

# 北京市鼠形动物感染巴尔通体的调查

李 夫, 窦相峰, 吕燕宁, 孙玉兰, 王小梅, 李仁清, 陈丽娟, 王全意

**摘要:**目的 调查北京市鼠形动物巴尔通体感染状况和遗传特征。方法 采用夹夜法在北京市16个区捕获鼠形动物,使用PCR方法检测巴尔通体 *gltA* 基因,测序后进行系统发育树分析。结果 共采集7属9种鼠形动物样本448份,检测到巴尔通体阳性样本46份,总阳性率为10.3%,且阳性率在鼠种间、地区间和生境间的差异均具有统计学意义( $\chi^2_{\text{鼠种}} = 114.980$ ,  $\chi^2_{\text{地区}} = 22.133$ ,  $\chi^2_{\text{生境}} = 96.466$ ,  $P$  均 $<0.001$ )。系统发育树分析显示,40份样本序列位于进化树上的8个不同分支,提示北京市鼠形动物巴尔通体感染存在遗传多样性。结论 巴尔通体在北京市鼠形动物中广泛存在,并具有遗传多样性,本地人群存在一定的感染风险。

**关键词:**鼠形动物;巴尔通体;感染;系统发育树分析

中图分类号:R376;R516

文献标识码:B

文章编号:1002-2694(2021)06-0520-05

## Investigation of *Bartonella* infection in murine-like animals in Beijing, China

LI Fu, DOU Xiang-feng, LYU Yan-ning, SUN Yu-lan, WANG Xiao-mei,

LI Ren-qing, CHEN Li-juan, WANG Quan-yi

(Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing Research Center for Preventive Medicine, Beijing 100013, China)

**Abstract:** This study aimed to investigate the infection and genetic characteristics of *Bartonella* in murine-like animals in Beijing. The murine-like animals were collected using the trap-at-night method in the 16 districts of Beijing and were tested for the *Bartonella gltA* gene by PCR. Phylogenetic tree analysis was performed on the basis of the *gltA* gene sequence. A total of 448 samples from 9 species of murine-like animals from 7 genera were collected, and 46 samples were positive for *Bartonella sp.*, with a total positivity rate of 10.3%. The differences in positivity rates across species, regions and habitats were statistically significant ( $\chi^2_{\text{species}} = 114.980$ ,  $P < 0.001$ ;  $\chi^2_{\text{regions}} = 22.133$ ,  $P < 0.001$ ;  $\chi^2_{\text{habitats}} = 96.466$ ,  $P < 0.001$ ). Phylogenetic tree analysis showed that the sequences of 40 positive samples clustered into 8 different branches on the phylogenetic tree. This result indicated the genetic diversity in *Bartonella* infected by murine-like animals in Beijing. In conclusion, *Bartonella* species with genetic diversity were widespread among murine-like animals in Beijing. There is a risk of local populations being infected by *Bartonella*.

**Keywords:** murine-like animals; *Bartonella*; infection; phylogenetic tree analysis

Supported by the Cultivation Fund of Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing Research Center for Preventive Medicine(No.2019-BJYJ-01)

Corresponding author: Wang Quan-yi, Email: bjcdcxm@126.com

巴尔通体(*Bartonella*)属于革兰氏阴性菌,能

感染宿主的红细胞和内皮细胞<sup>[1]</sup>。巴尔通体种类较多,目前已发现36个种及亚种,至少有17个种或亚种对人和动物致病<sup>[2]</sup>。巴尔通体感染导致的疾病谱较广,可引起人发热、猫抓病、卡里翁病、杆菌性血管瘤病和感染性心内膜炎等<sup>[3-5]</sup>。巴尔通体病常因临床表现复杂,症状不特异而发生误诊、漏诊<sup>[6]</sup>。巴尔通体宿主广泛,可感染多种类型的哺乳动物,鼠类作

北京市疾病预防控制中心、北京市预防医学研究中心科研培育专项(No.2019-BJYJ-01)

通讯作者:王全意, Email: bjcdcxm@126.com;

ORCID: 0000-0001-9552-2503

作者单位:北京市疾病预防控制中心,北京市预防医学研究中心,北京 100013

为巴尔通体的主要宿主,在其存储和传播中发挥重要作用<sup>[7-9]</sup>。人类可因与携带巴尔通体的鼠类接触、或被鼠咬伤或是伤口被其排泄物污染而感染,也可能由携带巴尔通体的媒介生物如蚤类和蜱等叮咬而感染<sup>[10]</sup>。

北京市周边生态环境良好,鼠形动物种类丰富。近年来,随着人与野外自然环境接触频率的增加,部分鼠传疾病呈增多趋势<sup>[11-12]</sup>。由于巴尔通体感染导致的疾病尚无疫苗可预防,因此对动物宿主和媒介的防制仍为主要防控措施之一。目前,尚未有文献全面报道北京市鼠形动物感染巴尔通体状况,为此,本研究调查北京市 16 个区鼠形动物巴尔通体感染状况和遗传特征,为制定本地相关疾病的防控措施提供依据。

## 1 材料与方 法

1.1 样本采集 2019 年 3—10 月在北京 16 个区采用夹夜法捕获鼠形动物,通过记录捕获样本的体长、尾长、前后足长和毛色等形态特征,根据鼠科动物检索记录表进行鼠种鉴定<sup>[13]</sup>。生物安全柜中无菌操作取动物样本的肝、脾脏,并置于圆形冻存盒中,−70 °C 保存。

1.2 核酸提取 剪取黄豆粒大小的肝、脾脏,使用 Qiagen Tissue Lyser II 破碎仪进行组织破碎,并按 DNeasy Blood & Tissue Kit(Qiagen, 德国)商品化试剂盒的说明书进行核酸提取,提取的核酸置于 −70 °C 保存备用。

1.3 PCR 扩增和测序 使用文献报道的巴尔通体 *gltA* 特异引物<sup>[14]</sup>,上游引物:BhCS.781p(5'-GGG-GACCAGCTCATGGTGG-3')和下游引物:BhCS.1137n(5'-AATGCAAAAAGAACAGTAAACA-3')进行 PCR 扩增。扩增体系:2 × AmpliTaq Gold 360 Master Mix(ThermoFisher 公司)12.5 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL,模板 5 μL,去离子水补足至 25 μL;反应条件:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 30 s,56 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,35 个循环;72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 Qiagen QIAxcel 电泳仪检测,选择片段大小在 379 bp 附近的特异性条带送生工生物有限公司,采用 Sanger 测序法,在 ABI3730 平台进行 DNA 序列测定。

1.4 序列比对和分析 测得的序列使用 SeqMan 软件进行手工校正和拼接,并提交美国国立生物技术信息中心(NCBI)网站进行 Blast 比对。使用 MEGA 6 软件进行序列处理和比对,采用邻接法

(Neighbor-joining, NJ) 构建基于 Kimura-2-Parameter(K2P)模型的系统发育树,自展值设为 1 000 次。

1.5 统计学分析 使用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,不同特征间的鼠形动物阳性率的比较采用  $\chi^2$  检验,两两比较的 *P* 值采用 Bonferroni 法进行校正,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 样本采集情况 在北京 16 个区的居室及周边环境、山地、林地和农田 4 种生境中,共捕获鼠形动物样本 448 只,其中褐家鼠 233 只、小家鼠 92 只,主要采集于居民区及周边环境;社鼠 53 只、中华姬鼠 30 只、黑线姬鼠 25 只、岩松鼠 6 只、仓鼠 4 只、棕背鼯 3 只和鼯 2 只,主要采集于山地、林地和农田(表 1)。

2.2 样本检测情况 共检出 46 份巴尔通体阳性样本,总阳性率为 10.3%;除岩松鼠,仓鼠和棕背鼯外,各鼠种均有阳性检出;城区中,海淀区(15.0%)和石景山区(28.6%)有阳性检出,其余各区均为阴性;近郊区中,顺义区(3.1%)和门头沟区(34.2%)有阳性检出,其余各区均为阴性;远郊区中,除平谷区外均有阳性检出,阳性率均 > 25.0%(表 1)。

2.3 不同特征鼠形动物巴尔通体感染情况 对不同鼠种之间的巴尔通体阳性率进行比较,结果显示不同鼠种间的阳性率差异具有统计学意义( $\chi^2 = 114.980, P < 0.001$ );其中,社鼠(41.5%)、黑线姬鼠(36.0%)和中华姬鼠(30.0%)的阳性率显著高于褐家鼠(0.4%)与小家鼠(4.3%)的阳性率,而社鼠、黑线姬鼠和中华姬鼠的阳性率差异无统计学意义,褐家鼠和小家鼠之间的阳性率差异无统计学意义。对不同采样区域之间的巴尔通体阳性率进行比较,结果显示不同采样区域之间的阳性率差异具有统计学意义( $\chi^2 = 22.133, P < 0.001$ );其中,远郊区的阳性率(21.7%)显著高于近郊区(6.5%)和城区(5.9%)的阳性率,但近郊区和城区之间的阳性率差异无统计学意义。对不同生境之间样本的巴尔通体阳性率进行比较,结果显示不同生境样本的阳性率差异具有统计学意义( $\chi^2 = 96.466, P < 0.001$ );其中,山地(33.3%)和林地(31.5%)的阳性率显著高于居室和周围环境的阳性率(1.7%),但山地和林地间的阳性率差异无统计学意义,此外,农田(8.8%)的阳性率显著低于山地的阳性率(表 2)。

表 1 北京市鼠形动物样本采集及检测情况

Tab.1 Information on the collection and detection of murine-like animal samples in Beijing

区域	采样地点	采集生境	褐家鼠		小家鼠		社鼠		中华姬鼠		黑线姬鼠		其他鼠种	
			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 (%)	样本数	阳性数 (%)
城区	东城区	居室及周边环境	12	0(0.0)	6	0(0.0)	0	—	0	—	0	—	0	—
	西城区	居室及周边环境	6	0(0.0)	21	0(0.0)	0	—	0	—	1	0(0.0)	0	—
	朝阳区	居室及周边环境	16	0(0.0)	4	0(0.0)	0	—	0	—	0	—	0	—
	海淀区	居室及周边环境、 山地	2	0(0.0)	0	—	1	0(0.0)	15	2(13.3)	0	—	2	1(50.0)
	丰台区	居室及周边环境	7	0(0.0)	12	0(0.0)	0	—	0	—	0	—	0	—
	石景山区	居室及周边环境	1	0(0.0)	13	4(30.8)	0	—	0	—	0	—	0	—
近郊区	顺义区	居室及周边环境	32	1(3.1)	0	0(0.0)	0	—	0	—	0	—	0	—
	昌平区	居室及周边环境	25	0(0.0)	20	0(0.0)	0	—	0	—	0	—	0	—
	大兴区	居室及周边环境	30	0(0.0)	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—
	通州区	居室及周边环境、 农田	27	0(0.0)	8	0(0.0)	0	—	0	—	1	0(0.0)	0	—
	房山区	居室及周边环境	33	0(0.0)	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—
	门头沟区	山地、林地、农田	0	—	1	0(0.0)	29	9(31.0)	4	2(50.0)	4	2(50.0)	0	—
远郊区	怀柔区	居室及周边环境、 山地	2	0(0.0)	0	—	10	6(60.0)	0	—	1	1(100.0)	6	0(0.0)
	密云区	居室及周边环境、 山地	2	0(0.0)	7	0(0.0)	10	6(60.0)	3	1(33.3)	7	3(42.9)	3	0(0.0)
	平谷区	居室及周边环境	33	0(0.0)	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—
	延庆区	林地	5	0(0.0)	0	—	3	1(33.3)	8	4(50.0)	11	3(27.3)	4	0(0.0)
	小计		233	1(0.4)	92	4(4.3)	53	22(41.5)	30	9(30.0)	25	9(36.0)	15	1(6.7)

注:其他鼠种包括岩松鼠、仓鼠、棕背鼯和鼯鼯

表 2 不同特征鼠形动物巴尔通体感染情况

Tab.2 *Bartonella* infections according to different characteristics of murine-like animals

特征	样本数	阳性数 (%)	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值	特征	样本数	阳性数 (%)	$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
鼠种			114.98	<0.001	近郊区	214	14 (6.5)		
褐家鼠	233	1(0.4)			远郊区	115	25 (21.7)		
小家鼠	92	4 (4.3)			采样生境			96.466	<0.001
社鼠	53	22 (41.5)			山地	63	21 (33.3)		
中华姬鼠	30	9(30.0)			林地	54	17 (31.5)		
黑线姬鼠	25	9(36.0)			农田	34	3 (8.8)		
其他鼠种	15	1(6.7)			居室及周 围环境	297	5 (1.7)		
采样区域			22.133	<0.001					
城区	119	7 (5.9)							

2.4 系统发育树分析 PCR 阳性扩增产物经测序,共获得 40 条符合质量的序列,与 GenBank 中获取的国内外 33 条不同种属的巴尔通体 *gltA* 基因序列

进行比对,截齐后的片段对应 *Bartonella henselae* (L38987.1) *gltA* 基因的碱基位置为 823~1085,并基于该部分序列构建系统发育树。如图 1 所示,40

份样本位于进化树上的 8 个不同分支;其中,25 份样本与巴尔通体(*Bartonella spp.*)未定种位于同一个分支;样本 MTG4、MTG11 和 HD1 与分离自美国社田鼠的 *B. grahamii* (KT327033.1)亲缘关系最近,序列相似性大于 98%;样本 MTG3、MY3、MY6 和 MY7 与 *B. rattimassiliensis* (AY515125.1)亲缘关系最近,相似性大于 96%;MTG19 和 MY32 与 *B. queenslandensis* (EU111798.1)亲缘关

系最近,相似性大于 97%;HD6 与 *B. taylorii* (AF191502.1)亲缘关系最近,相似性为 92%;YQ7 与 *B. elizabethae* (KT327032.1)亲缘关系最近,相似性为 96%;HD4、MTG5 和 YQ1 与 *B. japonica* (AB242289.1)亲缘关系最近,相似性大于 99%;YQ31 与 *B. phoceensis* (AY515126.1)亲缘关系最近,相似性为 99%。

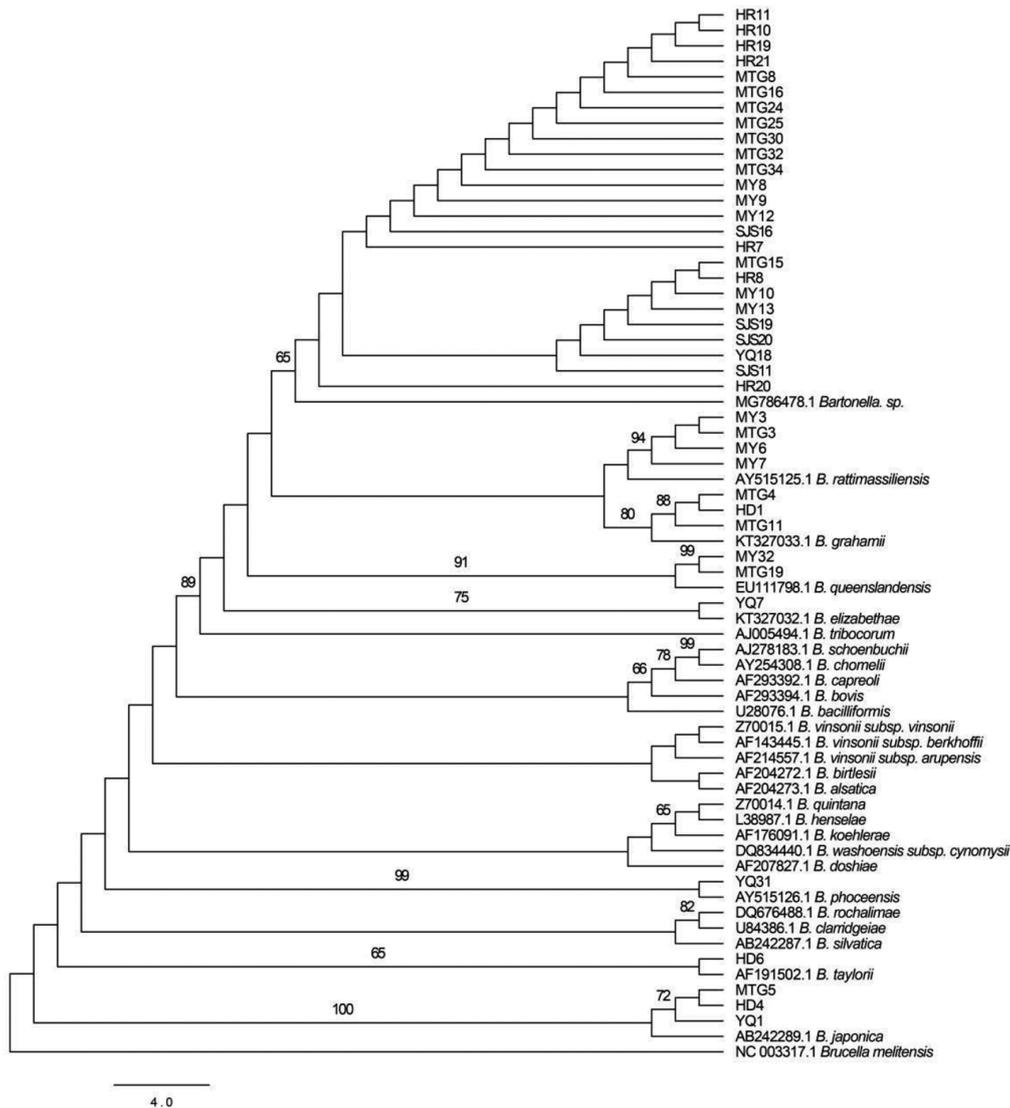


图 1 基于巴尔通体 *gltA* 部分序列构建的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree constructed on the basis of partial sequences of *Bartonella gltA*

### 3 讨论

本研究首次在北京全市范围内对鼠传巴尔通体的感染情况进行调查,结果显示,鼠形动物巴尔通体的总感染率为 10.3%,与我国福建、海南等地报道的感染率接近<sup>[15-16]</sup>。我国各地鼠类的巴尔通体感染

率差异较大,其中,黑龙江和内蒙古等地的感染率可高达 13.8%~57.7%和 56.4%,这与当地气候、生态环境和啮齿动物种群分布有关<sup>[17-18]</sup>。北京市地形以山地和平原为主,周边远郊区域多为山地,城区和近郊区多为平原,生态环境、鼠形动物种群密度和种类

分布差异较大。本研究结果显示,远郊区的阳性率(21.7%)显著高于近郊区(6.5%)和城区(5.9%)的阳性率,但近郊区和城区之间的阳性率差异无统计学意义。由于巴尔通体宿主具有多样性,山地、林地等环境的生态系统复杂,动物种群丰富,而远郊区样本多采集于山地、林地,因此,阳性率高于城区或近郊区的农田或居室及周围环境。不同鼠种间,社鼠和姬鼠阳性率(30.0%~41.5%)显著高于褐家鼠、小家鼠的阳性率(0.4%~4.3%),但姬鼠之间和家鼠之间阳性率差异无统计学意义,这主要与北京市远郊区山地、林地的优势鼠种为社鼠和姬鼠,而城区和近郊区的居室及周边环境的优势鼠种为褐家鼠、小家鼠有关。系统进化树分析结果显示,本次检测到的巴尔通体位于进化树上的8个不同分支,其中,25份样本与巴尔通体(*Bartonella spp.*)未定种位于同一个分支,而其他样本则分别与7个不同种巴尔通体聚为一个分支,同时,多个鼠种均可检出不同种的巴尔通体,表明北京市鼠形动物感染巴尔通体具有多样性特征。本次调查检测到的巴尔通体中,*B. grahamii*和*B. elizabethae*被认为与人类疾病相关,可导致发热、心内膜炎和菌血症等<sup>[19]</sup>,表明本地鼠形动物至少携带2种对人致病的巴尔通体。鼠类是多种传染病病原体的宿主<sup>[20-21]</sup>,随着本地农业、旅游和商业开发等的发展,对周边自然环境的改造可能会改变鼠类原有生态环境,造成鼠类迁徙、流窜;同时,人与自然环境的接触频率增加,使得人类感染的概率增加。因此,有效的鼠类控制措施,特别是对远郊区县区的动物宿主和传播媒介的控制,将有助于减少本地人群感染巴尔通体的风险。

**利益冲突:**无

**引用本文格式:**李夫,窦相峰,吕燕宁,等.北京市鼠形动物感染巴尔通体的调查[J].中国人兽共患病学报,2021,37(6):520-524. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2021.00.053

## 参考文献:

- [1] Boulouis HJ, Chang CC, Henn JB, et al. Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections[J]. Vet Res, 2005,36(3):383-410. DOI: 10.1051/vetres;2005009
- [2] Breitschwerdt EB. Bartonellosis, One Health and all creatures great and small[J]. Vet Dermatol, 2017,28(1):96-e21. DOI: 10.1111/vde.12413
- [3] Buffet JP, Kosoy M, Vayssier-Taussat M. Natural history of *Bartonella*-infecting rodents in light of new knowledge on genomics, diversity and evolution[J]. Future Microbiol, 2013,8(9):1117-1128. DOI: 10.2217/fmb.13.77
- [4] Mogollon-Pasapera E, Jr L O, Giordano A, et al. *Bartonella*: emerging pathogen or emerging awareness[J]. Int J Infect Dis, 2009, 13(1):3-8. DOI: 10.1016/j.ijid.2008.04.002
- [5] Pons MJ, Gomes C, Del Valle-Mendoza J, et al. Carrion's disease: more than a sand fly-vectored illness[J]. PLoS Pathog, 2016,12(10):e1005863. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005863
- [6] 李小丽,阴赫宏.对巴尔通体感染的临床认识[J].中国病原生物学杂志,2012,7(11):872-875.
- [7] Rabiee MH, Mahmoudi A, Siaharsarvie R, et al. Rodent-borne diseases and their public health importance in Iran[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2018, 12: e0006256. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006256
- [8] 李雪云,陈经雕,黎聪荣,等.广东省鼠形动物携带巴尔通体的调查和基因特征分析[J].中国人兽共患病学报,2018,34(5):482-486. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2018.00.062
- [9] Gutierrez R, Morick D, Cohen C, et al. The effect of ecological and temporal factors on the composition of *Bartonella* infection in rodents and their fleas[J]. ISME J, 2014,8(8):1598-1608. DOI: 10.1038/ismej.2014.22
- [10] 张婧,冯云,宋志忠.巴尔通体宿主及传播媒介的研究进展[J].中国人兽共患病学报,2018,34(4):349-361. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2018.00.044
- [11] 陈艳伟,窦相峰,孙玉兰,等.2010—2018年北京市肾综合征出血热空间分布特征研究[J].国际病毒学杂志,2019,5(26):308-312. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4092.2019.05.005
- [12] 窦相峰,陈艳伟,王小梅,等.2011—2018年北京市鼠情和鼠疫血清学调查[J].首都公共卫生,2019,13(2):80-82.
- [13] 郭全宝.中国鼠类及其防治[M].北京:农业出版社,1984.
- [14] Norman AF, Regnery R, Jameson P, et al. Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR-restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene[J]. J Clin Microbiol, 1995,33(7):1797-1803. DOI: 10.1128/JCM.33.7.1797-1803.1995
- [15] 肖方震,林代华,周淑姮,等.福建省鼠类感染巴尔通体调查及序列分析[J].中国人兽共患病学报,2017,33(7):607-612. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2017.07.007
- [16] 宋秀平,刘起勇,鲁亮,等.海南省小型兽类巴尔通体的分离培养和序列分析[J].中国媒介生物学及控制杂志,2010,21(2):131-133.
- [17] 宋秀平,栗冬梅,贾丽军,等.内蒙古小型兽类巴尔通体感染情况调查[J].中国媒介生物学及控制杂志,2015,26(3):233-237. DOI: 10.11853/j.issn.1003.4692.2015.03.004
- [18] 左双燕.我国黑龙江林区鼠型动物巴尔通体感染调查与分离鉴定[D].长沙:中南大学,2012.
- [19] 马洁琼,栗冬梅,陈忠科,等.鼠传巴尔通体流行概况[J].疾病监测,2018,33(1):7-14. DOI: 10.3784/j.issn.1003-9961.2018.01.004
- [20] 熊晨皓,赵国平,兰晓霞,等.1958—2013年我国自然疫源性疾病的流行分析[J].中国人兽共患病学报,2015,31(2):169-173. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2015.02.016
- [21] 李利利,徐亚陇,刘蒙蒙,等.一株新型鼠类星状病毒的基因组特点和进化分析[J].国际病毒学杂志,2020,27(3):205-209. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4092.2020.03.007

收稿日期:2020-08-28 编辑:张智芳