

· 现场调查 ·

云南省西部地区鼠群中巴尔通体感染的调查

白鹤鸣 杨发莲 杨慧 张青

【摘要】 目的 了解云南省西部地区鼠类中巴尔通体(*Bartonella* species)的感染情况。方法 2004 年在景东、南华、盈江、龙陵等县捕捉活鼠,采集捕获鼠全血标本,用含 5% 兔心血的脑心浸液琼脂培养基分离巴尔通体,可疑标本用聚合酶链反应扩增枸橼酸合酶基因(*gltA*)的特异片段(379 bp)加以证实。结果 4 个县共捕获鼠类 397 只,为 1 个属 4 个种,分属大足鼠、黄胸鼠、褐家鼠以及斑胸鼠。从 397 份标本中分离到巴尔通体 54 株,分离率为 13.6%(54/397)。菌株分布于各调查点的鼠种中,大足鼠的分离率为 22.0%(22/100)、黄胸鼠 14.8%(31/210)、褐家鼠为 1.2%(1/87)、斑胸鼠阴性。结论 云南省西部地区的鼠类中存在着较为广泛的巴尔通体的感染,还需要对相关疾病传播关系做进一步的研究。

【关键词】 鼠群; 巴尔通体属; 调查

Study on *Bartonella* species in rodents in western Yunnan, China BAI He-ming*, YANG Fa-lian, YANG Hui, ZHANG Qing. *Yunnan Institute of Endemic Disease Control and Prevention, Dali 671000, China

【Abstract】 Objective To study the infection status of *Bartonella* spp. in rodents in western part of Yunnan province. **Methods** Blood samples were collected from four species of rodents captured in four counties in western Yunnan in 2004. *Bartomella* was isolated through being cultured in brain and heart infusion agar media containing 5% rabbit blood. Suspective *Bartomella* strains isolates were confirmed by amplification of 379 bp of citrate synthase(*gltA*) gene with specific primer by polymerase chain reaction (PCR). **Results** Fifty-four strains of *Bartomella* isolates were obtained from 397 samples including four rodent species captured in the fields with an overall isolation-rate of 13.6% (54/397). The rates of isolation among different species were: 22.0% (22/100) in *Rattus nitidus*, 14.8% (31/210) in *Rattus flavipectus* and 1.2% (1/87) in *Rattus norvegicus* while in *R. t. yunnanensis* it was negative. **Conclusion** These findings demonstrated that the local rodents in western Yunnan were widely infected by *Bartomella* spp. It is indispensable to study the vector and the route of transmission to discover the relations between *Bartomella* and human diseases.

【Key words】 Rodent community; *Bartonella*; Investigation

巴尔通体(*Bartomella* species)是一个在自然界存在已久的病原体,直到二十世纪八九十年代才被人们逐渐认识,并发现广泛存在于鼠、猫、狗、羊、鹿等动物体内^[1-4]。至今已发现 21 个种^[5-8]。研究表明,很多与鼠类相关的巴尔通体也可感染人类引起广泛的临床体征和症状^[9-11]。为此鼠类作为巴尔通体的重要保存宿主受到了广泛关注。基于已知云南省一些地方鼠类中巴尔通体的流行情况^[12,13],本研究进一步调查了云南省西部地区鼠类中的巴尔通体流行情况,为巴尔通体的地理流行病学研究提供证据。

材料与方 法

1. 调查地点:2003 年在云南省的南华、景东、盈江、龙陵等县采用布笼、电猫、挖洞灌水驱逐等方法捕捉活鼠。

2. 采集标本:用乙醚熏蒸麻醉动物,对其种类、性别、年龄进行鉴定,编号记录,收集鼠体表寄生虫,然后用 3%~5% 的煤皂酚溶液消毒鼠体皮肤,经股动脉取血,解剖后取脑、肝、脾、肺等脏器组织,所有标本装入冻存管后保存在 -196℃ 的液氮容器中待检。

3. 巴尔通体分离与培养:用脑心浸液(BHI)将被检鼠血按 1:4 稀释,取 100 μl 接种于含 5% 兔心血的 BHI 琼脂培养基(加入 5% 的两性霉素 B 抑制真

菌)中,置含 5% 的 CO₂ 培养箱中,35℃ 下培养最长 40 天,对疑似巴尔通体菌落进行 1~4 次纯分后,收集纯菌培养物于含 BHI 和甘油各 50% 的冻存管中,储存于 -70℃ 低温冰箱。

4. 巴尔通体的证实:对可疑巴尔通体菌株,使用煮沸法提取染色体 DNA,制成模板后,-20℃ 保存备用。聚合酶链反应(PCR)采用的引物是具有巴尔通体属水平特异性的引物(BhCS781.p-BhCS1137.n),扩增枸橼酸合酶基因(*glcA*)的 379 bp 片段以证实是否巴尔通体。上游引物 BhCS.781p 碱基序列为:5'-GGG GAC CAG CTC ATG GTG G-3',下游引物 BhCS.1137n 碱基序列为:5'-AAT GCA AAA AGA ACA GTA AAC A-3'。PCR 反应体系总量为 20 μl,含以下成分:北京天为时代科技有限公司的 Pfu MasterMix 17 μl,正向、反向引物各 1 μl,模板 1 μl。扩增程序为 95℃ 2 min,48℃ 30 s,72℃ 30 s,再按 94℃ 30 s,48℃ 30 s,72℃ 30 s 行 30 个循环,72℃ 延伸 5 min 结束。取 6 μl PCR 扩增产物于 1.5% 的琼脂糖凝胶经 80~100 V 40 min 电泳,设标准分子量(Marker,50 bp Ladder),阴性对照(用去离子水代替模板)。

结 果

1. 标本采集情况:在南华、景东、盈江、龙陵县共捕鼠 397 只,为 1 属 4 种,其中黄胸鼠(*R. flavipectus*)208 只、斑胸鼠(*R. yunnanensis*)2 只、褐家鼠(*R. norvegicus*)87 只、大足鼠(*R. nitidus*)100 只。南华县捕鼠 100 只,包括黄胸鼠 13 只,褐家鼠 87 只;景东县捕大足鼠 100 只;盈江县捕黄胸鼠 113 只;龙陵县捕黄胸鼠 82 只,斑胸鼠 2 只。

2. 巴尔通体在鼠类中的感染及分布:对 397 份鼠血标本进行巴尔通体的分离,1-6 周后陆续生长,可见琼脂表面有灰色、圆形凸起、光滑和粗糙的微小菌落陆续生长。经革兰染色后在高倍镜下观察,可

见极其微小的杆菌或球杆菌,革兰染色阴性,但由于巴尔通体对革兰染色的染料结合不强,脱色时间不易掌握,有时会发现菌体着色不好,导致观察困难。而姬姆萨染色观察效果最佳,为蓝色。用可疑的 78 份培养物提取细菌染色体 DNA 制成模板,用国外已经研究成熟的可在属水平鉴定巴尔通体的 *glcA* 引物进行 PCR 扩增,结果在来自不同地区、不同鼠种的 56 份标本中观察到了 *glcA* 基因的特异性扩增带(379 bp),从而证实为巴尔通体。巴尔通体分离率为 14.1% (56/379)。最后经 1~4 次纯分后收集菌株 44 株。所有菌株分布于调查地区的 3 个鼠种,其中从南华县分离到了 1 株巴尔通体,分离率为 1%;从景东县分离到 22 株巴尔通体,分离率为 22.0%;从盈江县分离到 23 株巴尔通体,分离率为 20.3%;龙陵县分离到了 8 株巴尔通体,分离率为 9.5%。不同鼠种巴尔通体分离率:大足鼠为 22.0%,黄胸鼠为 14.8%,褐家鼠为 1.2%,斑胸鼠未分离到巴尔通体;总分离率为 13.6% (表 1)。

讨 论

对云南省西部地区 4 个县的优势鼠种的调查表明,巴尔通体在这些地区的鼠类中广泛分布,分离率为 13.6%,与以往调查相比,本次调查巴尔通体分离率偏低,其原因可能是南华县标本在采集过程中受到污染而未能有效进行巴尔通体分离,分离和实际感染率之间存在着一些误差。这些材料准备再用 PCR 方法证实巴尔通体的存在,以确定准确的感染率。此前,在云南的宜良县、保山市、大理市、剑川县、屏边县、思茅市、孟连县、耿马县等地开展的巴尔通体调查结果显示,鼠类中的巴尔通体感染率达 44.3%,已证实携带巴尔通体的鼠种有:大林姬鼠、齐氏姬鼠、中华姬鼠、大绒鼠、黄胸鼠、斑胸鼠、褐家鼠^[8,9]。在本次调查中,首次从大足鼠体内分离出巴尔通体。

表1 云南省 4 个调查点鼠类巴尔通体分离情况

鼠 种	南华县		景东县		盈江县		龙陵县		合 计	
	样本数	阳性数	样本数	阳性数	样本数	阳性数	样本数	阳性数	样本数	阳性数
大足鼠	0	0(0)	100	22(22.0)	0	0(0)	0	0(0)	100	22(22)
黄胸鼠	13	0(0)	0	0(0)	113	23(20.3)	84	8(9.5)	210	31(14.8)
斑胸鼠	0	0(0)	0	0(0)	0	0(0)	0	0(0)	0	0(0)
褐家鼠	87	1(1.2)	0	0(0)	0	0(0)	0	0(0)	87	1(1.2)
合 计	100	1(1.0)	100	22(22.0)	113	23(20.3)	84	8(9.5)	397	54(13.6)

注:括号内数据为阳性率(%)

综合分析以往调查结果,巴尔通体在云南省分布广,感染多种鼠类。需进一步研究与探索用分子生物学和其他方法区分这些鼠类携带或感染的巴尔通体种类,找出其中与人类疾病有关的巴尔通体,进行流行病学分析,才能为目前一些不明原因的临床疾病的诊断提供线索^[9],采取有效的防治措施。

(云南省盈江县鼠疫防治所,龙陵县、景东县、南华县疾病预防控制中心等单位参加了现场工作,在此一并致谢)

参 考 文 献

1 Ellis BA, Regnety RL, Beati L, et al. Rats of the genus *Rattus* are reservoir hosts for pathogenic *Bartonella* species: an old world origin for a new world disease. *J Infect Dis*, 1999, 180:2204.
 2 Heller R, Kubina M, Delacour G, et al. Prevalence of *Bartonella* spp. in blood of wild small rodents. Abstracts of the General Meeting of the American Society for Microbiology, 1997, 97:115.
 3 Heller R, Riegel P, Hansmann Y, et al. *Bartonella thbocorum* sp. nov. a new *Bartonella* species isolated from the blood of wild rats. *Int J Syst Bacteriol*, 1998, 48:1333-1339.
 4 Chang C, Chomel BB, Kasten RW, et al. *Bartonella* spp. isolated from wild and domestic ruminants in non America. *Emerg Infect Dis*, 2000, 6:306-311.

5 Zeaiter Z, Liang Z, Raoult D. Genetic classification and differentiation of *Bartonella* species based on comparison of partial *ftsZ* gene sequences. *J Clin Microbiol*, 2002, 40:3641-3647.
 6 Chome BB, Kasten RW, Floyd-Hawkins K, et al. Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. *J Clin Microbiol*, 1996, 34:1952-1956(abstract).
 7 Battistini T. Lavenue pemvienne (sa transmission par le phlebotome). *Rew Sudam Med Chir*, 1931, 2:719-724.
 8 Maurin M, Raoult D. *Bartonella* (Rochalimaea) quintana infections. *Clin Microbiol Rew*, 1996, 9:273-292(abstract).
 9 Autenrieth IB, Haimerl M. Human disease-apan from cat-scratch disease, bacillary angiomatosis, and peliosis-and-and afipia species emphasizing *Bartonella henselae*, Schmidt, A. (series editor). *Contributions to Microbiol*, 1998, 1:63-76.
 10 Loutit JS. *Bartonella* infections. *Current Clin Top Infect Dis*, 1977, 17:269-290.
 11 SchwaRzman W. *Bartonella* (Rochalimaea) infections: beyond cat scratch. *Ann Rev Med*, 1996, 47:355-364.
 12 白瑛, Kosoy MY, Maupin GO, 等. 首次证实巴尔通体在我国云南鼠群中流行. *中国人兽共患病杂志*, 2002, 18:5-9.
 13 白瑛, 王国良, 左兵, 等. 从云南省滇西南地区鼠群中分离到巴尔通体. *中华流行病学杂志*, 2003, 24:96-98.

(收稿日期:2005-03-28)

(本文编辑:尹廉)

· 疾病控制 ·

江西省丰城市儿童少年乙型肝炎表面抗原血清学调查

高榕 金长云

为了解江西省丰城市推行乙型肝炎(乙肝)疫苗接种 10 年儿童少年乙肝表面抗原(HBsAg)携带状况,我们于 2004 年开展了 HBsAg 血清学调查。随机选择农村和城市 7 个乡镇(铁路、拖船、河洲、隍城、梅林、焦坑、城区),17 岁以下儿童少年 19 267 人,静脉采血 2 ml,检测 HBsAg。用酶联免疫吸附法(ELISA)检测,试剂由上海荣盛生物技术有限公司生产,操作和结果判定严格按说明书进行。

结果与分析:在检测的 19 267 人中,HBsAg 阳性 3665 例,携带率为 19.02%。男性 11 054 人,阳性 2403 例,携带率为 21.74%;女性 8213 人,阳性 1262 例,携带率为 15.37%。差异有统计学意义($\chi^2 = 124.24, P < 0.01$)。不同年龄组 HBsAg 携带率:0~1 岁组和 2~3 岁组携带率较低,分别为 0% 和 2.63%,4~6 岁组开始升高,为 9.84%,6~7 岁组为 19.79%,至 16~17 岁组一直保持较高携带状态。不同地区 HBsAg 携带率:铁路镇携带率最高为 22.50%,其次为河洲、

隍城镇,分别为 21.16%、21.09%,城区、梅林镇较低分别为 17.62%、14.82%。调查结果表明,丰城市 0~17 岁儿童少年 HBsAg 携带率为 19.02%,高于丰城整体人群平均携带水平(14.54%)和 1992 年全国乙肝普查平均水平(9.75%);男、女性 HBsAg 阳性率之比为 1.41:1,与全国男、女性携带率比值基本接近(1.38:1)。0~3 岁儿童携带率较低,特别是 0~1 岁和 2~3 岁组分别为 0% 和 2.63%,说明丰城市 1992 年以后全面普及新生儿乙肝疫苗接种已初显成效。4 岁组及大年龄组携带率较高,反映出我市在推行乙肝疫苗接种初期质量不够高,与及时接种率低、接种程序不规范有关。丰城市儿童少年 HBsAg 高携带状态,说明乙肝防制的长期性、艰巨性和紧迫性。要进一步加强乙肝防治知识宣传,强化乙肝疫苗计划免疫管理,确保新生儿乙肝疫苗接种的及时性,并保证全程接种;要进一步在农村完善冷链设备,提高乙肝疫苗接种成功率。

(收稿日期:2005-07-21)

(本文编辑:尹廉)

作者单位:336000 江西省宜春市卫生局学会办公室(高榕);江西省丰城市疾病预防控制中心(金长云)