

新疆克拉玛依地区亚洲璃眼蜱中首次检测到伯氏疏螺旋体 *sensu stricto* 基因型

杜景云 王安东 牟路萌 张科 王远志 徐军 陈创夫
王丽娜 盛金良 左维泽

【关键词】 莱姆病; 亚洲璃眼蜱; 伯氏疏螺旋体

First detection of *Borrelia burgdorferi sensu stricto* genotype from *Hyalomma asiaticum* in Karamay, Xinjiang Uygur Autonomous Region of China Du Jingyun¹, Wang Andong², Mu Lumeng¹, Zhang Ke³, Wang Yuanzhi¹, Xu Jun⁴, Chen Chuangfu², Wang Lina², Sheng Jinliang², Zuo Weize⁵. 1 College of Medicine, 2 College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832002, China; 3 Research Institute of New Rural Development, Pingdingshan University; 4 Alashankou Entry-Exit Inspection and Quarantine Authority of China; 5 Department of Infection, First Affiliated Hospital of School of Medicine, Shihezi University

Corresponding authors: Wang Yuanzhi, Email: wangyuanzhi621@126.com; Xu Jun, Email: alskxj@sina.com

This work was supported by grants from the International Science and Technology Cooperation Program of China (No. 2013DFA32380), National Science and Technology Support Project of China (No. 2013BAI05B05), Co-innovation Center for the High Incidence of Zoonotic Disease Prevention and Control in Western China, and State Quality Inspection Administration Technology Projects of China (No. 2014IK239).

【Key words】 Lyme disease; *Hyalomma asiaticum*; *Borrelia burgdorferi*

莱姆病是由伯氏疏螺旋体 [*Borrelia* (*B.*) *burgdorferi*] 引起, 以硬蜱为主要传播媒介的人畜共患传染病。人群对莱姆病普遍易感, 其中野外工作者、林业工人和牧民是莱姆病的高发人群。克拉玛依是我国重要的石油石化基地, 基于亚洲璃眼蜱是克拉玛依主要蜱种之一, 本研究对该区域亚洲璃眼

蜱进行伯氏疏螺旋体核酸检测, 以期对石油勘探区人群和石油工人的外出风险给出评价。

1. 材料与方法:

(1) 标本采集与DNA提取: 2013年5月在克拉玛依的乌尔禾乡和小拐乡采集100只亚洲璃眼蜱, 其中羊寄生蜱64只(40♂/24♀), 游离蜱36只(24♂/12♀)。经体视解剖显微镜 (LEICA M165 C) 进行形态学鉴定后, 按DNA提取试剂盒 [天根生化科技(北京)有限公司] 说明书, 提取蜱的基因组DNA, 置于-20℃保存备用。

(2) 代表蜱16S rDNA序列分析: 选取上述具有形态学差异的亚洲璃眼蜱, 即寄生蜱4只(2♂/2♀), 游离蜱4只(2♂/2♀); 依据参考文献引物^[1], 进行蜱线粒体16S rDNA序列扩增并测序, 将测序结果与GenBank中蜱16S rDNA已知序列进行比对, 分析新疆亚洲璃眼蜱16S rDNA序列特征。

(3) 伯氏疏螺旋体检测与系统进化树分析: 依据伯氏疏螺旋体5S~23S rRNA基因序列^[2], 对100只亚洲璃眼蜱进行伯氏疏螺旋体巢式PCR扩增检测, 对所有阳性产物进行测序, 利用ClustalX 2.0软件构建系统进化树。

2. 结果:

(1) 代表蜱线粒体16S rDNA序列分析: 测序分析显示, 选取的8只亚洲璃眼蜱16S rDNA序列相同, 上传至GenBank (登录号: KF547992)。ClustalX 2.0序列分析显示: 该序列与本课题组前期对新疆多个地区采集的亚洲璃眼蜱16S rDNA对应序列相同^[2]; 新疆以外地区与内蒙古亚洲璃眼蜱对应序列相同 (GenBank登录号: JX051089); 国外与德国亚洲璃眼蜱对应序列 (GenBank登录号: JF979376) 有较高的同源性, 同源性为99.00%, 见图1。

(2) 伯氏疏螺旋体序列扩增测序分析: 经巢式PCR扩增分析, 寄生蜱有12只阳性, 阳性率为18.75% (12/64); 游离蜱6只阳性, 阳性率为16.67% (6/36), 总阳性率为18.00% (18/100)。χ²检验显示, 寄生蜱与游离蜱感染率差异无统计学意义 (P=0.795)。阳性产物测序分析均为同一序列, GenBank登录号为KF547996。且该序列与本课题组在石河子地区分离获得的 *B. burgdorferi sensu stricto* 5S~23S rRNA对应序列相同^[2]; 与察布查尔县、伊宁县分离的伯氏螺旋体对应序列 (GenBank登录号分别为KF547997和KF547998) 相近, 同源性为99.00%; 与伯氏疏螺旋体参考株B31对于序列 (GenBank登录号: L30127) 具有较高的同源性 (98.00%), 见图2。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.05.027

基金项目: 国际科技合作专项 (2013DFA32380); 国家科技支撑计划 (2013BAI05B05); “西部地区高发人兽共患传染性疾病防治” 省级协同创新中心项目; 国家质检总局科技计划项目 (2014IK239)

作者单位: 832002 石河子大学医学院 (杜景云、牟路萌、王远志), 动物科技学院 (王安东、陈创夫、王丽娜、盛金良); 平顶山学院新农村发展研究院 (张科); 阿拉山口出入境检验检疫局 (徐军); 石河子大学医学院第一附属医院感染科 (左维泽)

杜景云、王安东同为第一作者

通信作者: 王远志, Email: wangyuanzhi621@126.com; 徐军, Email: alskxj@sina.com

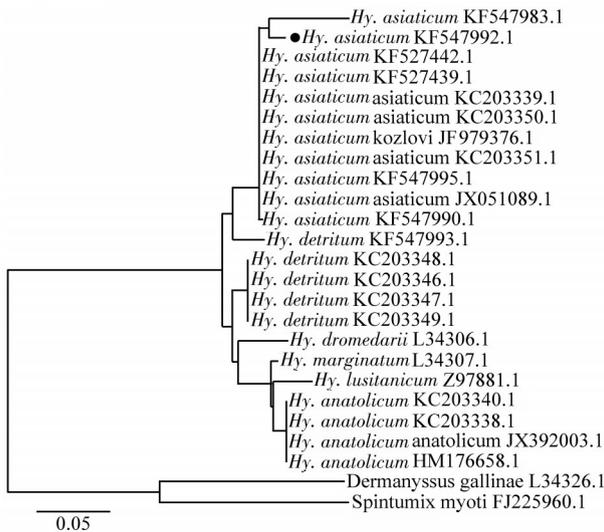


图 1 亚洲璃眼蜱 16S rDNA 序列的系统进化树

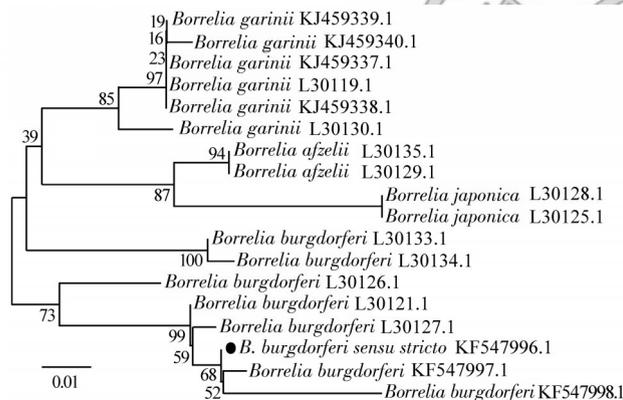


图 2 伯氏疏螺旋体 5S ~ 23S rRNA 基因间隔区的系统进化树

目前伯氏疏螺旋体已命名的有 15 个基因型,其中 *B. burgdorferi sensu stricto* 主要流行于我国南方, *B. garinii* 和 *B. afzelii* 主要存在于我国北方。而此次在克拉玛依地区亚洲璃眼蜱中检测到 18 份伯氏疏螺旋体阳性,经测序均为 *B. burgdorferi sensu stricto* 基因型,在该地区属首次发现。基于:①Liu 等^[4]在新疆伊犁和阿勒泰地区家畜血液中也检测 *B. burgdorferi sensu stricto* 核酸;② Takada 等^[5]在新疆天山全沟硬蜱和啮齿动物中检测到 *B. garinii* 和 *B. afzelii* 核酸;③张璘^[2]在察布查尔县、伊宁县、石河子市、沙湾县、木垒县、塔城 6 县市检测到 *B. burgdorferi sensu stricto* 和 *B. garinii* 核酸,提示新疆北疆地区伯氏疏螺旋体基因型具有生物多样性。

(感谢中国疾病预防控制中心传染病预防控制所郝琴研究员在伯氏疏螺旋体分子鉴定中给予的大力支持)

参 考 文 献

[1] Norris DE, Klompen JS, Keirans JE, et al. Population genetics of ixodes scapularis (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 16S and 12S genes [J]. J Med Entomol, 1996, 33(1): 78-89.

[2] Zhang L. Distribution of tick and establish tick-borne pathogen detection methods on Northern of Xinjiang [D]. Shihezi; Shihezi University dissertation, 2014. (in Chinese)
张璘. 新疆北疆地区蜱种分布及蜱源性病原检测方法的建立 [D]. 石河子:石河子大学硕士学位论文, 2014.

[3] Niu QL, Guan GQ, Yang JF, et al. Investigations of *Borrelia burgdorferi* infection in ticks by PCR [J]. Chin J Prev Veter Med, 2010, 32(12): 984-987. (in Chinese)
牛庆丽, 关贵全, 杨吉飞, 等. 采用 PCR 方法对我国蜱伯氏疏螺旋体感染的流行病学调查 [J]. 中国预防兽医学报, 2010, 32(12): 984-987.

[4] Liu GY, Tian ZC, Xie JR, et al. *Borrelia burgdorferi* Bacteria in Domestic Animals China [J]. Epidemiol, 2013, 3(4): 4172-4173.

[5] Takada N, Masuzawa T, Ishiguro E, et al. Lyme disease *Borrelia* spp. in ticks and rodents from northwestern China [J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(11): 5161-5165.

(收稿日期: 2014-11-04)

(本文编辑: 王玉立)

3. 讨论: 在克拉玛依调查显示, 伯氏疏螺旋体寄生蜱阳性率为 18.75% (12/64), 游离蜱为 16.67% (6/36), 总感染率为 18.00% (18/100), 高于牛庆丽等^[3]对我国东南和东北地区蜱伯氏疏螺旋体的感染率 (14.09%), 提示克拉玛依地区人群尤其是石油工人可能存在莱姆病较高的感染率。