

云南省楚雄州恙虫病流行特征及其病原体 东方体基因分型研究

胡挺松¹, 李应², 胡秋凌³, 吴学林³, 高丽芬³, 李国伟², 王志勇², 胡海梅³, 王意银¹, 张海林¹, 张富强¹

1 南部战区疾病预防控制中心传染病防制科, 云南 昆明 650118; 2 楚雄彝族自治州人民医院,

云南 楚雄 675000; 3 楚雄彝族自治州疾病预防控制中心, 云南 楚雄 675000

摘要: 目的 调查云南省楚雄彝族自治州(楚雄州)恙虫病流行特征及其恙虫病东方体(*Ot*)的基因型。方法 收集恙虫病病例资料并进行流行病学分析。采集恙病患者血液标本, 用PCR法检测*Ot*核酸并测定*Tsa56*基因序列, 用相关生物信息学软件进行同源性和系统进化分析。结果 2015—2018年楚雄州共报告恙虫病病例2 507例, 年平均发病率为22.79/10万。该州所辖10个县(市)均有恙虫病病例报告, 其中楚雄、大姚、永仁、南华和双柏县(市)发病数占全州发病总数的96.01%(2 407/2 507)。7—10月发病数占全年发病总数的88.35%(2 215/2 507)。病例男女性别比为1:1.34, 30~69岁年龄组发病居多(1 966/2 507, 78.42%), 职业分布以农民为主(2 129/2 507, 84.92%)。经PCR检测, 从6份恙病患者血液标本中检测到*Ot*核酸阳性4份(CX1601、CX1602、CX1603和CX1604), 将获得的*Tsa56*基因进行测序, 同源性和系统进化分析表明, CX1601和CX1604与*Ot*中的Kato型菌株具有较高的同源性和较近的亲缘关系, CX1602和CX1603则与Gilliam型菌株具有较高的同源性和较近的亲缘关系, 而与其他型菌株同源性较低, 亲缘关系较远。结论 楚雄州恙虫病病原体属于Kato型或Gilliam型, 近几年高发并有逐年上升趋势, 应加强恙虫病宿主及媒介的监测和防控工作。

关键词: 恙虫病; 流行特征; 恙虫病东方体; 基因型

中图分类号: R376+.2 文献标志码: A 文章编号: 1003-8280(2020)03-0282-07

DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2020.03.008

Epidemiological characteristics of scrub typhus and genotyping of the pathogen *Orientia tsutsugamushi* in Chuxiong prefecture, Yunnan province, China

HU Ting-song¹, LI Ying², HU Qiu-ling³, WU Xue-lin³, GAO Li-fen³, LI Guo-wei², WANG Zhi-yong², HU Hai-mei³,
WANG Yi-yin¹, ZHANG Hai-lin¹, ZHANG Fu-qiang¹

1 Center for Disease Control and Prevention of Southern Theater Command, Kunming 650118, Yunnan Province, China;

2 People's Hospital of Chuxiong Yi Autonomous Prefecture; 3 Chuxiong Yi Autonomous Prefecture
Center for Disease Control and Prevention

Corresponding authors: ZHANG Fu-qiang, Email: zfq1968@aliyun.com; HU Qiu-ling, Email: cxjkhql@126.com

Supported by the National Key R&D Program of China (No. 2017YFD0501800) and Science and Technology Programs of Military (No. 15QNP035)

Abstract: Objective To investigate the epidemiological characteristics of scrub typhus in Chuxiong Yi autonomous prefecture (Chuxiong prefecture), Yunnan province, China, and to analyze the genotypes of the pathogen *Orientia tsutsugamushi* (*Ot*). **Methods** The data of scrub typhus cases were collected for epidemiological analysis. Blood samples from the patients were obtained to detect the nucleic acids of *Ot* by PCR and sequence the *Tsa56* gene. Homology and phylogenetic analyses were performed using bioinformatics software. **Results** A total of 2 507 cases of scrub typhus were reported in Chuxiong prefecture from 2015 to 2018, with a mean annual incidence of 22.79/100 000. Scrub typhus occurred in all 10 counties/cities of the prefecture, and 96.01% (2 407/2 507) of the total cases were distributed in Chuxiong, Dayao, Yongren, Nanhua, and Shuangbai counties/cities. The cases occurring during July to October accounted for 88.35% (2 215/

基金项目:国家重点研发计划(2017YFD0501800); 全军青年培育项目(15QNP035)

作者简介:胡挺松,男,博士,副主任医师,主要从事人兽共患防治研究工作,Email:htsong2001@sina.com; 李应,男,副主任医师,主要从事感染性疾病防治研究工作,Email:48190711@qq.com

通信作者:张富强,Email:zfq1968@aliyun.com; 胡秋凌,Email:cxjkhql@126.com

胡挺松、李应同为第一作者

2 507) of the total number. The male-to-female ratio was 1:1.34. The majority of the patients were aged from 30 to 69 years (78.42%, 1 966/2 507), and most cases were farmers (84.92%, 2 129/2 507). PCR detected 4 samples (CX1601, CX1602, CX1603, and CX1604) positive for Ot nucleic acids from 6 blood samples of scrub typhus patients. The *Tsa56* gene was obtained for sequencing, and the homology and phylogenetic analyses showed that CX1601 and CX1604 shared high homology and close genetic relationship with the Kato strains of Ot, while CX1602 and CX1603 were highly homologous and closely related to Gilliam strains, but relatively low homology and large genetic distances with other strains.

Conclusion Scrub typhus in Chuxiong prefecture belongs to Kato or Gilliam type. In recent years, there was a high incidence and an increasing trend year by year. It is necessary to strengthen the surveillance and control of the host and vector.

Key words: Scrub typhus; Epidemiological characteristics; *Orientia tsutsugamushi*; Genotype

恙虫病 (scrub typhus) 是由恙虫病东方体 (*Orientia tsutsugamushi*, Ot) 引起的经恙螨幼虫叮咬而传播的自然疫源性虫媒传染病。多种鼠类可作为储存宿主, 寄生在鼠体表的多种恙螨可传播本病^[1]。该病全年均可流行, 但主要流行于夏秋季, 人群普遍易感。临床上, 以发热、虫咬焦痂或溃疡、淋巴结肿大和皮疹为特征, 严重者可导致多脏器损伤甚至死亡^[1]。恙虫病在全球范围内均有分布, 但东南亚地区是主要流行区^[2], 在第二次世界大战期间, 东南亚地区的日军和盟军的恙虫病病例分别为 2.0 万和 1.6 万例^[3], 成为热带丛林地区对军队危害最大的传染病。恙虫病在我国广泛分布, 云南省为我国恙虫病发病率最高的省份^[4], 也是云南省分布最广的一种立克次体病^[5-9]。楚雄彝族自治州(楚雄州, 辖 10 个县、市) 位于云南省中部地区, 自 2006 年开展恙虫病疫情报告以来, 每年均有恙虫病病例发生^[10], 并且近几年报告发病数明显上升。本研究对该州 2015—2018 年恙虫病流行特征进行分析, 并采集本病患者血液标本进行 Ot 核酸检测和基因型鉴定, 为防治工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 病例来源 恙虫病病例资料来源于楚雄州传染病报告信息管理系统以及恙虫病流行病学调查资料。采用描述流行病学方法对恙虫病疫情进行统计和流行特征分析。

1.2 标本采集 2016 年秋季在楚雄州人民医院感染性疾病科采集临床诊断为恙虫病的住院患者血液标本, 患者及家属均知情同意。采集全血标本 3 ml, 低速离心, 将血清和血块分别放在 2 ml 螺旋盖冻存管中, 编号, 置于 -70 ℃ 冰箱保存。

1.3 聚合酶链式反应 (PCR) 采用半套式 PCR 检测 Ot *Tsa56* 基因 (56 kDa type-specific antigen gene), 引物为 Ori-TSA56-F: 5'-AATGAAAAAATTATGTTAATTGC-3', Rick-DF-R1: 5'-CCAGCATAATTCTTCAACCAAG-3', Rick-DF-R2: 5'-TAGGCATTATAGTAGGCTGAGG-3'。使用 AxyPrep 体液基因组 DNA/RNA 小量试剂盒提取全血标本液中的 DNA。PCR

反应使用的酶为 GoTag PCR Master mix (Promega), 反应条件: 94 ℃ 3 min; 94 ℃ 30 s, 50 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 共 40 个循环。72 ℃ 延伸 7 min。

1.4 序列测定 对 Ot 核酸阳性样本进行 *Tsa56* 基因序列扩增, 引物合成及 PCR 扩增产物测序均由昆明硕擎生物科技有限公司完成。

1.5 序列分析 采用 ClustalX1.83 软件进行核苷酸序列比对, 用 MEGA 6.0 软件以邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 构建 Ot 的 *Tsa56* 基因核苷酸序列系统发生树。本研究除使用本次测定的 4 株 Ot 序列外, 并用 GenBank 中来自中国、日本、韩国、泰国、老挝和缅甸不同基因型的 16 株 Ot 相应序列进行同源性和系统进化分析。包括 5 株 Kato、2 株 Karp、2 株 Kawasaki、2 株 Divergent 和 5 株 Gilliam (表 1)。

表 1 恙虫病东方体参考序列背景信息
Table 1 Background information of reference sequences of *Orientia tsutsugamushi*

分离株	基因号	年份	样品来源	国家/地区	基因型
CX1601		2016	患者血清	中国/云南	Kato
CX1604		2016	患者血清	中国/云南	Kato
KM03	GU120148	2003	恙螨	中国/台湾	Kato
Akita-7	AF173041	1989	大林姬鼠	日本/秋田	Kato
HC0605a	GQ332761	2006	患者血样	中国/台湾	Kato
Kato	M63382	1955	患者血样	日本/新潟	Kato
Omagari	AF173040	1990	大林姬鼠	日本/秋田	Kato
UT76	EF213078	2003	患者	泰国	Karp
UT336	EF213089	2005	患者	泰国	Karp
Kawasaki	M63383	1992	患者	日本	Kawasaki
CBNU-11	JQ898358	2009	患者焦痂	韩国	Kawasaki
TT0705a	GQ332753	2007	患者血样	中国/台湾	Divergent
KM15-1	GU446595	2009	恙螨	中国/台湾	Divergent
CX1602		2016	患者血样	中国/云南	Gilliam
CX1603		2016	患者血样	中国/云南	Gilliam
LaoUF366	EU168797	2007	成人	老挝	Gilliam
Taiwan	DQ485289	2006	不详	中国/台湾	Gilliam
Neimeng-65	DQ514319	2006	田鼠	中国/内蒙	Gilliam
TPC0707a	GQ332758	2007	患者血样	中国/台湾	Gilliam
Gilliam	LS398551	1943	患者血样	缅甸	Gilliam

2 结果

2.1 流行概况 2006—2018 年楚雄州共报告恙虫病 3 735 例, 每年均有恙虫病疫情发生, 且报道发病

数和发病率呈逐年上升之势,2018 年达高峰(图 1)。其中,2006—2013 年发病数占上述 13 年发病总数的 18.96%(708/3 735),每年发病数在 16~150 例之间;2014—2018 年发病数占 81.04%(3 027/3 735);2015—2018 年发病数在 265~992 例之间,年平均发病率为 22.79/10 万(表 2),2018 年发病数占这 13 年发病总数的 26.56%(992/3 735),发病率为 36.15/10 万。各县发病率存在明显差异,位于前 5 位的永仁县、楚雄市、大姚县、双柏县和南华县发病率依次为 74.21/10 万、43.36/10 万、40.61/10 万、38.22/10 万和 33.58/10 万,其他 5 个县发病率均较低(0.74/10 万~3.24/10 万)(表 2)。

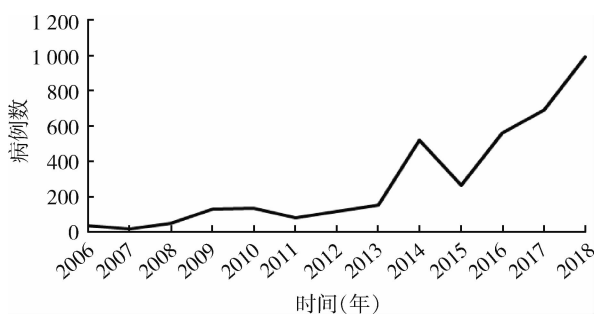


图 1 2006—2018 年云南省楚雄州恙虫病病例逐年分布

Figure 1 Yearly distribution of scrub typhus cases in Chuxiong prefecture, Yunnan province, China, 2006–2018

表 2 2015—2018 年云南省楚雄州 10 个县(市)恙虫病病例(例)地区分布情况

Table 2 Regional distribution of scrub typhus cases in 10 counties/cities of Chuxiong prefecture, Yunnan province, China, 2015–2018

地区	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	总计	年平均发病率 (/10 万)
楚雄市	71	272	243	458	1 044	43.36
大姚县	68	129	112	144	453	40.61
禄丰县	4	4	11	16	35	2.03
牟定县	3	3	3	5	14	1.62
南华县	12	75	83	158	328	33.58
双柏县	26	43	70	112	251	38.22
武定县	8	5	7	16	36	3.24
姚安县	0	2	2	2	6	0.74
永仁县	71	26	155	79	331	74.21
元谋县	2	1	4	2	9	1.02
合计	265	560	690	992	2 507	22.79

2.2 流行特征

2.2.1 地区分布 2015—2018 年楚雄州共报告恙虫病 2 507 例,所辖 10 个县(市)均有病例报告,其中楚雄市发病数最多(1 044 例),占全州发病总数的 41.64%;其次为大姚县(453 例)、永仁县(331 例)、南华县(328 例)和双柏县(251 例),这 5 个县(市)发病数占全州发病总数的 96.01%(2 407/2 507);其他 5 个

县(武定、禄丰、牟定、元谋和姚安县)发病数仅占 3.99%(100/2 507)(表 2)。

2.2.2 季节分布 根据 2015—2018 年 2 507 例恙虫病统计,1—12 月每月均有病例发生,主要流行季节为 7—10 月,占全年发病总数的 88.35%(2 215/2 507),其中 7 月为 353 例(14.08%)、8 月为 777 例(30.99%)、9 月为 659 例(26.29%)、10 月为 426 例(16.99%),8 月为高峰(图 2);其他月份(1—6 和 11—12 月)发病数仅占 11.65%(292/2 507),具有明显的夏秋季流行特点。

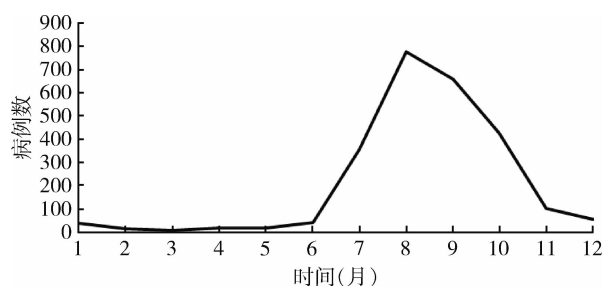


图 2 2015—2018 年云南省楚雄州恙虫病逐月分布

Figure 2 Monthly distribution of scrub typhus cases in Chuxiong prefecture, Yunnan province, China, 2015–2018

2.2.3 人群分布 根据 2015—2018 年 2 507 例病例进行统计,各年龄组均有病例发生(图 3),其中,0~19 岁发病 319 例,占发病总数的 12.73%(其中 0~4 岁婴幼儿组发病 111 例,占 4.43%);20~59 岁组 1 670 例,占 66.61%;≥60 岁 518 例,占 20.66%;30~69 岁年龄组占 78.42%。总体来看,年龄组间发病数存在一定差异,如中老年组病例多,但≤29 岁年龄组和≥70 岁年龄组发病少,婴幼儿病例稍多于其他 5 岁以上少年儿童。男性发病 1 072 例,女性 1 435 例,男女性别比为 1:1.34。各职业人群均有发病,以农民为主(2 129/2 507,84.92%),其次为学生(152/2 507,6.06%)和散居儿童(135/2 507,5.38%),其他职业人群发病数较少。

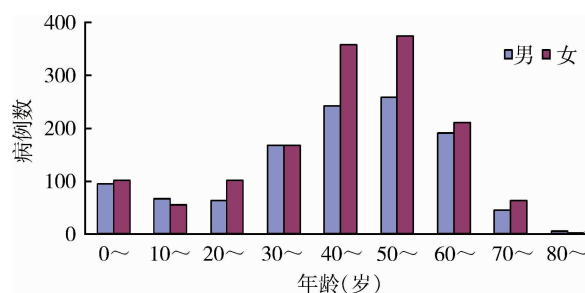


图 3 2015—2018 年云南省楚雄州恙虫病病例性别和年龄分布

Figure 3 Sex and age distributions of scrub typhus cases in Chuxiong prefecture, Yunnan province, China, 2015–2018

2.3 Ot 核酸检测和序列测定 在楚雄州人民医院采集到 6 例恙虫病患者血液标本,经 PCR 检测,Ot 核酸阳性 4 份,其中楚雄市 2 份,南华和双柏县各 1 份,患者背景信息见表 3。对这 4 例 Ot 核酸阳性标本进

行测序,获得了 4 条 *Tsa56* 基因序列,编号为 CX1601、CX1602、CX1603 和 CX1604。另外 2 例 Ot 核酸阴性患者(CX1605 和 CX1606)与阳性患者具有恙虫病典型的临床表现,为临床诊断病例。

表 3 云南省楚雄州恙虫病东方体核酸检测患者背景信息

Table 3 Background information of patients receiving nucleotide acid detection for *Orientia tsutsugamushi* from Chuxiong prefecture, Yunnan, China

样本编号	性别	年龄(岁)	住址	发病日期	采血日期	基因型
CX1601	女	27	南华县马街镇锈水塘	2016—08—31	2016—09—06	Kato
CX1602	男	42	双柏县妥甸镇马龙村	2016—09—01	2016—09—05	Gilliam
CX1603	女	2 岁 7 个月	楚雄市西舍路朱左村	2016—08—31	2016—09—05	Gilliam
CX1604	男	60	楚雄市大地基乡腊脚村	2016—09—01	2016—09—07	Kato
CX1605	男	59	楚雄市西舍路	2016—10—02	2016—10—09	阴性
CX1606	女	72	南华县五顶山	2016—10—02	2016—10—10	阴性

2.4 同源性分析 本次检测到的 CX1601、CX1602、CX1603 和 CX1604 的 *Tsa56* 基因核苷酸序列与来自 GeneBank 中的 16 株不同型 Ot 相应片段的序列进行同源性分析,表 4 显示,楚雄州 4 份样本与 Kato、Karp、Kawasaki、Divergent 和 Gilliam 型代表株的核苷酸(氨基酸)同源性分别为 81.21%~100%(72.75%~100%)。其中 CX1601 和 CX1604 与 5 株 Kato 型菌株(KM03、Akita-7、HC0605a、Kato 和 Omagai)的核苷酸(氨基酸)同源性为 91.88%~100%(92.38%~100%),而与其他型仅为 81.21%~89.82%(78.60%~86.25%);CX1602 和 CX1603 与 5 株 Gilliam 型菌株(LaoUF366、Taiwan、Neimeng-65、TPC0707a 和 Gilliam)的核苷酸(氨基酸)同源性为 92.56%~98.81%(86.25%~98.15%),与其他型仅为 83.60%~88.53%(72.75%~79.73%)。同源性分析结果表明,楚雄州的 CX1601 和 CX1604 样本属于 Kato 型,CX1602 和 CX1603 属于 Gilliam 型。

2.5 进化分析 本次获得的 CX1601、CX1602、CX1603 和 CX1604 的 *Tsa56* 基因核苷酸序列与来自 GeneBank 中的 16 株不同型 Ot 相应片段的序列构建系统发育树,图 4 显示,CX1601 和 CX1604 序列与 5 株 Kato 参考株同在一个进化分支,具有较近的亲缘关系,而与其他 4 个型参考株亲缘关系较远;CX1602 和 CX1603 与 5 株 Gilliam 型参考株同为一个进化分支,具有较近的亲缘关系,尤其与老挝株(LaoUF 366)和我国台湾株(TPC0707a)亲缘性更近,与其他 4 个型参考株亲缘关系较远。进化分析结果与核苷酸(氨基酸)序列的同源性分析结果一致,进一步论证了楚雄州的 CX1601 和 CX1604 为 Kato 型,CX1602 和 CX1603 为 Gilliam 型。

3 讨论

云南省 16 个州(市)均有恙虫病病例分布和

流行,其主要流行于西部和南部的热带及亚热带地区^[5-8],根据 2006—2018 年云南省恙虫病疫情数据的统计分析,发病数居前 5 位的市(州)依次为保山、临沧、德宏、楚雄和红河哈尼族彝族自治州(市),属云南省恙虫病主要流行区。近几年,楚雄州恙虫病的发病数和发病率均呈逐年上升之势,至 2018 年达到历史最高峰,成为该州重要的公共卫生问题。楚雄州恙虫病地区分布具有明显差异,其中楚雄市为主要流行区,发病数占全州 10 个县(市)病例总数的 41.64%,其次为大姚、永仁、南华和双柏县,其他 5 个县发病数较少。我国恙虫病存在夏季型和秋季型^[11],云南省主要为夏季型。楚雄州全年均有病例发生,但 7—10 月发病数占全年发病总数的 88.35%,表明主要流行季节为夏秋季,其他季节发病数较少。各年龄组和各职业人群均有发病,但以中老年居多,农民为主,与此类人群常在野外活动和田间劳作容易接触宿主媒介有关。此外,还发现 0~4 岁婴幼儿组发病数也较多,占总病例数的 4.43%,推测可能与农村居室内外鼠、螨较多,容易导致婴幼儿被恙螨叮咬而感染发病,相关影响因素尚需进一步调查。

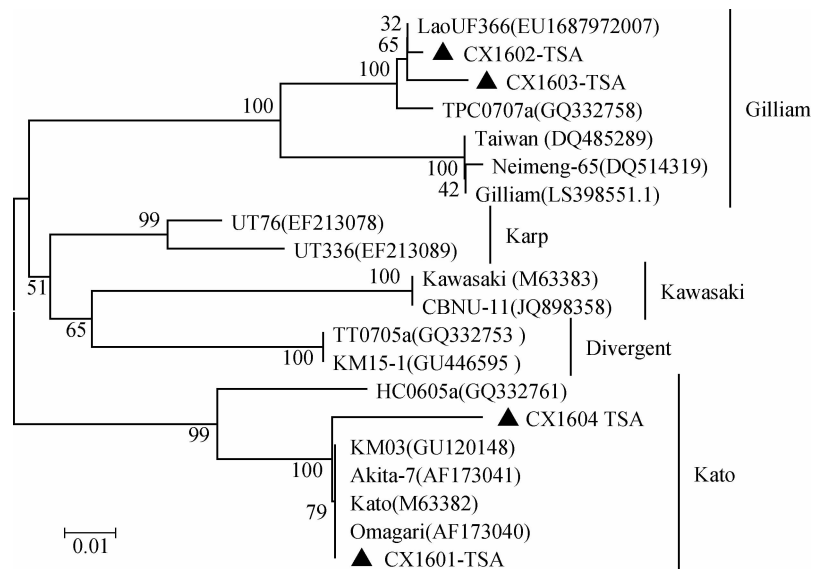
根据细菌分类,Ot 属于立克次体目(Rickettsiales)、立克次体科(Rickettsiaceae)、东方体属(*Orientia*)。Ot 具有基因型多样性的特点,迄今,已报道的 Ot 至少有 30 种基因型^[1]。我国主要流行 Karp、Kato、Gilliam 和 Kawasaki 型等,但南方和北方的 Ot 型别分布有一定差异^[1,11-13]。1980 和 1990 年代采用血清学方法的分型研究证实,云南省存在 Karp、Kato 和 Gilliam 型的流行^[5,14],随后 20 多年,有关云南省 Ot 流行株的分型研究报道较少。近期,杨杜鹃等^[8]从西双版纳傣族自治州勐海县 14 例恙虫病患者急性期血液中获得 Ot-*groEL* 区核苷酸序列,同源性和进化分析表明,这 14 株 Ot 均属 Kato 型。本次对楚雄州 4 株 Ot 的同源性和进化分析均表明,楚

表 4 云南省楚雄州 4 株恙虫病东方体与各基因型参考株的 *Tsa56* 基因核苷酸和氨基酸同源性比较

Table 4 Nucleotide and amino acid homology comparisons of the *Tsa56* gene between 4 strains of *Orientia tsutsugamushi* from Chuxiong prefecture, Yunnan province, China and reference strains of various genotypes

菌株名称	基因型	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1.CX1601	Kato	100.00	100.00	100.00	100.00	92.38	100.00	100.00	86.25	86.25	79.73	79.73	86.25	86.25	77.46	77.46	79.73	79.73	79.73	78.60	79.73
2.CX1604	Kato	97.01	100.00	100.00	100.00	92.38	100.00	100.00	86.25	86.25	79.73	79.73	86.25	86.25	77.46	77.46	79.73	79.73	79.73	78.60	79.73
3.KM03	Kato	100.00	97.01	100.00	100.00	92.38	100.00	100.00	86.25	86.25	79.73	79.73	86.25	86.25	77.46	77.46	79.73	79.73	79.73	78.60	79.73
4.Akita-7	Kato	100.00	97.01	100.00	100.00	92.38	100.00	100.00	86.25	86.25	79.73	79.73	86.25	86.25	77.46	77.46	79.73	79.73	79.73	78.60	79.73
5.HC0605a	Kato	94.78	91.88	94.78	94.78	92.38	92.38	92.38	85.19	86.25	77.48	77.48	86.25	86.25	77.46	77.46	79.73	79.73	79.73	78.60	79.73
6.Kato	Kato	100.00	97.01	100.00	100.00	94.78	100.00	100.00	86.25	86.25	79.73	79.73	86.25	86.25	77.46	77.46	79.73	79.73	79.73	78.60	79.73
7.Omagari	Kato	100.00	97.01	100.00	100.00	94.78	100.00	100.00	86.25	86.25	79.73	79.73	86.25	86.25	77.46	77.46	79.73	79.73	79.73	78.60	79.73
8.UT76	Karp	89.82	86.71	89.92	89.92	89.13	89.92	89.92	86.25	96.26	78.60	78.60	85.19	85.19	76.30	76.30	78.60	79.73	79.73	77.46	79.73
9.UT336	Karp	88.05	85.97	88.05	88.05	87.73	88.05	88.05	96.68	88.45	79.73	79.73	87.30	87.30	78.60	78.60	80.85	81.95	81.95	79.73	81.95
10.Kawasaki	Kawasaki	86.09	83.21	86.09	86.09	84.56	86.09	86.09	88.53	88.45	100.00	100.00	81.95	81.95	73.95	72.75	75.13	77.46	77.46	72.75	77.46
11.CBNU-11	Kawasaki	86.09	83.21	86.09	86.09	84.56	86.09	86.09	88.53	88.45	100.00	100.00	81.95	81.95	73.95	72.75	75.13	77.46	77.46	72.75	77.46
12.TT0705a	Divergent	87.40	85.74	87.40	87.40	88.07	87.40	87.40	86.09	90.82	89.20	89.20	100.00	100.00	79.73	79.73	81.95	79.73	79.73	80.85	79.73
13.KM15-1	Divergent	87.40	85.74	87.40	87.40	88.07	87.40	87.40	91.54	90.82	89.20	89.20	100.00	100.00	79.73	79.73	81.95	79.73	79.73	80.85	79.73
14.CX1602	Gilliam	85.74	82.45	85.74	85.74	85.62	85.74	85.74	88.53	87.81	84.36	84.36	86.04	86.04	98.51	97.21	96.26	86.25	86.25	94.34	86.25
15.CX1603	Gilliam	84.99	82.13	84.99	84.99	84.15	84.99	84.99	87.47	87.47	83.60	83.60	84.94	84.94	98.51	98.15	98.15	86.25	86.25	96.26	86.25
16.LaoUF366	Gilliam	86.09	82.85	86.39	86.39	65.27	86.39	86.39	88.87	88.15	84.72	84.72	86.39	86.39	97.01	98.81	98.15	88.34	88.34	98.15	88.34
17.Taiwan	Gilliam	84.91	81.61	84.91	84.91	84.18	84.91	84.91	87.79	87.49	85.09	85.09	84.20	84.20	93.87	92.89	94.18	100.00	100.00	86.25	100.00
18.Neimeng-65	Gilliam	84.53	81.21	84.53	84.53	83.79	84.53	84.53	87.43	87.12	84.72	84.72	83.82	83.82	93.54	92.56	93.86	99.70	99.70	86.25	100.00
19.TPC0707a	Gilliam	85.72	82.46	85.72	85.72	84.89	85.72	85.72	88.15	87.79	83.86	83.86	86.02	86.02	98.81	97.91	99.11	93.22	92.89	86.25	86.25
20.Gilliam	Gilliam	84.91	81.61	84.91	84.91	84.18	84.91	84.91	87.79	87.49	85.09	85.09	84.20	84.20	93.87	92.89	94.18	100.00	99.70	93.22	93.22

注:左下角为核苷酸序列同源性百分比,右上角为氨基酸序列同源性百分比。



注: ▲ 2016年楚雄州恙虫病患者的恙虫病东方体。

图4 云南省楚雄州4株恙虫病东方体与16株各基因型参考株 *Tsa56* 基因核苷酸序列系统发育树

Figure 4 Phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of the *Tsa56* gene of 4 strains of *Orientia tsutsugamushi* from Chuxiong prefecture, Yunnan province, China and 16 reference strains of various genotypes

楚雄州存在 Kato 和 Gilliam 型的流行,均为楚雄州首次报道。本次6例恙虫病临床诊断病例的血液标本经PCR检测,其中4例Ot阳性患者的采血时间为发病后第4~6天,而2例阴性患者的采血时间为第7~8天,认为用于病原学检测的恙病患者血液标本应尽可能在发病6d以内采集,提示随着发病日期的推后,菌血症滴度可能会逐渐降低或消失。本次未能采集到更多的患者血液标本用于Ot检测,导致本研究存在一定局限性。为全面了解当地Ot基因型的分布特征,亟需进一步开展恙病患者感染Ot基因型的调查研究。

云南省恙虫病疫源地广泛分布,黄胸鼠(*Rattus tanezum*)和褐家鼠(*R. norvegicus*)为主要宿主,寄生在鼠体表的多种恙螨可传播本病,以往认为地里纤恙螨(*Leptotrombidium deliense*)为云南省恙虫病的主要传播媒介^[5],但近些年的调查发现,不同地域生境的恙螨种群构成和优势螨种可能存在差异,并发现地里纤恙螨在云南省的分布有一定局限性^[15]。章域震等^[9]于2012年在曲靖市9个县(市、区)采用间接免疫荧光试验检测啮齿动物血清中的Ot抗体,结果阳性率为7.09%(42/592),其中黄胸鼠和褐家鼠阳性率分别为10.00%(21/210)和4.95%(18/364)。2009年的调查表明,楚雄州褐家鼠和黄胸鼠分布广泛,其中褐家鼠的构成比和密度均较高^[16],提示褐家鼠可能是当地恙虫病的主要宿主。虽然以往调查表明云南省恙螨种类多、分布广^[15,17],但楚雄州缺乏恙螨调查资料,为掌握恙虫病宿主媒介分布特点,今后需要在该州开展鼠类携带Ot的检测及其体表寄生螨的调

查,为该病防控提供科学依据和理论基础。

参考文献

- [1] 操敏,张云. 恙虫病[M]//曹务春. 流行病学.第2卷.3版.北京:人民卫生出版社,2015:1149-1163.
Cao M, Zhang Y. Scrub typhus[M]//Cao WC. Epidemiology: Vol 2. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 1149-1163.
- [2] 李贵昌,刘起勇. 恙虫病的流行现状[J]. 疾病监测, 2018, 33(2): 129-138. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.02.006.
Li GC, Liu QY. Epidemic trend of scrub typhus in the world[J]. Dis Surveill, 2018, 33(2): 129-138. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.02.006.
- [3] Bavaro MF, Kelly DJ, Dasch GA, et al. History of U.S. military contributions to the study of rickettsial diseases[J]. Mil Med, 2005, 170 Suppl 4: 49-60. DOI: 10.7205/MILMED.170.4S.49.
- [4] 李贵昌,栗冬梅,李焱,等. 2006—2016年我国恙虫病流行特征分析[J]. 疾病监测, 2018, 33(2): 139-143. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.02.007.
Li GC, Li DM, Li Y, et al. Epidemiology of scrub typhus in China, 2006-2016 [J]. Dis Surveill, 2018, 33(2): 139-143. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.02.007.
- [5] 张海林. 云南省立克次体病流行病学研究现状及展望[J]. 地方病通报, 2001, 16(2): 86-88. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3711.2001.02.032.
Zhang HL. Research progress on epidemiology of rickettsial disease in Yunnan China[J]. Endemic Dis Bull, 2001, 16(2): 86-88. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3711.2001.02.032.
- [6] 曹婧,亚红祥,袁庆虹,等. 云南省2006—2014年恙虫病发病率的聚类分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2015, 31(8): 714-716, 723. DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2015.08.006.
Cao J, Ya HX, Yuan QH, et al. Hierarchical cluster analysis on

- the incidences of scrub typhus in Yunnan province, China, 2006–2014 [J]. Chin J Zoonoses, 2015, 31 (8): 714–716, 723. DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2015.08.006.
- [7] 何恺, 黄东升, 安丽, 等. 云南省保山市 2006—2016 年恙虫病流行特征分析 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2019, 30 (1): 87–90. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2019.01.021.
- He K, Huang DS, An L, et al. An epidemiological analysis of scrub typhus in Baoshan, Yunnan province, China from 2006–2016 [J]. Chin J Vector Biol Control, 2019, 30 (1): 87–90. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2019.01.021.
- [8] 杨杜鹃, 张海林, 苏梅惠, 等. 血清学和分子生物学证实云南省勐海县存在恙虫病流行 [J]. 疾病监测, 2014, 29 (9): 733–736. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2014.09.016.
- Yang DJ, Zhang HL, Su MH, et al. Serological and molecular biological confirmation of transmission of scrub typhus in Menghai, Yunnan [J]. Dis Surveill, 2014, 29 (9): 733–736. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2014.09.016.
- [9] 章域震, 王勇, 杨卫红, 等. 云南省曲靖市啮齿动物的立克次体血清学和分子流行病学调查 [J]. 中国人兽共患病学报, 2015, 31 (1): 35–40. DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2015.01.008.
- Zhang YZ, Wang Y, Yang WH, et al. Seroprevalence and molecular biological investigation of commonly known Rickettsia species in rodents in Qujing city, Yunnan province, China [J]. Chin J Zoonoses, 2015, 31 (1): 35–40. DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2015.01.008.
- [10] 高丽芬, 胡海梅, 胡秋凌, 等. 2006—2014 年云南省楚雄州恙虫病流行特征分析 [J]. 现代预防医学, 2016, 43 (2): 207–210.
- Gao LF, Hu HM, Hu QL, et al. Analysis on epidemiological features of tsutsugamushi disease from 2006 to 2014 in Yunnan Chuxiong [J]. Modern Prevent Med, 2016, 43 (2): 207–210.
- [11] 李贵昌, 王玉娇, 岳玉娟, 等. 我国恙虫病夏季型和秋季型疫区划分研究 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2019, 30 (3): 233–236. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2019.03.001.
- Li GC, Wang YJ, Yue YJ, et al. Division of epidemic areas for summer-and autumn-type scrub typhus in China [J]. Chin J Vector Biol Control, 2019, 30 (3): 233–236. DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2019.03.001.
- [12] 陆苗, 王春艳, 邵建伟, 等. 河北省首次实验室确诊恙虫病东方体 Kawasaki 感染病例 [J]. 疾病监测, 2018, 33 (11): 931–935. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.11.012.
- Lu M, Wang CY, Shao JW, et al. Laboratory confirmation of *Orientia tsutsugamushi* (Kawasaki strain) first identified in Hebei province [J]. Dis Surveill, 2018, 33 (11): 931–935. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.11.012.
- [13] 张鲁燕, 毕振旺, 赵仲堂. 我国恙虫病东方体分子流行病学研究进展 [J]. 中华流行病学杂志, 2014, 35 (1): 88–92. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.01.021.
- Zhang LY, Bi ZW, Zhao ZT. Recent advances in molecular epidemiology of *Orientia tsutsugamushi* in China [J]. Chin J Epidemiol, 2014, 35 (1): 88–92. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.01.021.
- [14] 雷亚民, 冯锡光, 陈渊民, 等. 云南省恙虫病立克次体血清学分型研究 [J]. 中国人兽共患病杂志, 1994, 10 (2): 62–63.
- Lei YM, Feng XG, Chen YM, et al. Study on serological typing of *Rickettsia tsutsugamushi* in Yunnan province [J]. Chin J Zoonoses, 1994, 10 (2): 62–63.
- [15] 詹银珠, 郭宪国, 左小华, 等. 云南省部分地区地里纤恙螨分布调查 [J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32 (1): 13–16. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.01.004.
- Zhan YZ, Guo XG, Zuo XH, et al. Preliminary survey on the distribution of *Leptotrombidium deliense* in some areas of Yunnan province [J]. Chin J Epidemiol, 2011, 32 (1): 13–16. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.01.004.
- [16] 周济华, 张海林, 王静林, 等. 云南省楚雄州汉坦病毒宿主动物及分子流行病学研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30 (3): 239–242. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.03.009.
- Zhou JH, Zhang HL, Wang JL, et al. Survey on host animal and molecular epidemiology of hantavirus in Chuxiong prefecture, Yunnan province [J]. Chin J Epidemiol, 2009, 30 (3): 239–242. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.03.009.
- [17] 侯舒心, 郭宪国, 门兴元, 等. 云南省恙螨区系及垂直分布研究 [J]. 动物分类学报, 2006, 31 (4): 746–751. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0739.2006.04.010.
- Hou SX, Guo XG, Men XY, et al. Study on the fauna and vertical distribution of chiggers in Yunnan province [J]. Acta Zootaxonom Sin, 2006, 31 (4): 746–751. DOI: 10.3969/j.issn.1000-0739.2006.04.010.

收稿日期: 2019-12-20 (编辑: 陈秀丽)