

分类号: R392

学 号: 20222014036

密 级: 公开

单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



新疆边境及毗邻区域锥虫的病原分子检测

学 位 申 请 人

吴宣辰

指 导 教 师

王远志 教授

谭文波 副教授

申请学位门类级别

医学硕士

学 科、专 业 名 称

基础医学

研 究 方 向

免疫学

所 在 学 院

医学院

中国·新疆·石河子

2025年5月

分类号: R392

密 级: 公开

学 号: 20222014036

单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



新疆边境及毗邻区域锥虫的病原分子检测

学 位 申 请 人	吴宣辰
指 导 教 师	王远志 教授 谭文波 副教授
申请学位门类级别	医学硕士
学 科、专 业 名 称	基础医学
研 究 方 向	免疫学
所 在 学 院	医学院

中国·新疆·石河子

2025年5月

**Pathogenic molecular detection of Trypanosoma in Xinjiang border
and adjacent regions**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

For the Degree of

Master of Medicine

By

Xuanchen Wu

(Immunology)

Dissertation Supervisor

Prof. Yuanzhi Wang

Associate Prof. Wenbo Tan

May, 2025

Shihezi Xinjiang China

课题来源

“病原学与防疫技术体系研究”重点专项 2022 年度项目

重要人兽共患病监测预警与一体化防控技术

项目批准号：2022YFC2304004

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：



时间：2025 年 5 月 27 日

使用授权声明

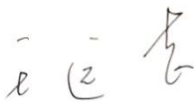
本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：



时间：2025 年 5 月 27 日

导师签名：



时间：2025 年 5 月 27 日

摘要

目的：被忽视的热带疾病（Neglected Tropical Diseases, NTDs）是一类主要在热带和亚热带地区流行的疾病，在被忽视的、边缘的、贫穷的社区的人群中广泛流行，包括登革热、血吸虫病、包虫病、黑热病、恰加斯病、带绦虫病和囊虫病等，影响全球 10 多亿人，其中黑热病和恰加斯病分别由锥虫科的利什曼原虫和克氏锥虫感染引起。哈萨克斯坦和吉尔吉斯斯坦与中国毗邻，但两国的疫病防控能力较弱，加之现在国际社会的人员流动较大，进出口货物日益增多，中国面临着较大的跨境传播疾病的风险。本研究旨在通过分子检测手段，深入了解新疆边境及毗邻区域的锥虫种类、分布和流行特点，为该地区锥虫病的防控提供科学依据。

方法：（1）样本采集：2022 年 5 月-2024 年 12 月，在中国新疆 18 个县市（哈密市、图木舒克市、玛纳斯县、托里县、精河县、尼勒克县、霍城县、温泉县、胡杨河市、额敏县、奎屯市、阿拉山口市、奇台县、石河子市、克拉玛依市、阿勒泰市、乌苏市、北屯市）和中国内蒙五个旗市（阿拉善左旗、呼和浩特市、额济纳旗、巴彦淖尔市、鄂尔多斯市）采集样本，共采集了 385 只爬行动物，994 只啮齿动物，83 只鼠兔，98 只蝙蝠（由新疆维吾尔自治区自治地方野生动物管理办公室交付于本实验室，尸体采集自石河子市和新源县），123 只蜚虫。另外，本团队在哈萨克斯坦 4 个州（阿拜州、杰特苏州、克孜勒奥尔达州、图尔克斯坦州）采集 421 只蜚虫样本，在吉尔吉斯斯坦奥什州采集 1900 份驴血样本。（2）物种鉴定：通过形态学与分子生物学对采集样本进行鉴定。分子鉴定包括：爬行动物采用环氧化酶 1 (*cox1*) 基因，啮齿动物采用环氧化酶 1 (*cox1*) 基因，蜚虫采用 16S 核糖体 RNA (*16S rRNA*) 与环氧化酶 1 (*cox1*) 基因，PCR 扩增产物进行测序确定。（3）锥虫检测：首先，采用瑞氏-姬姆萨染色对血液样本染色进行形态学鉴定；随后，采用 PCR 对锥虫 18S 核糖体 RNA (*18S rRNA*) 与甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因 (*gGAPDH*) 进行筛选，阳性产物进行测序鉴定。

结果：（1）物种鉴定结果如下：爬行动物隶属于 2 科 4 属 12 种，啮齿动物隶属于 5 科 6 属 12 种，鼠兔为蒙古鼠兔，蝙蝠为伏翼蝠，采集自中国的蜚虫隶属于 1 科 3 属 4 种，采集自哈萨克斯坦的蜚虫隶属于 1 科 3 属 7 种（2）研究结果显示，新疆边境及毗邻区域的锥虫感染情况呈现出显著的地理和宿主特异性。在中国新疆和内蒙，爬行动物中发现一种锥虫：库塞尔锥虫 (*Trypanosoma kuseli*)，整体阳性率为 3.38% (13/385)；在啮齿动物中，发现了 2 种不同的锥虫，分别是库塞尔锥虫

(*Trypanosoma kuseli*) 和田鼠锥虫 (*Trypanosoma microti*)，整体阳性率为 6.74% (67/994)；在蒙古鼠兔样本中，发现感染了一种未定名种新型锥虫，我们将其命名为 *Trypanosoma sp. pika*，阳性率为 6.02% (5/83)；在蜚虫样本中，未发现感染锥虫；在伏翼蝠样本中，发现了 1 种锥虫：狄奥尼西锥虫 (*Trypanosoma dionisii*)，阳性率为 8.16% (8/98)。在哈萨克斯坦采集的蜚虫中发现感染一种未定名种锥虫 (*Trypanosoma sp.*)，阳性率为 0.71% (3/421)。在吉尔吉斯斯坦采集的驴血中发现，

感染两种未定名种锥虫 (*Trypanosoma sp.*)，分别属于莱文斯锥虫 (*Trypanosoma lewisi*) 群和布氏锥虫 (*Trypanosoma brucei*) 群，阳性率分别为 0.16% (3/1900)、11.89% (226/1900)。

结论：本研究在各种动物中共检测出 7 种锥虫，并且首次在蒙古鼠兔中发现一种新种锥虫 (*Trypanosoma sp. pika*) 以及首次在盾糙璃眼蜚中发现一种未定名种锥虫 (*Trypanosoma sp.*)。在爬行动物和啮齿动物种发现的库塞尔锥虫 (*Trypanosoma kuseli*)、鼠兔中发现的新种锥虫 (*Trypanosoma sp. pika*)、蝙蝠中发现的狄奥尼西锥虫 (*Trypanosoma dionisii*)、在驴血中发现的布氏群锥虫 (*Trypanosoma brucei*) 和莱文斯群锥虫 (*Trypanosoma lewisi*) 都存在感染人类的潜在威胁。在驴血中发现两种锥虫的存在，为防控跨境输入性疾病提供了重要提示。

关键词：新疆；内蒙古；哈萨克斯坦；吉尔吉斯斯坦；锥虫

论文类型：A (基础研究)

Abstract

Objective: Neglected Tropical Diseases (NTDs), a category of diseases primarily prevalent in tropical and subtropical regions, are widespread among neglected, marginalized, and impoverished communities. These diseases include dengue fever, schistosomiasis, echinococcosis, leishmaniasis, Chagas disease, taeniasis, and cysticercosis, affecting over one billion people globally. Specifically, leishmaniasis and Chagas disease are caused by *Leishmania* and *Trypanosoma cruzi* infections, respectively. Kazakhstan and Kyrgyzstan, neighboring China, have weaker capacities for epidemic prevention and control. Coupled with increased international mobility and growing import-export activities, China faces a significant risk of cross-border disease transmission. This study aims to utilize molecular detection methods to gain insights into the species, distribution, and epidemiological characteristics of *trypanosoma* in Xinjiang border areas and adjacent regions, providing a scientific basis for the prevention and control of trypanosomiasis in these areas.

Methods: (1) **Sample Collection:** From May 2022 to December 2024, samples were collected from 18 counties and cities in Xinjiang, China (Hami, Tumxuk, Manas, Toli, Jinghe, Nileke, Huocheng, Wenquan, Huyanghe, Emin, Kuitun, Alashankou, Qitai, Shihezi, Karamay, Altay, Usu, Beitun) and five banner cities in Inner Mongolia, China (Alxa Left Banner, Hohhot, Ejin Banner, Bayannur, Ordos). A total of 385 reptiles, 994 rodents, 83 pikas, 98 bats (delivered to our laboratory by the Wildlife Management Office of the Xinjiang Uygur Autonomous Region, with carcasses collected from Shihezi and Xinyuan County), and 123 ticks were sampled. Additionally, our team collected 421 tick samples from four states in Kazakhstan (Aby, Zhetisu, Kyzylorda, Turkestan) and 1,900 donkey blood samples from Osh, Kyrgyzstan. (2) **Species Identification:** Collected samples were identified using morphological and molecular biological methods. Molecular identification included: reptiles using the cytochrome c oxidase subunit 1 (*cox1*) gene, rodents using the *cox1* gene, and ticks using 16S ribosomal RNA (*16S rRNA*) and *cox1* genes, with PCR amplification products sequenced for confirmation. (3) ***Trypanosoma* Detection:** Initially, blood samples were stained using Wright-Giemsa staining for morphological identification. Subsequently, PCR was used to screen for *trypanosoma* 18S ribosomal RNA (*18S rRNA*) and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*gGAPDH*) genes, with positive products sequenced for identification.

Results: (1) **Species Identification Results:** Reptiles belonged to 2 families, 4 genera, and 12 species; rodents belonged to 5 families, 6 genera, and 12 species; pikas were identified as *Ochotona daurica*; bats were identified as *Pipistrellus spp.* Ticks collected from China belonged to 1 family, 3 genera, and 4 species, while ticks collected from Kazakhstan belonged to 1 family, 3 genera, and 7 species. (2) **Research Findings:** The prevalence of *trypanosoma* infections in Xinjiang border areas and adjacent regions exhibited

significant geographic and host specificity. In Xinjiang and Inner Mongolia, China, one *trypanosoma* species, *Trypanosoma kuseli*, was identified in reptiles, with an overall positivity rate of 3.38% (13/385). Two distinct *trypanosoma* species, *T. kuseli* and *Trypanosoma microti*, were identified in rodents, with an overall positivity rate of 6.74% (67/994). A novel, unnamed *trypanosoma* species, designated as *Trypanosoma sp. pika*, was identified in *O. daurica* samples, with a positivity rate of 6.02% (5/83). No *trypanosoma* infections were detected in tick samples. In bat samples, one *trypanosoma* species, *Trypanosoma dionisii*, was identified, with a positivity rate of 8.16% (8/98). An unnamed *trypanosoma* species (*Trypanosoma sp.*) was identified in ticks collected from Kazakhstan, with a positivity rate of 0.71% (3/421). In donkey blood samples collected from Kyrgyzstan, two unnamed *trypanosoma* species (*Trypanosoma sp.*) belonging to the *Trypanosoma lewisi* group and *Trypanosoma brucei* group were identified, with positivity rates of 0.16% (3/1,900) and 11.89% (226/1,900), respectively.

Conclusion: This study detected a total of seven *trypanosoma* species in various animals. Notably, a novel *trypanosoma* species (*Trypanosoma sp. pika*) was identified in *O. daurica* for the first time, and an unnamed *trypanosoma* species (*Trypanosoma sp.*) was identified in *Hyalomma scupense*. The identified *trypanosoma* species—*T. kuseli* in reptiles and rodents, *Trypanosoma sp. pika* in pikas, *T. dionisii* in bats, and *T. brucei* and *T. lewisi* clades in donkey blood—all pose potential threats to human infection. The detection of two *trypanosoma* species in donkey blood provides critical insights for the prevention and control of cross-border imported diseases.

Key words: Xinjiang; Inner Mongolia; Kazakhstan; Kyrgyzstan; *trypanosoma*

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
目录.....	V
中英文缩略词对照表.....	VII
第1章 引言.....	1
第2章 材料与方法.....	3
2.1 材料.....	3
2.1.1 伦理批准.....	3
2.1.2 中国新疆与内蒙古部分地区样本采集点.....	3
2.1.3 主要仪器与试剂.....	4
2.2 方法.....	6
2.2.1 爬行动物样本制备.....	6
2.2.2 啮齿动物、鼠兔、蝙蝠样本制备.....	6
2.2.3 蜚虫样本制备.....	6
2.2.4 血液样本制备.....	6
2.2.5 PCR 模板制备.....	6
2.2.6 爬行动物、啮齿动物、鼠兔、蜚、蝙蝠鉴定.....	9
2.2.7 锥虫的分子生物学鉴定.....	11
2.2.8 形态学鉴定.....	12
2.2.9 序列结果分析及遗传进化树的构建.....	13
第3章 结果.....	14
3.1 样本采集结果.....	14
3.2 动物种类鉴定结果.....	16
3.2.1 动物形态学鉴定.....	16
3.2.2 动物分子学鉴定.....	18
3.3 动物携带锥虫检测结果与遗传进化分析.....	21
3.3.1 爬行动物携带锥虫的筛查结果与遗传衍化分析.....	21
3.3.2 啮齿动物携带锥虫的筛查结果与遗传衍化分析.....	25
3.3.3 蒙古鼠兔携带锥虫的筛查结果与遗传衍化分析.....	30
3.3.4 蝙蝠携带锥虫的筛查结果与遗传衍化分析.....	33
3.3.5 蜚虫携带锥虫的筛查结果与遗传衍化分析.....	36
3.3.6 驴血携带锥虫的筛查结果与遗传衍化分析.....	37

第4章 讨论	40
4.1 爬行动物的研究现状与锥虫检测	41
4.2 啮齿动物的研究现状与锥虫检测	41
4.3 鼠兔研究现状与锥虫检测	43
4.4 蝙蝠研究现状与锥虫检测	44
4.5 蜚虫的研究现状与锥虫检测	44
4.6 驴的研究现状与锥虫检测	45
第5章 结论	47
文献综述	48
1 锥虫属	49
2 利什曼原虫属	50
3 锥虫感染的报道及流行情况	51
4 利什曼原虫感染的报道及流行情况	53
5 问题与展望	54
参考文献	55
附件	65
致谢	66
作者简介	68
导师评阅表	69

中英文缩略词对照表

英文缩写	英文全称	中文名称
NTD	Neglected Tropical Diseases	被忽略的热带疾病
bp	Base pair	碱基对
cox1	Cytochrome C oxidase subunit 1	环氧化酶 1
COI	Cytochrome Oxidase I	细胞色素氧化酶亚基 I
cytb	Cytochrome B oxidase	细胞色素 B 氧化酶
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶
PCR	Polymerase Chain Reaction	聚合酶链式反应
DNA	Deoxyribonucleic acid	脱氧核苷酸
dNTP	Deoxyribonucleoside trephosphate	脱氧核苷三磷酸
RNaseA	Ribonuclease A	核糖核酸酶 A
r RNA	Ribosomal RNA	核糖体 RNA
rpm	Rotation per minute	转/分钟
ML	Maximum-Likelihood	最大似然法
NCBI	National Center for Biotechnology Information	美国国家生物技术信息中心网站
NJ	Neighbor-Joining	邻接法
CL	cutaneous leishmaniasis	皮肤利什曼病
ML	Mucocutaneous Leishmaniasis	皮肤粘膜利什曼病
VL	visceral leishmaniasis	内脏利什曼病
HAT	human African trypanosomiasis	非洲锥虫病

第1章 引言

被忽视的热带疾病（Neglected Tropical Diseases, NTDs）是一类主要在热带和亚热带地区流行的疾病，这类疾病给全球超 10 亿人造成极具破坏力的人力、社会和经济负担，包括登革热、血吸虫病、包虫病、黑热病、恰加斯病、带绦虫病和囊虫病等，影响全球 10 多亿人，其中黑热病和恰加斯病分别是由锥虫科的利什曼原虫和克氏锥虫感染引起^[1]。随着中国推动“一带一路”以来，新疆作为边境地区，进出口交易量也与日俱增，大量的病原可能借此传播进入中国境内，例如埃博拉出血热、疟疾、登革热等，这给国家关口的检疫工作带来了巨大挑战，锥虫病和利什曼病也有机会趁此传播进入中国。

锥虫科是一类多细胞寄生生物，分布广泛，共有 24 个属，例如 *Trypanosoma*（锥虫属）、*Leishmania*（利什曼原虫属）、*Crithidia*、*Leptomonas* 和 *Blechnomonas* 等，因种类而异，不同种类的锥虫对传播途径和传播媒介的要求也不同。传播途径包括母婴传播、性传播、血液传播和昆虫传播等^[2-3]。昆虫传播主要通过白蛉、蜱虫、采采蝇、锥蝽等。这些昆虫在草地、森林、草原和家畜圈等处繁殖，可以通过叮咬人或动物来传播锥虫病^[4]，此外，还可以通过直接接触感染者的体液或被污染的食物和水传播。锥虫的自然宿主主要有啮齿动物、爬行动物、家畜等。

致病机制主要包括锥虫对机体的侵袭作用、免疫应答引发的炎症反应以及锥虫对神经系统的影响等。锥虫通过侵袭机体的组织和器官，引起炎症和免疫应答反应，导致一系列的临床症状^[5]。临床表现主要为发热、头痛、乏力、关节痛、淋巴结肿大等，严重时可导致心肌炎、心力衰竭和死亡。治疗方式主要依赖于药物治疗和免疫治疗，但治疗周期较长，且需要严格的卫生防疫措施^[6]。

锥虫在全球范围内都有分布，并且在某些地区已经成为地方性流行病，尤其是在非洲、亚洲和南美洲的一些地区^[7]。近年来，锥虫病的流行趋势逐渐上升，特别是在热带和亚热带地区。锥虫病和利什曼病的流行趋势受到多种因素的影响，包括气候变化、生态环境、人类行为和社会经济等，这些因素的变化可能导致锥虫病和利什曼病的流行趋势发生变化^[8]。

感染人类的经典锥虫有克氏锥虫（*Trypanosoma cruzi*）和布氏锥虫（*Trypanosoma brucei*），而非经典锥虫则包括莱文斯锥虫（*Trypanosoma lewisi*）、狄奥尼西锥虫（*Trypanosoma dionisii*）。利什曼原虫属可以感染人类则包括杜氏利什曼原虫（*Leishmania donovani*）、婴儿利什曼原虫（*Leishmania infantum*）、热带利什曼原虫（*Leishmania tropica*）等。

中亚地域广阔，土地面积约 400 万平方公里，人口总数约 8173 万。中亚地区涵盖哈萨克斯坦共和国、吉尔吉斯共和国、塔吉克斯坦共和国、土库曼斯坦和乌兹别克斯坦共和国五国主体。从地缘战略视角分析，该区域占据欧亚大陆核心腹地，北接俄罗斯联邦，东邻中国西部边疆，南毗南亚次大陆与伊朗高原，构成了新亚欧大陆桥的战略支点。2024 年，新疆各类海关出入境人员 325 万人次，进出口贸易总值 4031 亿元（数据来源：乌鲁木齐海关内部）。随着中国和周边国家（特别是中亚国家）的人员免签、活畜交易以及物流快速发展，新疆跨境传染病的智能化监测和防控工作成为当下新疆生产建设兵团和新疆维吾尔自治区亟需解决的瓶颈问题。

中国新疆、内蒙古、哈萨克斯坦以及吉尔吉斯斯坦拥有独特的地理环境——以荒漠和半荒漠为主，地理景观多样，自然宿主和媒介生物丰富，这样的条件为锥虫、利什曼原虫等寄生虫提供了适宜的生存环境^[9]。加之哈萨克斯坦和吉尔吉斯斯坦等邻国同样处于锥虫病的高发区域，使得整个中亚和南亚地区成为锥虫病研究的焦点^[10-11]。

在这样特定的地理和气候条件下，深入研究锥虫的种类、它们的宿主、以及传播媒介，对于理解锥虫病的流行规律、预测疫情趋势、开发新的诊断工具和治疗方法、以及制定有效的公共卫生干预措施至关重要。这不仅关乎中亚地区人民的健康福祉，也是全球公共卫生安全不可或缺的一环。

第2章 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 伦理批准

所有样本采集与实验的伦理批准详见表 2-1

表 2-1 伦理批准表

Tab. 2-1 Ethical Approval Form

样本	伦理批准
爬行动物	石河子大学医学院第一附属医院实验动物伦理委员会
啮齿动物	石河子大学医学院第一附属医院实验动物伦理委员会
鼠兔	石河子大学医学院第一附属医院实验动物伦理委员会
蝙蝠	新疆维吾尔自治区自治地方野生动物管理办公室
吉尔吉斯斯坦驴血	乌鲁木齐海关

2.1.2 中国新疆与内蒙古部分地区样本采集点

2022 年 5 月-2024 年 12 月，本团队在新疆、内蒙古以及哈萨克斯坦和吉尔吉斯斯坦收集样本，新疆包括 18 个县市（哈密市、图木舒克市、玛纳斯县、托里县、精河县、尼勒克县、霍城县、温泉县、胡杨河市、额敏县、奎屯市、阿拉山口市、奇台县、石河子市、克拉玛依市、阿勒泰市、乌苏市、北屯市），共采集到爬行动物 385 只、啮齿动物 994 只、鼠兔 83 只、昆虫 544 只（新疆 123 只、哈萨克斯坦 421 只）、驴血 1900 份，另有 98 只蝙蝠尸体由新疆维吾尔自治区自治地方野生动物管理办公室交付于本实验室检验，涉及的蝙蝠尸体来源于石河子市和新源县。

采集点详情见图 2-1。

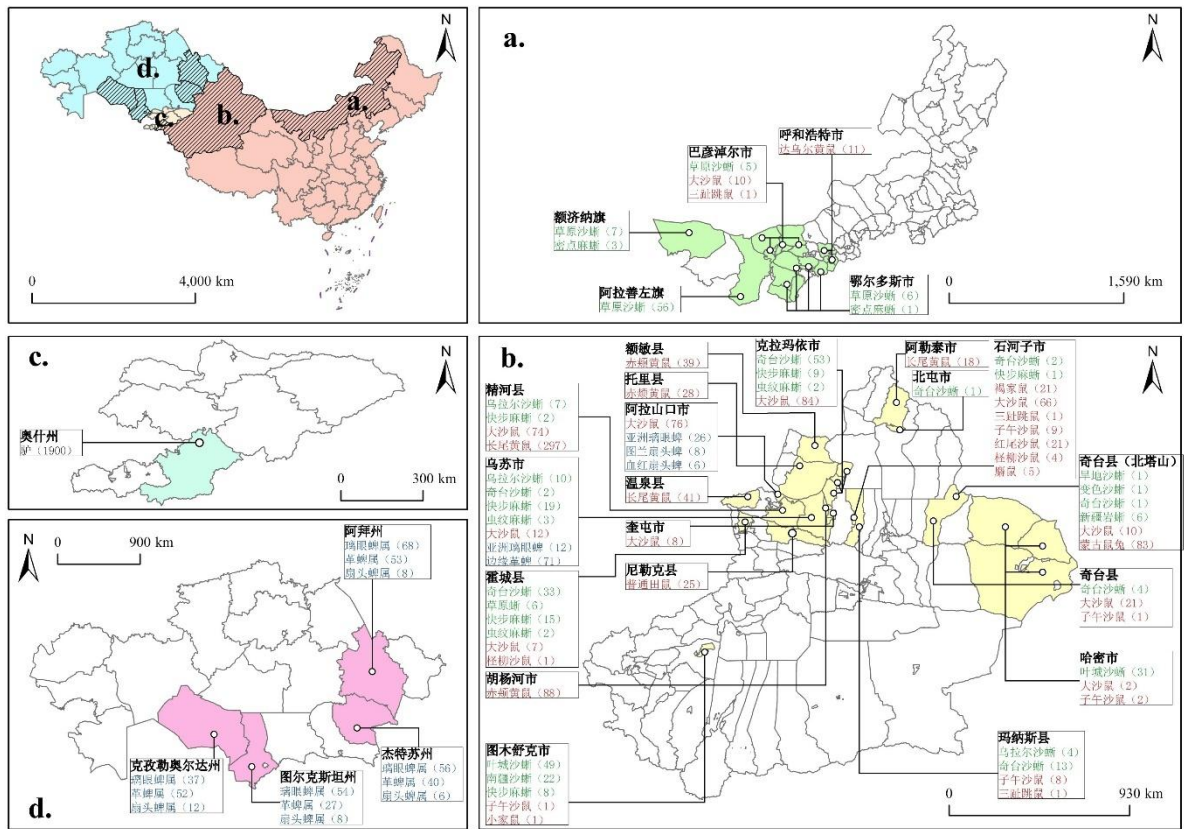


图 2-1 样本采集点 (a:内蒙古; b: 新疆; c: 吉尔吉斯斯坦; d: 哈萨克斯坦)

Fig. 2-1 Locations of Sample Collection (a: Inner Mongolia; b: Xinjiang; c: Kyrgyzstan; d: Kazakhstan)

2.1.3 主要仪器与试剂

(1) 主要仪器

实验所使用的仪器设备见下表 2-2。

表 2-2 主要仪器信息

Tab. 2-2 The main information of instruments

仪器设备	型号	生产厂商
双人单面水平超净工作台	SW-CJ-1CU	苏州净化设备有限公司
生物安全柜	HR1500-IIA2	青岛海尔集团
微量移液器	3111000807	德国 eppendorf 公司
全自动高压蒸汽灭菌器	YXQ-SG46	上海佳胜实验设备公司
冷冻冰箱	DW-YW358A	中科美菱公司
-80℃深低温冰箱	DW-86L578J	青岛海尔集团
高速冷冻离心机	Centrifuge5427R	德国 eppendorf 公司