临床资料和实验室检测证实,保山市隆阳区该起疫情为地方性斑疹伤寒。从当地优势鼠种黄胸鼠中检测到莫氏立克次体核酸及序列,表明当地存在地方性斑疹伤寒疫源地。

【关键词】 地方性斑疹伤寒;莫氏立克次体;爆发性流行

An outbreak of endemic typhus in Baoshan city, Yunnan province YA Hong-xiang¹, ZHANG Hai-lin¹, ZHOU Ji-hua¹, DUAN Heng-xian², ZHAO Xiao-ze², SUN Gui-juan², ZHENG Wei-bin³, HUANG Wen-li¹. 1 Yunnan Institute of Endemic Disease Control and Prevention, Dali 671000, China; 2 Longyang District Center for Disease Control and Prevention; 3 Baoshan City Center for Disease Control and Prevention

Corresponding author: YA Hong-xiang, Email: yahongxiang@163.com

【Abstract】 Objective To understand the epidemiologic characteristics of endemic typhus in Baoshan city. Methods Epidemiological data were collected and characteristics were analyzed. IgG antibody (Ab) of *Rickettsia mooseri* and *Orientia tsutsugamushi* in serum of patients were tested using both Weil-Felix and IFA method. The *Rickettsia mooseri gluA* gene, *Rickettsia prowazekii gluA* gene, *Orientia tsutsugamushi* 56 kDa protein gene, SFGR *ompA* gene, *Ehrlichia* sp. 16S rRNA gene and *Anaplasma* sp. 16S rRNA gene in spleen of mice were examined by PCR. Results Fifty-eight endemic typhus cases were found in Longyang district of Baoshan city, during July to August, 2009. Among them, 48 cases were confirmed by clinical diagnosis and 10 cases by laboratory tests. The Ab of *Orientia tsutsugamushi* Karp serotype was detected in 3 cases from laboratory diagnosis. The spleen samples from 85 *Rattus flavipectus* were tested using PCR. Of them, 3 samples for *Rickettsia mooseri gluA* gene showed positive (positive rate was 3.5%), and the homology of 3 *Rickettsia mooseri* and *Rickettsia mooseri* Wilmington strain (GenBank U59714.1) was 100% through comparing gene sequence. The results of PCR for detecting *Rickettsia prowazekii*, *Orientia tsutsugamushi*, SFGR, *Anaplasma* sp. and *Ehrlichia* sp. were all negative. Conclusion The outbreak of endemic typhus was confirmed in Longyang district of Baoshan city through epidemiological data, clinical diagnosis and laboratory tests. *Rickettsia mooseri* DNA was detected in the dominant *Rattus flavipectus*, suggesting that endemic typhus did exist in the local areas.

【Key words】 Endemic typhus; *Rickettsia mooseri*; Outbreak of epidemics

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.01.012

作者单位: 671000 大理, 云南省地方病防治所 云南省病毒立克次体研究中心(亚红祥、张海林、周济华、黄文丽); 保山市隆阳区疾病预防控制中心(段恒先、赵孝泽、孙桂娟); 保山市疾病预防控制中心(郑维斌)

通信作者: 亚红祥, Email: yahongxiang@163.com

地方性斑疹伤寒(endemic typhus)是由莫氏立克次体(*Rickettsia mooseri*)所致的一种类似流行性斑疹伤寒的自然疫源性疾 病,主要通过鼠蚤传播,故又称鼠型斑疹伤寒(murine typhus)或蚤传斑疹伤寒(flea-borne typhus)。该病常发生于夏秋季,呈散发或局部地方性暴发和流行,我国各地均有该病流行^[1-4]。2009 年 7—8 月云南省保山市暴发一起不明原因发热疾病,经流行病学调查和实验室检测,确诊为地方性斑疹伤寒。

材料与方法

1. 标本:2009 年 7—8 月在保山市隆阳区从 58 例发热患者中采集血清 22 份,鼠类脾脏标本 85 份。

2. 检测方法:

(1)外斐反应:参照变形杆菌 OX₁₉、OX₂ 和 OX_k 诊断菌液(宁波天润生物药业有限公司,批号 20083049;OX₁₉与 OX₂ 检测斑疹伤寒抗体,OX_k 检测恙虫病抗体)说明书进行。

(2)间接免疫荧光试验(IFA):用 PBS 从 1:20 开始对被检血清做系列稀释至 1:320,将各稀释度血清分别加到莫氏立克次体抗原片和恙虫病东方体 Karp 型抗原片(均为中国疾病预防控制中心传染病预防控制所立克次体室提供)孔内,放入湿盒置 37℃ 孵育 45 min,用 PBS 洗片 3 次,每次 1~2 min,吹干,加入荧光素标记的羊抗人 IgG 抗体(KPL 公司产品),放入湿盒置 37℃ 孵育 30 min,用 PBS 洗片 3 次,每次 1~2 min,吹干,用 Nikon 荧光显微镜观察结果。荧光明亮,呈黄绿色,病原体均匀分布,即可判定该滴度为阳性。

(3)PCR 检测:用德国 Qiagen 公司 DNA 提取试剂盒对鼠脾研磨液提取总 DNA,应用文献^[5-9]中的引物(表 1),引物由上海生物工程公司合成。应用 Fermentas 公司 PCR Master Mix (2×) 试剂盒进行 PCR 扩增,阳性产物送北京三博生物公司进行测序。

3. 序列分析:将所得到的序列,通过 Internet 网进入美国国家生物技术信息中心(www.ncbi.nlm.nih.gov)站点后,利用“BLAST”工具,对序列进行同源性比较后,运用 MEGA 4.0 软件构建系统进化树。

结 果

1. 流行病学调查

(1) 时间分布:首发病例出现时间为 7 月 22 日,末例为 8 月 23 日,流行期为 33 d。共出现发热患者 58 例,其中 7 月 16 例(27.6%),8 月 42 例(72.4%)。

(2) 地区分布:58 例分布于西邑乡 5 个行政村,其中下坝村 50 例(86.21%)。下坝村为山区村寨,共 55 户 234 人,大部分农户分散居住,且住房附近杂草丛生,周围有菜、玉米等耕地,多数农户养有猫、犬及家禽畜,且家中常有老鼠出没。

(3) 人群分布:58 例中,农民 52 例(89.7%),学生 6 例(均为农业户口)。发病年龄最小 6 岁,最大 81 岁,大多为青年和中年人群。男性发病 25 例,女性 33 例,男女性比为 1:1.3。58 例患者发病前均有田间劳作和/或草地活动史,近期均无外出务工及旅游。一家人中数人发病的有 3 户家庭。

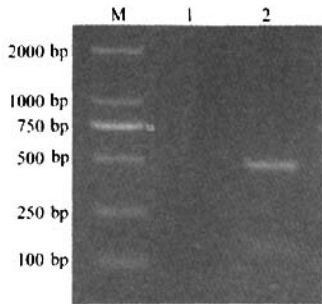
2. 临床表现:58 例患者均有发热史,体温 38.5~40℃,呈弛张热或稽留热,伴有畏寒、全身不适、头痛、恶心,其中 10 例患者出现皮疹(17.2%)。住院 18 例,其中 4 例血常规提示中性粒细胞减少,淋巴细胞增多,血小板减少;尿常规提示尿液中有少量蛋白、白细胞和红细胞;血生化提示肝功能轻度异常,血沉升高。1 例重症患者伴有肝损伤、严重的肺部感染、呼吸衰竭、营养不良、低蛋白血症和贫血。

3. 实验室检测:22 例患者外斐氏试验中,7 例 OX₁₉ 效价≥1:80,4 例 OX₂ 效价≥1:40,6 例 OX_k 效价≥1:80。IFA 检测中,莫氏立克次体 IgG 抗体阳性 20 例,其中 10 例抗体效价为 1:320,7 例 1:80,1 例 1:40,2 例 1:20;恙虫病东方体 Karp 型 IgG 抗体阳性 3 例,其抗体效价分别为 1:80、1:80 和 1:40,莫氏立克次体 IgG 抗体检测效价分别为 1:80、1:20 和 1:320。

表 1 用于立克次体检测的引物

病 原 体	基 因	引物(5'~3')	片段(bp)
莫氏立克次体 <i>R. mooseri</i>	<i>gluA</i>	TY1f: tggggaactaccaagtagt	488
		TY1r: accagtgctaatacatgcaa	
普氏立克次体 <i>R. prowazekii</i>	<i>gluA</i>	CS-877: gggggcctgctcagggcg	477
		CS-1273: cataaccagtgtaaagctg	
斑点热群立克次体 SFGR	<i>ompA</i>	Rr190-70p: atggcgaaatattctccaaa	632
		Rr190-70l: gtccgtaaatggcagcatct	
恙虫病东方体 <i>O. tsutsugamushi</i>	56 kDa	a: tacattagctgcgggtatgaca	306~339
		b: ccagcataattctcaaccaag	
埃立克体及无形体属 <i>Ehrlichia</i> sp. <i>Anaplasma</i> sp.	16S rRNA	Eh-out1: ttgagagttgatctcgctcagaacg	653
		Eh-out2: cacctctacactaggaattccgctatc	
		Eh-gs1: gtaatactgtataatccctg	282
		Eh-gs2: gtaccgtcattatcttccta	

在保山市隆阳区居民区捕获啮齿动物 85 只,均为黄胸鼠。用 PCR 检测鼠脾脏 85 份,结果 3 份标本 (LY51、LY196、LY325) 莫氏立克次体 *gltA* 片段扩增阳性 (图 1), 带菌率为 3.5%; 普氏立克次体、斑点热群立克次体、埃立克体及无形体等扩增均为阴性。



注: M: DL2000 DNA Marker; 1: LY325(-); 2: LY51(+)
图 1 保山市隆阳区部分鼠类样品 PCR 检测结果

4. 序列测定及同源性分析: 通过“BLAST”工具, 将本次获得的 3 份样本序列与 GenBank 中已知序列进行同源性比较, 结果 LY51、LY196 和 LY325 样本的扩增产物 (446 bp) 核酸序列均与莫氏立克次体 Wilmington 株 (GenBank U59714.1) *gltA* 基因相对应片段完全一致, 同源性均为 100%; 与普氏立克次体 DQ926855.1、U59715.1、DQ926853.1 和 DQ926854.1 株同源性均为 97%; 与斑点热群立克次体 AB444098.1、HM050292.1、HM050288.1、HM050296.1 和 AB473994.1 株同源性均为 93%。

5. 系统进化树: 以 LY51 样本序列与相关立克次体 *gltA* 基因部分序列运用 MEGA 4.0 软件构建系统进化树。LY51 与莫氏立克次体 (Rm) U59714.1 株同在一个分支; 与普氏立克次体 (Rp) DQ926855.1、U59715.1、DQ926853.1 和 DQ926854.1 株亲缘关系较远; 与斑点热群立克次体 (SFGR) AB444098.1、HM050292.1、HM050288.1、HM050296.1 和 AB473994.1 株相距更远 (图 2)。

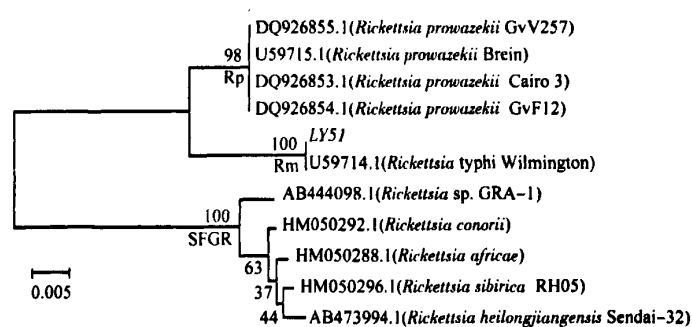


图 2 根据 *gltA* 基因部分序列 (446 bp) 构建的系统进化树

讨 论

地方性斑疹伤寒属人兽共患病, 是由莫氏立克次体通过鼠→鼠蚤→人感染循环, 在广大农村地区, 随人们所处的环境不同而发生散发、流行或暴发。全国 31 个省区均有病例报道, 其中河北、山东、云南省发病率较高^[4]。所报道的病例中皮疹者少见^[10], 而常被误诊为其他疾病^[11,12]。云南省于 1955 年发现该病, 随后在多个地区发现^[13-15], 并时有散发病例的报道^[16]。

本次调查根据患者临床表现、流行病学史和实验室检测结果, 58 例发热患者均为地方性斑疹伤寒, 其中 10 例为实验室诊断病例, 48 例为临床诊断病例。本起疫情有 3 例地方性斑疹伤寒患者存在莫氏立克次体与恙虫病东方体复合感染, 表明当地还存在恙虫病流行。

本次采用两种血清学方法检测患者血清标本, 外斐反应为非特异性反应, 在诊断中仅有参考意义; 而 IFA 为 WHO 推荐的斑疹伤寒标准诊断方法, 特异性和敏感性均较高, 为该起疫情的确定提供了重要依据。本次疫情集中于 7—8 月, 符合该病季节特点; 发病人群均为农村人口, 与农村卫生条件较差、鼠密度高和村民防病意识差有关; 女性病例高于男性, 可能与当地农村妇女常到菜园、田间劳作有关; 3 户家庭发病存在家庭聚集现象, 可能与山区村寨农户分散居住、户少人少及其居住条件和环境较差有关。出现皮疹的病例占总病例数的 17.2%, 高于近期国内出现皮疹者 <10% 的报道^[10]。

黄胸鼠为地方性斑疹伤寒的主要宿主动物。本次调查发现, 当地居民区及其周围环境广泛分布有黄胸鼠, 并从该鼠中检测到莫氏立克次体核酸及其序列, 而普氏立克次体、恙虫病东方体、斑点热群立克次体和埃立克体的核酸检测均为阴性, 表明当地存在地方性斑疹伤寒疫源地。

本次调查表明该疫区村民生活水平低, 生活环境脏乱, 住房四周均为农耕地, 适于宿主动物栖息及鼠类、蚤类和恙螨孳生, 具备斑疹伤寒和恙虫病自然疫源地环境条件, 属于村落周围田间杂草疫源地。近年来, 据文献报道显示保山市斑疹伤寒病例呈逐年上升之势, 但均为散发, 然而 2009 年出现该病暴发的区域均为偏远农村^[16]。因此, 应加强灭鼠、灭蚤、灭螨及健康教育宣传, 提高农

民的防病意识,同时加强该病的临床检测与防治能力,对疫源地进行实时监测与预警。

参 考 文 献

- [1] Yu SR, Chen XR. *Rickettsia and rickettsioses*. Beijing: Military Medical Science Press, 1999: 24–28. (in Chinese)
俞树荣, 陈香蕊. 立克次体与立克次体病. 北京: 军事医学科学出版社, 1999: 24–28.
- [2] Fan MY. *Rickettsioses*/He LY, Xu ZB. *Tropical medicine*. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 336–338. (in Chinese)
范明远. 立克次体病//贺联印, 许焜. 热带医学. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 336–338.
- [3] Bi DZ. The epidemic characteristic of typhus in China. *Dis Surveil*, 1999, 14(1): 15–16. (in Chinese)
毕德增. 中国斑疹伤寒流行概况. 疾病监测, 1999, 14(1): 15–16.
- [4] Zhang LJ, Fu XP, He JR. Analysis on the epidemic characteristic of typhus from 1994–2003 in China. *Chin Prev Med*, 2005, 6(5): 415–418. (in Chinese)
张丽娟, 付秀萍, 贺金荣. 我国近十年斑疹伤寒疫情概况及分析. 中国预防医学杂志, 2005, 6(5): 415–418.
- [5] Raoult D, Scola BL, Enea M, et al. A flea-associated rickettsia pathogenic for humans. *Emerg Infect Dis*, 2001, 7(1): 73–81.
- [6] Roux V, Raoult D. Body lice as tools for diagnosis and surveillance of reemerging diseases. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(3): 596–599.
- [7] Odorico DM, Graves SR, Currie B, et al. New *Orientia tsutsugamushi* strain from scrub typhus in Australia. *Emerg Infect Dis*, 1998, 4(4): 642–644.
- [8] Wikswo ME, Hu R, Dasch GA, et al. Detection and identification of spotted fever group *Rickettsiae* in *Dermacentor* species from Southern California. *J Med Entomol*, 2008, 45(3): 509–516.
- [9] Jian R, Wen BH, Zhang YZ, et al. Detection of 16S rDNA of *Ehrlichia chaffeensis*-like organism and *Anaplasma marginale* in *Boophilus microplus* collected from Xizang. *Chin J Zoonoses*, 2002, 18(3): 39–41. (in Chinese)
蹇锐, 温博海, 张有植, 等. 从西藏微小牛蜱检出类查菲埃立克体和边缘无形体 16S rDNA. 中国人兽共患病杂志, 2002, 18(3): 39–41.
- [10] Si CW, Jia FZ, Li JT. *Infectious diseases*. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 760. (in Chinese)
斯崇文, 贾辅忠, 李家泰. 感染病学. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 760.
- [11] Wu J. Clinical analysis of 83 endemic typhus cases. *Chin Trop Med*, 2009, 9(2): 281. (in Chinese)
吴军. 地方性斑疹伤寒 83 例临床分析. 中国热带医学, 2009, 9(2): 281.
- [12] Ding JQ, Xu DZ. *Misdiagnosis and inappropriate treatment and prevention of infectious diseases*. Beijing: Scientific and Technical Documents Publishing House, 2001: 235. (in Chinese)
丁静秋, 徐道振. 传染科疾病误诊误治与防范. 北京: 科学技术文献出版社, 2001: 235.
- [13] Chen YM, Qian SK, Wu YX. Separated and identified and serological survey of *Rickettsia mooseri* in Yunnan province. *Chin J Epidemiol*, 1983, 4(Rickettsia Album): 35–38. (in Chinese)
陈渊民, 钱世遑, 武佑兴. 云南鼠型斑疹伤寒立克次体分离鉴定及血清学调查. 中华流行病学杂志, 1983, 4(立克次体专辑): 35–38.
- [14] Zhang LJ, Li XM, Zhang DR, et al. Molecular epidemic survey on co-prevalence of scrub typhus and marine typhus in Yuxi city, Yunnan province of China. *Chin Med J*, 2007, 120(15): 1314–1318.
- [15] Chang LT, Dao ZH, Liang CW, et al. Sero-epidemiologic investigation on rickettsiosis of humans and domestic animals in Yunnan province. *Chin J Zoonoses*, 2010, 26(2): 189–192. (in Chinese)
常利涛, 刀志宏, 梁长威, 等. 云南省人和家畜立克次体病血清流行病学调查. 中国人兽共患病学报, 2010, 26(2): 189–192.
- [16] Li JQ. Epidemiological characteristics analysis of typhus in Baoshan city, Yunnan province, China from 2005 to 2008. *J Dis Monitor Control*, 2010, 4(4): 212–214. (in Chinese)
李加全. 云南省保山市 2005–2008 年斑疹伤寒流行特征分析. 疾病监测与控制杂志, 2010, 4(4): 212–214.

(收稿日期: 2010–10–21)

(本文编辑: 张林东)