

我国恙虫病东方体分子流行病学研究进展

张鲁燕 毕振旺 赵仲堂

【关键词】 恙虫病东方体; 分子流行病学

Recent advances in molecular epidemiology of *Orientia tsutsugamushi* in China Zhang Luyan¹, Bi Zhenwang², Zhao Zhongtang¹. 1 Department of Epidemiology and Health Statistics, School of Public Health, Shandong University, Jinan 250012, China; 2 Institute for Bacterial Infectious Disease Control and Prevention, Shandong Center for Disease Control and Prevention
Corresponding author: Zhao Zhongtang, Email: ztzhao@sdu.edu.cn

This work was supported by a grant from the National Natural Science Foundation of China (No. 81273133).

【Key words】 *Orientia tsutsugamushi*; Molecular epidemiology

恙虫病是由恙虫病东方体(*Orientia tsutsugamushi*, *Ot*)引起的以发热、焦痂或溃疡、淋巴结肿大及皮疹为主要临床表现的一种自然疫源性疾病。在我国恙虫病流行原仅限于长江以南广大地区,但自 1986 年以来,秋冬型恙虫病作为一种新发传染病,于我国北方地区出现暴发和流行^[1]。2006—2010 年我国恙虫病报告发病率分别为 0.09/10 万、0.1/10 万、0.19/10 万、0.24/10 万和 0.31/10 万,流行强度逐年增加^[2]。恙虫病的流行特征、临床严重程度与感染 *Ot* 的型别有关^[3]。为此笔者主要从近年来对我国 *Ot* 表型和基因型的分布概况、相关分子生物学研究进展概况予以综述。

1. *Ot* 型别分布概况:于恩庶和吴光华^[4]将我国恙虫病疫源地以北纬 40°和北纬 31°为界划分为北方疫源地、过渡型疫源地和南方疫源地,高原区由于其独特性的生态环境,列为高原气候区疫源地。

(1)北方疫源地:北方疫源地包括位于北纬 40°以北与俄罗斯和朝鲜半岛接壤的沿海地区和岛屿^[4]。我国东北三省(黑龙江、吉林、辽宁)均证实存在恙虫病疫源地。鲁志新等^[5]对该地区 38 个市、县恙虫病血清学调查发现东北三省东部广泛存在该病,指出中国恙虫病流行区最北纬度是 49°30'。张志强等^[6,7]应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术对辽宁、吉林地区 *Ot* 分离株 56 kDa 型特异性抗原(TSA)分析其基因型发现,自辽宁省宽甸地区大仓鼠、大林姬鼠中分离的 3 株 *Ot* 酶切图谱与 Karp 型一致,属于

Karp 型;而分离自吉林省珲春地区黑线姬鼠、大林姬鼠和感染患者的 3 株 *Ot* 与 Gilliam 株的酶切图谱相似,但无 *Hinf* I 酶切位点。对分离自黑龙江省密山地区黑线姬鼠、大林姬鼠的 6 株 *Ot* 56 kDa TSA 目的基因分析发现,宿主鼠感染的 *Ot* 存在 Gilliam、Karp 和 Kato 三种型别。近年北方疫源地有关恙虫病病例的调查研究文献较少,但据鞠俊玲^[8]报道,辽宁省丹东市传染病医院于 2008 年 10 月至 2010 年 6 月收治恙虫病 98 例,其中误诊 28 例,提示该地恙虫病并非少见,且误诊率较高。

(2)过渡型疫源地:即北方疫源地和南方疫源地延伸的中间地带(北纬 31°~40°)^[4],包括天津、山东、江苏,以及山西、河北省的绝大部分地区。

山东省于 1986 年始流行于临沂地区,之后流行范围迅速扩大并向西北方向延伸。迄今该疫源地范围已扩大至 14 个市,约占全省 80% 的地区^[9]。刘运喜等^[10,11]对 1995—2006 年临沂地区的费县和邹平县恙虫病病例、鼠、恙螨研究发现, *Ot* 主要流行株与日本的 Kawasaki 型类似,但酶切图谱缺少 *Hha* I 酶切位点^[12];自费县黑线姬鼠、临淮岗纤恙螨分离的 *Ot* FXS2、HGM2 株,采用 56 kDa TSA 编码基因核苷酸序列分析发现,与 Karp 型序列同源性分别达 83.03% 和 96.45%^[11]。杨丽萍等^[13,14]于 2006 年调查发现泰安地区鼠类自然感染 *Ot* 基因型较为复杂,不仅存在与日本的 Kawasaki 型相似的 sdu-1 型,亦有与泰国 TA686 型相似的 sdu-2 型。比较老疫区(临沂)和新疫区(泰安)发现,鼠类 *Ot* 的自然感染率分别为 13.28% 和 5.88%,主要储存宿主是黑线姬鼠,在大仓鼠和小家鼠中亦发现有 *Ot* 感染;sdu-1 型是山东省疫源地的主要基因型。Zhang 等^[15]近年对泰安地区宿主鼠调查发现,至少存在 7 种 *Ot* 基因型,在系统发生树中可归为三类,即类 Kawasaki 型、类 Fuji 型和与国际参考株相似度较低的新型基因型株。

江苏省姜仁杰等^[16]对盐城市 2006—2010 年恙虫病调查发现,疫源地已从最南部的东台市扩大至最北部的响水县,推测近十几年来江苏省恙虫病疫源地范围已有相当大的扩展。但 *Ot* 型别未发生变化,一直为 Kawasaki 型。谈忠鸣等^[17]对 *Ot* 56 kDa TSA 基因可变区域做进化树分析,将江苏省 *Ot* 分为 3 个分支。即第一分支与山东株 Shandong-XDM2 最为接近,同源性为 99.9%;第二分支是江苏省独有,与 Shandong-XDM2 株同源性为 99.7%,与 Kawasaki 株同源为 96.9%;第三分支同日本报道的 Kawasaki、Oishi、Kanda、Taguchi 株序列完全一致,同源性为 100%。

山西省陈香蕊和郑乡占^[18]对 1995 年发生恙虫病流行的晋南地区人群血清学调查发现, *Ot* 抗体阳性率为 25%; *Ot*

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.01.021

基金项目:国家自然科学基金(81273133)

作者单位:250012 济南,山东大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系(张鲁燕、赵仲堂);山东省疾病预防控制中心(毕振旺)

通信作者:赵仲堂, Email:ztzhao@sdu.edu.cn

山西分离株(Sxh951、Sxh952、Sxh953、Sxm97)的血清型别为 Gilliam 株, 56 kDa TSA 基因序列分析提示 Sxh951 株与韩国 Yongchon 株亲缘关系最近。山西省恙虫病流行时间分布为 7—11 月, 高峰于 10 月; 大仓鼠为优势鼠种, 占当地鼠总数的 52.9%; 鼠体采集到恙螨 5 种, 姬鼠纤恙螨为优势螨种 (93.2%)。

京津地区 付秀萍等^[19]首次实验室证实北京市平谷区于 2009 年 9—11 月出现恙虫病暴发, 采用巢式聚合酶链反应 (nPCR) 技术对 30 份临床患者标本中 *Ot* 的热休克蛋白 (*groEL*) 基因和 56 kDa TSA 基因扩增、测序分析发现, 该地区 *Ot* 流行株与日本 Kawasaki 型有较近的亲缘关系。张颖等^[20]对 2007—2009 年天津市农牧地区 *Ot* 血清流行病学调查发现, 农牧人群恙虫病感染率有逐年上升趋势, 但该市 *Ot* 基因型分布情况尚未见研究报道。

安徽省 2007 年之前该省曾有恙虫病病例报告。2007 年 11 月滁州地区某部队发生该病暴发, 共 19 人患病^[21]; 2008 年和 2009 年 10—11 月阜阳市发生暴发, 患者主要是农民, 宿主动物主要为黑线姬鼠, 媒介主要是小板纤恙螨。病原学分析发现, *Ot* 型别为 Kawasaki 型^[2,22]; 同年, 蚌埠市也出现数十例患者^[23]; 2011 年合肥市发现 1 例患者, 其感染的 *Ot* 基因序列与昆明株和内蒙古株相似度达 100%, 为 Kuroki 型^[23]。此外安徽省还存在 Young whorl 型^[23]。

河南省 夏胜利等^[24]首次实验室证实淮滨县在 2005 年 9—11 月发生恙虫病暴发疫情, 18 例血清学分型为 Gilliam (4 例)、Karp (6 例)、Kato (8 例)。Zhang 等^[25]对患者感染 *Ot* 的 56 kDa TSA 蛋白基因分析发现, *Ot* 型别分属 Karp 型和台湾报道的 Kato 型。

(3) 南方疫源地: 指北纬 31° 以南的广大地区。该地区恙虫病流行历史悠久。该病在我国南方的分布东至台湾、福建, 西至云南、四川和西藏南部, 南至海南、广东和广西, 北至浙江和湖南。

福建省 是我国历史上恙虫病危害严重的地区, 流行特点为夏季型, 但自 2000 年始出现春季恙虫病病例^[26]。2006—2009 年恙虫病流行强度逐年增加, 同时具有地域集中性和蔓延性^[27]。潘亮等^[28]调查表明该省恙病患者主要分布在东南沿海 20 多个县市, 发病人数约占全省发病总数的 95%。何似等^[29]对福建省 *Ot* 型别调查发现, 从鼠和恙螨中分离出的 *Ot* 株主要是 Karp 和 Gilliam 型; 自病例血液中分离出的 *Ot* 株主要是 Gilliam 和 Karp-Gilliam 混合型; 不同地理区划中分离出的 *Ot* 主要型别略有差异, 在闽西北山地分离的东方体以 Karp 型为主, 东南沿海丘陵平原区以 Gilliam 为主, 而闽中闽西山地存在 TA716 型。2000—2005 年平潭县收集到的 28 例中, 分离出 3 株 *Ot* 株 (Ptan, Ptan2, Ptan3) 的同源性高于 99.8%, 与 Karp 株的同源性高于 96%^[26]。

台湾省 该地区 *Ot* 感染型别存在多样性^[30,31]。2009 年 Kelly 等^[31]分析表明 *Ot* 型别的株群包括类 Karp、Saitama、TA763、JG、JG-v 和类 Kato 株群。此后, Yang 等^[32]采用 PCR-RFLP 技术针对 *Ot* 56 kDa TSA 基因分析了台湾东部地区 2006—2008 年 3 223 份疑似病例血液标本, 发现 Taiwan-H

是该地主要流行株, 是 Gilliam、Ikeda 和 Kato 型的重组体, 其次是 Karp 株和 Taiwan-A 株。Lin 等^[30]从台湾本土及离岸岛屿 (如澎湖列岛、金门岛等) 捕获的野鼠和螨体分离出 68 株 *Ot*, 分析发现 37% 为类 Karp 株, 27% 为 TA763 株, 12% 为类 JG 株, 19% 属于类 Kato 株, 4% 不属于上述任何株群, 1% 为 Gilliam 原型株。Lu 等^[33]从台湾本土和金门岛、马祖岛和澎湖列岛收集到恙虫病病例血中分离出的 *Ot* 包含 Karp 型、Kawasaki 型、Kuroki 型和另外两种新的基因型。

(4) 高原气候区疫源地^[9]: 包括西藏、新疆南疆、青海、四川西部、甘肃南部以及云南北部的广大地区。该地区均有独特的高原区生态特性。自 2004 年在新疆伊犁、昌吉和博乐地区的野鼠和某些鸟类中陆续发现有 *Ot* 感染, 采用 nPCR 对 *Ot* 56 kDa TSA 编码基因片段予以核苷酸序列测序分析发现, 该地 *Ot* 型别主要是 Karp 型^[34-37]。张倩等^[34]在内蒙古地区捕获的 90 只鼠中, 6 只检测出 *Ot* 感染阳性, 并发现有类 Taitung-2 和 Oishi 株流行。系统进化树分析表明, 3 株位于 Karp 株所在的分支, 2 株与 Gilliam 株相似, 1 株位于 Kawasaki 分支^[31]。

2. *Ot* 型别鉴定技术: 血清学分型在研究早期占主要地位, 但由于不同菌株抗体间存在交叉反应、结果重复性差等原因, 使血清学分型的应用受到限制。而基因分型分辨力高、结果评价客观成当今广泛使用的 *Ot* 分型方法。*Ot* 基因分型是以 DNA 序列信息为基础的病原体分型技术, 方法多样。如针对全基因组分析的脉冲场凝胶电泳 (PFGE); 针对单个或多个基因分析的 PCR 和 PCR-RFLP, 多位点序列分型 (MLST) 和 PCR-Sequencing 分型; 针对非编码序列的 MST (multiple spacer typing) 分型等^[38]。目前 PFGE 和 MST 在 *Ot* 分型中的应用研究较少, 使用最多的是 PCR 及其衍生技术, 其次是 MLST。

目前国内外应用于 *Ot* 检测的 PCR 及其相关技术主要是常规 PCR、nPCR 和实时荧光定量 PCR。常规 PCR 可快速特异扩增已知目的基因或 DNA 片段, 但易出现假阴性。为提高诊断效率, 通常将常规 PCR 与 RFLP 或单链构型多态性 (SSCP) 联用 (PCR-RFLP、PCR-SSCP)^[39]。如 Yang 等^[32]用 PCR 技术扩增出 *Ot* 56 kDa TSA 基因, 结合 RFLP 鉴定了 4 株原型株 (Karp、Kato、Kawasaki、Gilliam) 和 11 株台湾株。刘运喜等^[40]采用 PCR-SSCP 方法将 1999—2002 年收集的山东省费县和邹平县病例、鼠、恙螨标本中的 *Ot* 型别鉴定为 Kawasaki 型和 Karp 型, 所得结果分别与 nPCR 基因分型结果、血清学分析结果一致。Liu 等^[10]和杨丽萍等^[41]采用 nPCR 技术发现山东省主要流行株是与日本株亲缘关系较近的 Kawasaki 型。nPCR 虽然有助于鉴定新的基因型, 但不能辨别点突变, 基因序列分析 (nucleotide sequence analysis) 则可弥补该缺点。Wongprompitak 等^[42]采用 nPCR 扩增出泰国多个地区 *Ot* 的 56 kDa TSA 基因 4 个可变区, 应用序列分析确定了当前泰国 *Ot* 流行株包括与之前报道一致的 4 个型 (Karp、JG-v、TA763 和 Kato) 和未报道的 2 个新基因型 (TH2015 和 TH4022), 并证实泰国主要流行型为 Karp 型。由此可见 nPCR 联合基因序列分析技术在今后恙虫病流行株的

诊断鉴别和流行病学调查中起到重要作用。实时荧光定量PCR在恙虫病早期诊断中发挥了重要作用^[43],其靶基因序列常用 *groEL* 基因^[44]、56 kDa 主要外膜蛋白基因^[45]和 47 kDa 表面抗原基因^[46]。其中 Paris 等^[44]认为分子伴侣 *groEL* 基因序列更保守,特异性更高,作为实时荧光定量 PCR 的目的基因有更好的应用前景。而 MLST 分型无需分离菌株,通过 PCR 扩增和核酸序列测定可快速得到准确结果,便于不同实验室之间的比较^[47]。

3. 小结与展望:

(1) 我国 *Ot* 感染分布特征: 北方疫源地相关报道较少, 现有资料表明黑龙江省密山地区鼠感染的 *Ot* 存在 Gilliam, Karp 和 Kato 三种基因型别; 吉林省珲春地区鼠和病例感染的 *Ot* 分离株血清型为 Gilliam 型; 辽宁省宽甸地区鼠曾分离出 Karp 型 *Ot*。该类疫源地的主要流行型别尚无法确定。过渡型疫源地流行特点为秋冬型, 主要基因型别为 Kawasaki 型, 此外还存在 Karp 型(山东、河南省)、类 Fuji 型、SDM1 和 SDM2 型(山东省), Yongchon 型(山西省), Kuroki 和 Young whorl 型(安徽省), Kato 型(河南省); 血清学调查表明广泛存在 Gilliam 型(山东、河南、山西、河北省), Karp 型(山东、河南省和天津市)和 Kato 型(山东、河南省)。南方各地恙虫病研究比较系统, *Ot* 感染型别多样, 但以 Karp 型为主, 还存在 Saitama、TA763、JG、JG-v 和类 Kato 型, 并不断有新基因型报道^[31,32]。高原气候区疫源地相关研究很少, 现有资料表明内蒙古、新疆地区鼠感染的 *Ot* 基因型别较为复杂, 包括 Karp、类 Taitung-2 和 Oishi 等。

(2) *Ot* 感染多样性研究的意义: *Ot* 感染具有多样性。Kelly 等^[31]对来自世界各地 271 条 *Ot* 的 56 kDa 抗原基因序列同源性分析表明, 大致分属于 Karp-related、Saitama、Kuroki、TA763、Gilliam、Kawasaki、JG、Kato 和 Shimokoshi 共 9 个分化支, 建议各地 *Ot* 疫苗的研制应包含当地新发现的流行株。不同型别的 *Ot* 毒力不尽相同。Nagano 等^[48]将 *Ot* 按对小鼠毒力的不同归为强毒、中毒、弱毒株三类, 其中 Karp、Kato 属于强毒株, Kawasaki、Kuroki 属于弱毒株, Gilliam 毒力介于两者之间。感染不同型别的 *Ot* 后, 临床表现有差异。Kim 等^[49]发现 Boryong 和 Karp 型 *Ot* 感染者的焦痂和皮疹发生率明显不同。因此 *Ot* 感染型别的研究可为不同地区该病防治策略提供理论依据。其次, 研究 *Ot* 感染多样性也可为该地区临床医生提供血清学和分子生物学诊断依据。目前血清学诊断仍是临床上诊断恙虫病的主要方式, 其中间接免疫荧光试验 (IFA) 被视为金标准。通常情况下 IFA 所使用的抗原仍局限于传统的 Gilliam、Karp 和 Kato 三种原型株, 但 *Ot* 感染存在多样性大大降低了其诊断价值。例如韩国 >75% 的分离株血清型为 Boryong 型^[50]。因此, Gavin 等^[51]建议各地区应将本地主要的流行株作为血清学检测时的抗原; 同时根据当地的主要流行株设计 PCR 引物, 提高检测灵敏度。

(3) 展望: 近年来恙虫病在许多地区新发流行或复燃, 随着该病成为与旅游相关的疾病以及 *Ot* 耐药株的出现, 其预防控制问题在国际上受到广泛关注^[52]。中国疾病预防控制中心已于 2006 年恢复了对该病流行情况的监测。但由于该病

在我国大陆尚不属于法定传染病等原因, 许多地区对该病缺乏重视和系统研究。现有资料表明, 目前我国恙虫病疫区呈全国分布, 流行强度不断上升。建议各地进一步加强对该病的病例监测, 加强媒介与宿主动物的监测, 并进行系统流行病学和分子流行病学研究。

参 考 文 献

- [1] Yu ES. Current epidemic characteristics of scrub typhus in China [J]. Chin J Epidemiol, 1997, 18(1): 56. (in Chinese)
于恩庶. 我国目前恙虫病流行特征分析 [J]. 中华流行病学杂志, 1997, 18(1): 56.
- [2] Fang YR. Investigation on natural foci of scrub typhus in Fuyang city of Anhui province, China [M]. Anhui: Anhui Medical University, 2012. (in Chinese)
方益荣. 安徽省阜阳市恙虫病疫源地调查研究 [M]. 安徽医科大学, 2012.
- [3] Duong V, Mai TT, Blasdel K, et al. Molecular epidemiology of *Orientia tsutsugamushi* in Cambodia and central Vietnam reveals a broad region-wide genetic diversity [J]. Infect Genet Evol, 2013, 15: 35-42.
- [4] Yu ES, Wu GH. Epidemiological types of tsutsugamushi disease in China [J]. Chin J Zoonoses, 1995, 11(6): 16-19. (in Chinese)
于恩庶, 吴光华. 我国恙虫病的流行病学类型 [J]. 中国人兽共患病杂志, 1995, 11(6): 16-19.
- [5] Lu ZX, Wen QL, Xie ZG, et al. Investigation on *Rickettsia tsutsugamushi* antibodies of human serum from northeast of China [J]. Chin J Zoonoses, 1999, 15(4): 106. (in Chinese)
鲁志新, 温青莉, 解志刚, 等. 东北三省部分地区人血清恙虫病立克次体抗体调查 [J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(4): 106.
- [6] Zhang ZQ, Hu LM, Lu ZX, et al. The analysis on the gene type of the isolated strains of *Orientia tsutsugamushi* from Liaoning and Jilin areas by way of PCR and RFLP [J]. Chin J Zoonoses, 2000, 16(6): 51-53. (in Chinese)
张志强, 胡玲美, 鲁志新, 等. 应用 PCR/RFLP 对辽宁、吉林地区恙虫病东方体分离株的基因型分析 [J]. 中国人兽共患病杂志, 2000, 16(6): 51-53.
- [7] Zhang ZQ, Hu LM, Lu ZX, et al. Gene typing of *Orientia tsutsugamushi* isolated strain from Heilongjiang by polymerase chain reaction [J]. Chin J Zoonoses, 2003, 19(6): 75-76. (in Chinese)
张志强, 胡玲美, 鲁志新, 等. 恙虫病东方体黑龙江分离株的 PCR 分型 [J]. 中国人兽共患病杂志, 2003, 19(6): 75-76.
- [8] Ju JL. Causes analysis of misdiagnosis of scrub typhus in 28 cases in Dandong [J]. Chin Mod Med, 2011, 18(36): 127-128. (in Chinese)
鞠俊玲. 丹东地区 28 例恙虫病误诊原因分析 [J]. 中国当代医药, 2011, 18(36): 127-128.
- [9] Zhang M, Wang XJ, Zhao ZT. Current epidemic status and issues on prevention and control of scrub typhus [J]. Chin J Epidemiol, 2011, 32(4): 419-423. (in Chinese)
张萌, 王显军, 赵仲堂. 中国恙虫病流行态势及预防控制 [J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(4): 419-423.
- [10] Liu YX, Jia N, Xing YB, et al. Consistency of the key genotypes

- of *Orientia tsutsugamushi* in scrub typhus patients, rodents, and chiggers from a new endemic focus of northern China [J]. Cell Biochem Biophys, 2013, [Epub ahead of print].
- [11] Liu YX, Gao Y, Zhao ZT, et al. Amplification and typing of Sta56 gene of *Orientia tsutsugamushi* from Shandong province [J]. Chin J Epidemiol, 2004, 25(8): 698-701. (in Chinese)
刘运喜, 高媛, 赵仲堂, 等. 山东地区恙虫病东方体 Sta56 基因片段扩增与分型研究[J]. 中华流行病学杂志, 2004, 25(8): 698-701.
- [12] Liu YX, Zhao ZT, Gao Y, et al. Characterization of *Orientia tsutsugamushi* strains isolated in Shandong province, China by immunofluorescence and restriction fragment length polymorphism (RFLP) analyses [J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2004, 35(2): 353-357.
- [13] Yang LP, Yang HL, Li Z, et al. Investigation on rodents' natural infection of *Orientia tsutsugamushi* in Tai' an area of Shandong, China [J]. Chin J Public Health, 2008, 24(7): 877-878. (in Chinese)
杨丽萍, 杨会利, 李忠, 等. 山东省泰安市鼠类自然感染恙虫病东方体调查[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(7): 877-878.
- [14] Yang LP, Zhao ZT, Li Z, et al. Comparative analysis of nucleotide sequences of *Orientia tsutsugamushi* in different epidemic areas of scrub typhus in Shandong, China [J]. Am J Trop Med Hyg, 2008, 78(6): 968-972.
- [15] Zhang M, Zhao ZT, Wang XJ, et al. Genetic variants of *Orientia tsutsugamushi* in domestic rodents, northern China [J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(7): 1135-1137.
- [16] Jiang RJ, Shen JJ, Zhang YS, et al. Epidemiological study of scrub typhus disease in Yancheng city during 2006 to 2010 [J]. J Med Pest Control, 2011, 27(12): 1079-1081. (in Chinese)
姜仁杰, 沈进进, 张盐妹, 等. 盐城市2006—2010年恙虫病流行病学研究[J]. 医学动物防制, 2011, 27(12): 1079-1081.
- [17] Tan ZM, Li ZF, Chu K, et al. Molecular epidemiological study of the outbreak of scrub typhus disease in Jiangsu area in 2011 [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2012, 32(9): 769. (in Chinese)
谈忠鸣, 李志峰, 储凯, 等. 江苏地区2011年恙虫病暴发的分子流行病学研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2012, 32(9): 769.
- [18] Chen XR, Zheng XZ. Investigation of scrub typhus in Shanxi province and study on its etiology [J]. Bull Acad Mil Med Sci, 2000, 24(4): 275-277. (in Chinese)
陈香蕊, 郑乡占. 山西省恙虫病调查与病原学研究[J]. 军事医学科学院院刊, 2000, 24(4): 275-277.
- [19] Fu XP, Liu YY, Zhang BH, et al. Laboratory confirmation of scrub typhus outbreak in Pinggu district, Beijing [J]. Chin J Vector Bio Control, 2011, 22(2): 137-140. (in Chinese)
付秀萍, 刘玉英, 张宝华, 等. 首次实验室证实北京平谷地区恙虫病东方体暴发流行[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2011, 22(2): 137-140.
- [20] Zhang Y, Zhang ZL, Yin JY, et al. Sero-epidemiological investigation on *Rickettsia typhi*, *Bartonella henselae* and *Orientia tsutsugamushi* in farmers from rural areas of Tianjin, 2007-2009 [J]. Chin J Epidemiol, 2011, 32(3): 256-259. (in Chinese)
张颖, 张之伦, 阴杰莹, 等. 天津市农牧地区2007—2009年莫氏立克次体、横赛巴尔通体、恙虫病东方体血清流行病学调查[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(3): 256-259.
- [21] Wang MR, Yu LC, He CL, et al. Epidemiological investigation on an outbreak of tsutsugamushi disease in Anhui province [J]. Chin J Exp Clin Infect Dis: Electronic Version, 2008, 2(3): 174-177. (in Chinese)
汪茂荣, 于乐成, 何长伦, 等. 安徽地区一起恙虫病暴发流行的调查分析[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2008, 2(3): 174-177.
- [22] Zhang S, Song H, Liu Y, et al. Scrub typhus in previously unrecognized areas of endemicity in China [J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(4): 1241-1244.
- [23] Cao M, Geng ML, Chen LR, et al. PCR amplification and phylogenetic analysis of the partial gene segment of 56 kDa protein of *Orientia tsutsugamushi* from the first case of scrub typhus in Hefei city [J]. Acta Parasitol Med Entomol Sin, 2013, 20(1): 31-34. (in Chinese)
操敏, 耿美玲, 陈乐如, 等. 合肥首例恙虫病病人血中东方体56 kDa外膜蛋白部分基因的扩增及进化分析[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2013, 20(1): 31-34.
- [24] Xia SL, Shen XJ, Deng WB, et al. The lab identification on tsutsugamushi disease for the first outbreak in Henan province [J]. Chin J Vector Bio Control, 2007, 18(3): 230-233. (in Chinese)
夏胜利, 申晓靖, 邓文斌, 等. 河南省首次实验室证实恙虫病暴发疫情[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2007, 18(3): 230-233.
- [25] Zhang L, Jin Z, Xia S, et al. Follow-up analysis on the epidemic strains of *Orientia tsutsugamushi* in the first outbreak of scrub typhus in Henan province, China [J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2007, 38(3): 482-486.
- [26] Cao M, Guo HB, Tang T, et al. Spring scrub typhus, People's Republic of China [J]. Emerg Infect Dis, 2006, 12(9): 1463-1465.
- [27] He S, Xie ZH, Chen Y, et al. Epidemiological characteristics of scrub typhus from 2006 to 2009 in Fujian province [J]. Chin J Dis Control Prev, 2011, 15(2): 123-125. (in Chinese)
何似, 谢忠杭, 陈阳, 等. 福建省2006—2009年恙虫病流行特征分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2011, 15(2): 123-125.
- [28] Pan L, Xu GY, Pan MN, et al. The dynamics and issues in the study of 6 kinds of zoonosis in recent years in Fujian [M]. Quanzhou: Fujian of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2011. (in Chinese)
潘亮, 徐国英, 潘敏楠, 等. 福建6种人兽共患病近年研究的动态与问题[M]. 泉州: 福建畜牧兽医, 2011.
- [29] He S, Li SQ, Yu ES. Investigation of *Orientia tsutsugamushi* serotype in Fujian [J]. Strait J Prev Med, 2000, 6(4): 28-29. (in Chinese)
何似, 李世清, 于恩庶. 福建恙虫病东方体型别的调查[J]. 海峡预防医学杂志, 2000, 6(4): 28-29.
- [30] Lin PR, Tsai HP, Tsui PY, et al. Genetic typing, based on the 56-kilodalton type-specific antigen gene, of *Orientia tsutsugamushi* strains isolated from chiggers collected from wild-caught rodents in Taiwan [J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(10): 3398-

- 3405.
- [31] Kelly DJ, Fuerst PA, Ching WM, et al. Scrub typhus: the geographic distribution of phenotypic and genotypic variants of *Orientia tsutsugamushi* [J]. Clin Infect Dis, 2009, 48 Suppl 3: S203-230.
- [32] Yang HH, Huang IT, Lin CH, et al. New genotypes of *Orientia tsutsugamushi* isolated from humans in eastern Taiwan [J]. PLoS One, 2012, 7(10): e46997.
- [33] Lu HY, Tsai KH, Yu SK, et al. Phylogenetic analysis of 56-kDa type-specific antigen gene of *Orientia tsutsugamushi* isolates in Taiwan [J]. Am J Trop Med Hyg, 2010, 83(3): 658-663.
- [34] Zhang Q, Liu YX, Wu XM, et al. Investigation on rodents' natural infection of *Orientia tsutsugamushi* in some areas of Inner Mongolia and Xinjiang, China [J]. Chin J Epidemiol, 2006, 27(6): 475-478. (in Chinese)
张倩, 刘运喜, 吴晓明, 等. 中国内蒙古、新疆部分地区鼠类自然感染恙虫病东方体的调查 [J]. 中华流行病学杂志, 2006, 27(6): 475-478.
- [35] Ren LS, Dang RL, Liu XM, et al. Investigation on animal natural infection of *Orientia tsutsugamushi* in some areas of Changji area in Xinjiang [J]. J Trop Med, 2011, 11(9): 1052-1053, 1068. (in Chinese)
任立松, 党荣理, 刘晓明, 等. 新疆昌吉部分地区动物感染恙虫病东方体调查 [J]. 热带医学杂志, 2011, 11(9): 1052-1053, 1068.
- [36] Dang RL, Ren LS, Gao JZ, et al. Investigation on natural epidemic focus of *Orientia tsutsugamushi* in Bole area in Xinjiang, China [J]. Chin J Zoonoses, 2012, 28(8): 846-849. (in Chinese)
党荣理, 任立松, 高金拽, 等. 新疆博乐地区恙虫病东方体自然疫源地调查 [J]. 中国人兽共患病学报, 2012, 28(8): 846-849.
- [37] Dang RL, Ren LS, Gao JZ, et al. Investigation on rodents infection of *Orientia tsutsugamushi* in some areas of Nalati Grassland, Xinjiang Uygur Autonomy Region, China [J]. Acta Parasitol Med Entomol Sin, 2011, 18(2): 81-83. (in Chinese)
党荣理, 任立松, 高金拽, 等. 新疆伊犁那拉提草原啮齿动物感染恙虫病东方体调查 [J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2011, 18(2): 81-83.
- [38] Jiang MM, Mao XH, Zhang SY. Advances in research of genetic identification of *Rickettsia* [J]. Int J Lab Med, 2011, 32(4): 474-476. (in Chinese)
蒋明明, 毛旭虎, 张守印. 立克次体基因分型研究进展 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(4): 474-476.
- [39] Du B, Chi DF. The application of PCR-SSCP in the research of entomology [J]. Chin Bull Entomol, 2007, 44(3): 333-336. (in Chinese)
杜波, 迟德富. PCR-SSCP 技术在昆虫学研究中的应用 [J]. 昆虫知识, 2007, 44(3): 333-336.
- [40] Liu YX, Zhao ZT, Gao Y, et al. Improvement on conditions of PCR-SSCP and its application in rapid genotyping of *Orientia tsutsugamushi* [J]. Chin J Public Health, 2004, 20(4): 400-402. (in Chinese)
刘运喜, 赵仲堂, 高媛, 等. PCR-SSCP 在恙虫病东方体基因分型中的应用 [J]. 中国公共卫生, 2004, 20(4): 400-402.
- [41] Yang LP, Zhao ZT, Liu YX, et al. Genotype identification and sequence analysis of *Orientia tsutsugamushi* isolated from Shandong area [J]. Chin J Epidemiol, 2006, 27(12): 1061-1064. (in Chinese)
杨丽萍, 赵仲堂, 刘运喜, 等. 山东地区恙虫病东方体分离株的基因分型与序列分析 [J]. 中华流行病学杂志, 2006, 27(12): 1061-1064.
- [42] Wongprompitak P, Anukool W, Wongsawat E, et al. Broad-coverage molecular epidemiology of *Orientia tsutsugamushi* in Thailand [J]. Infect Genet Evol, 2013, 15: 53-58.
- [43] Liu XR, Zhang L, Wang YP. Theory study and medical application of real-time quantitative polymerase chain reaction [J]. Chin J Clin Rehabil Tissue Engin Res, 2010, 14(2): 329-332. (in Chinese)
刘小荣, 张笠, 王勇平. 实时荧光定量 PCR 技术的理论研究及其医学应用 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(2): 329-332.
- [44] Paris DH, Aukkanit N, Jenjaroen K, et al. A highly sensitive quantitative real-time PCR assay based on the *groEL* gene of contemporary Thai strains of *Orientia tsutsugamushi* [J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 15(5): 488-495.
- [45] Bakshi D, Singhal P, Mahajan SK, et al. Development of a real-time PCR assay for the diagnosis of scrub typhus cases in India and evidence of the prevalence of new genotype of *O. tsutsugamushi* [J]. Acta Trop, 2007, 104(1): 63-71.
- [46] Singhsilarak T, Leowattana W, Looareesuwan S, et al. Short report: detection of *Orientia tsutsugamushi* in clinical samples by quantitative real-time polymerase chain reaction [J]. Am J Trop Med Hyg, 2005, 72(5): 640-641.
- [47] Zhang SM, Xu JG. Multilocus sequence typing and its application [J]. Dis Surveil, 2008, 23(10): 648-650. (in Chinese)
张少敏, 徐建国. 多位点序列分型及其应用 [J]. 疾病监测, 2008, 23(10): 648-650.
- [48] Nagano I, Kasuya S, Noda N. Virulence in mice of *Orientia tsutsugamushi* isolated from patients in a new endemic area in Japan [J]. Microbiol Immunol, 1996, 40(10): 743-747.
- [49] Kim DM, Yun NR, Neupane GP, et al. Differences in clinical features according to Boryoung and Karp genotypes of *Orientia tsutsugamushi* [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e22731.
- [50] Ree H, Kim TE, Lee IY, et al. Determination and geographical distribution of *Orientia tsutsugamushi* serotypes in Korea by nested polymerase chain reaction [J]. Am J Trop Med Hyg, 2001, 65(5): 528-534.
- [51] Gavin CKWK, Richards JM, Daniel HP, et al. Review: diagnosis of scrub typhus [J]. Am J Trop Med Hyg, 2010, 82(3): 368-370.
- [52] Watt G, Parola P. Scrub typhus and tropical rickettsioses [J]. Curr Opin Infect Dis, 2003, 16: 429-436.

(收稿日期: 2013-08-31)

(本文编辑: 张林东)