

DOI:10.13350/j.cjpb.240905

• 论著 •

甘肃省甘南州家畜细粒棘球蚴病例特征 及其病原遗传多样性分析^{*}

严斌昌^{1**},米荣升²,邵云全³,黄玉富⁴,石玉桂¹,赵宏⁵

(1. 甘肃省畜牧技术推广总站,甘肃兰州 730030;2. 中国农业科学院上海兽医研究所,
农业部动物产品质量安全生物性危害因子风险评估实验室(上海)农业部动物寄生虫学重点实验室;
3. 甘肃省高原第二农牧发展有限公司;4. 甘肃省动物营养研究所;5. 甘肃省农牧业良种场)

【摘要】 目的 分析甘肃省甘南州细粒棘球蚴(*Echinococcus granulosus*)基因型、遗传多样性及群体间遗传差异,为甘南州细粒棘球蚴溯源及制定预防控制策略提供参考。 方法 收集2016-2022年甘南州玛曲县及碌曲县屠宰场家畜肝脏或肺脏感染的囊型棘球蚴病(cystic echinococcosis, CE)包囊,提取包囊基因组DNA,PCR扩增线粒体NADH脱氢酶2(nad2)基因,测序剪接后进行Blast比对,DnaSPv5软件分析nad2序列的基因型,利用Mega11软件采用邻接法构建系统进化树,再使用PopArt 1.7软件建立细粒棘球蚴nad2基因网络图,最后使用Arlequin 3.5.2.2分析nad2不同群体间的遗传差异。 结果 PCR结果显示,家畜CE感染率为9.97%(64/642),绵羊(9.14%,48/525)和牛(13.68%,16/117)感染率差异极显著($\chi^2=175.6, P<0.01$)。nad2基因条带大小为882 bp,将测序结果与GenBank中发表的细粒棘球蚴的序列进行比对,相似度均达到99%以上。序列分析结果显示,分为G1(占90.63%,58/64)和G3(占9.37%,6/64)两个基因型,序列相似度可达100%;共有12个单倍型,其中Hap1(占50.00%,32/64)是最主要的单倍型,Hap2(占14.06%,9/64)次之,其中Hap3是和Hap4属于G3基因型(占9.37%,6/64)。系统发生树结果显示,G1和G3基因型处在两个小的分支上,在基因网络图中以Hap1单倍型为中心,其他11个单倍型呈散射状分布;序列单倍型多样性范围为0.7086~0.7706,核苷酸多样性范围为0.00321~0.00452。甘南州两个县细粒棘球蚴种群田岛检验(Tajima's D)均为负值,表明甘南州的细粒棘球蚴种群处于扩张或净化选择的趋势,中性检验(Fu's F)推测两个县的细粒棘球蚴种群也处于扩张趋势,且存在一些特有的基因型,F_{ST}结果表明,甘南州细粒棘球蚴不同种群间遗传分化差异不显著($P>0.05$)。 结论 本研究发现甘南州家畜表现出较高的遗传多样性,并处于扩张趋势,存在地区特有的单倍型。共有G1和G3两个基因型,12个单倍型,其中Hap1占50%,其近缘单倍型在全世界均有分布,是甘南州乃至其他主要流行区的主要致病单倍型。

【关键词】 细粒棘球绦虫;囊型棘球蚴病;甘肃省甘南州;nad2基因;基因型;遗传多样性

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2024)09-1014-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2024 Sep.;19(9):1014-1019.]

Study on characteristics of cystic echinococcosis and genetic diversity of livestock in Gannan Prefecture, Gansu Province

YAN Binchang¹, MI Rongsheng², SHAO Yunquan³, HUANG Yufu⁴, SHI Yuguai¹, ZHAO Hong⁵
(1. Gansu Provincial Animal Husbandry Technology Extension Station, Lanzhou 730030, China; 2. Key Laboratory of Animal Parasitology of Ministry of Agriculture, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Animal Products on Biohazards (Shanghai) of Ministry of Agriculture, Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences; 3. Gansu Plateau Second Agricultural and Animal Husbandry Development Co., LTD.; 4. Gansu Institute of Animal Nutrition; 5. Gansu Agriculture and Animal Husbandry Breeding Farm)^{***}

【Abstract】 **Objective** The objective of this study was to analyze the genotypes, genetic diversity, and inter-population genetic differences of *Echinococcus granulosus* in Gannan Prefecture, Gansu Province. The findings aim to inform the development of tracing, prevention, and control strategies for *E. granulosus* in Gannan Prefecture. **Methods** Cystic echinococcosis (CE) infected with liver or lung in slaughterhouses were collected in Maqu County and Luqu County,

* 【基金项目】 西藏自治区重点研发计划项目(No. XZ202201ZY0007N-02),甘肃省农业农村厅科技项目《甘南放牧牦牛高质量发展增效技术集成与示范》(GNKJ-2022-21),甘肃省农业农村厅科技项目《基于理想氨基酸模型研发甘南牦牛低蛋白育肥专用饲料及其应用效果评价》(GNKJ-2024-12)。

** 【通讯作者(简介)】 严斌昌(1971-),男,甘肃武威人,本科,高级畜牧师,从事牛羊杂交改良、粮改饲、畜禽疫病防控的推广和研发。

E-mail:gslzybc@163.com

Gannan Prefecture from 2016 to 2022. The DNA of the cysts was extracted and the mitochondrial NADH dehydrogenase 2 (*nad2*) gene was amplified by PCR. After sequencing and splice, Blast comparison was performed. The genotype of *nad2* sequences were analyzed by DnaSPv5 software. Mega11 software was applied to construct a phylogenetic tree using the adjacency method, and PopArt 1.7 software was used to construct a *nad2* gene network map of *E. granulosus*. Finally, Arlequin 3.5.2.2 was used to analyze the genetic differences among *nad2* populations. **Results** The PCR results showed that the infection rate of CE in livestock was 9.97% (64/642), with significant differences in infection rates between sheep (9.14%, 48/525) and cattle (13.68%, 16/117) ($\chi^2 = 175.6, P < 0.01$). The size of the *nad2* gene band was 882 bp, and the similarity between the sequencing results and the published sequences of *E. granulosus* in GenBank was above 99%. The analysis of the sequencing results showed that the genotypes were divided into G1 (90.63%, 58/64) and G3 (9.37%, 6/64), with sequence similarity of 100%, there were 12 haplotypes, with Hap1 (50.00%, 32/64) being the most dominant haplotype, Hap2 (14.06%, 9/64) being the second, and Hap3 and Hap4 belonging to G3 genotype (9.37%, 6/64). Phylogenetic tree showed that G1 and G3 genotypes were distributed in two small branches, with Hap1 haplotype as the center and the other 11 haplotypes scattered, the range of haplotype diversity was 0.7086–0.7706, and the range of nucleotide diversity was 0.00321–0.00452. The Tajima's D test for the two Counties in Gannan Prefecture *E. granulosus* populations was negative, indicating that the *E. granulosus* population in Gannan Prefecture was expanding or undergoing purifying selection. The Neutral's F test (Fu's F) also suggested that the two County populations were expanding and had some unique genotypes. Pairwise fixation index (F_{ST}) results showed that the genetic differentiation between the *E. granulosus* populations in Gannan Prefecture was not significant ($P > 0.05$).

Conclusion This study found that livestock in Gannan Prefecture exhibited high genetic diversity and in an expanding trend, with region-specific haplotypes. There are two genotypes, G1 and G3, as well as 12 haplotypes, among which Hap1 accounts for 50%. Its closely related haplotypes are distributed worldwide and represent the main pathogenic haplotype in Gannan Prefecture and other major endemic areas.

【Keywords】 *Echinococcus granulosus*; cystic echinococcosis; Gannan Prefecture, Gansu Province; *Nad2* gene; genotype; genetic diversity

细粒棘球蚴病(cystic echinococcosis, CE)是由细粒棘球绦虫(*Echinococcus granulosus*)中绦期幼虫引起的人畜共患寄生虫病^[1-2],导致了全球性的公共健康问题^[3]。细粒棘球蚴病成世界范围流行,亦在我国西部高发,主要分布在新疆、甘肃、青海、西藏、四川、内蒙古等省、自治区,给流行区居民的身体健康和畜牧业的生产与发展带来巨大危害^[4]。

近几十年来,大量的研究表明细粒棘球蚴线粒体的基因型与线粒体基因遗传标记、宿主范围、生境分布和致病因素等有关^[5],可将细粒棘球蚴分为 *E. granulosus sensu stricto* (s. s.)、*E. equinus*、*E. ortleppi*、*E. canadensis* 和 *E. felidis* 5 个株^[6],8 个基因型^[7-8]。G2 不再单独列为一个基因型,但属于 G3 基因型^[9],同时,G9 也不在列为一个单独的基因型,可能是属于 G7 的突变基因型^[6]。我国西部面积广阔,宿主、分布、流行特点及生境各不相同,因此对细粒棘球蚴基因型的研究对其防治具有非常重要的意义。由于线粒体 NADH 脱氢酶 2(*nad2*)基因进化速度进化快,保守性较高,一般应用于人畜共患寄生虫病进化分类的遗传学标志基因^[10-11]。虽然关于细粒棘球蚴线粒体 *nad2* 的报道较多,但大部分研究扩增的目的片段较短,序列片段不完整,所含信息量较少^[12-13],不能准确反映 *nad2* 基因序列的遗传特性,而本研究基于

GenBank 发表的细粒棘球蚴线粒体全长序列^[14],在 *nad2* 完整序列的两端设计引物,扩增 *nad2* 基因的完整序列,用于研究甘南州的细粒棘球蚴遗传多样性研究。

关于甘肃省甘南州细粒棘球蚴基因型分类和相关研究较少,所以本研究基于线粒体 *nad2* 基因分析甘南州家畜细粒棘球蚴的基因多态性及群体遗传多样性,并分析其基因类型、扩张趋势,为甘南州细粒棘球蚴的传播动力学,地理分布特征、系统发育及流行病学调查和预防控制提供科学依据。

材料与方法

1 材料

1.1 样品来源调查 2019-2022 年甘肃省甘南州玛曲县及碌曲县屠宰场牛羊感染的肝脏和肺脏,将有疑似包囊的组织保存在 75% 酒精中带回实验室。

1.2 主要试剂 DNA 提取试剂盒、DAN 标志物和 PCR 扩增试剂盒均购自天根生化科技(北京)有限公司,核酸染料购自北京鼎国昌盛生物科技有限公司。

2 方法

2.1 PCR 扩增 根据上述 DNA 提取试剂盒说明书,提取疑似包囊基因组 DNA。参照文献[14]设计细粒棘球绦虫线粒体环 *nad2* 序列(GenBank 登录号:

AF297617) 引物, Egnad2-F: 5'-GCAGTGGCATTGGGTAAATT-3', Egnad2-R: 5'-CATCATTGAGA CGCAAACCTCA-3'。扩增引物由安徽(滁州)通用生物有限公司合成。PCR 扩增体系 50 μL: PCR 预混液 Mix 25 μL, DNA 模板 2 μL, 10 μL mol/L 上、下游引物各 1 μL, 双蒸水 21 μL, PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 3 min, 94 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 个循环。同时使用细粒棘球蚴原头节提取的 DNA 为阳性对照, 以蒸馏水作为空白对照, PCR 扩增产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测, 将扩增产物送至安徽(滁州)通用生物有限公司进行测序。

2.2 序列分析和扩增产物 多态性分析 PCR 产物经测序剪接后上传至 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast> 进行比对, 并下载来自不同地区的细粒棘球绦虫 nad2 基因全长序列。根据参考文献, 使用 Megal1 软件采用邻接法(neighbor-joining)构建系统进化树, 选择(Kimura 2-parameter)模式, 进行重复 1 000 次的自举检验^[15]。

2.3 Nad2 基因遗传分析 使用 DnaSPv5 分析不同来源地 nad2 基因的单倍型、基因和核酸多样性, 再使用 PopArt 1.7 软件分析不同来源地细粒棘球绦虫 nad2 基因的全序列基因型网络图^[16], 最后使用 Arlequin 3.5.2.2 对 nad2 基因进行田岛(Tajima's D)和中性(Fu's F)检验, 并对各个种群间配对固定指数(Pairwise fixation index, F_{ST})进行分析^[17]。

2.4 统计学分析 使用 Excel 97-2003 办公软件建立不同来源地细粒棘球绦虫流行病学数据库, 并采用 SPSS 25.0 统计学软件进行统计分析, 分类不同组间感染率差异比较采用卡方(χ^2)检验, 检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2.5 伦理批准 本研究获中国农业科学院上海兽医研究所动物伦理委员会的批准(批准号为: SV20210112-01), 所有实验均严格遵循我国实验动物的相关伦理学标准和规定。

结 果

1 家畜 CE 的感染率

在玛曲县和碌曲县的屠宰场, 共检查了 642 只屠宰的家畜, 经过 PCR 鉴定, CE 感染率为 9.97%(64/642), 绵羊和牛感染率分别为 9.14%(48/525), 13.68%(16/117)(表 1), 通过卡方检验($\chi^2=175.6$, $P<0.01$), 甘南州牛羊之间的感染率差异极显著。玛曲县与碌曲县家畜感染率分别为(11.56%, 46/398), (9.02%, 22/244), 两个县的家畜感染率差异无统计学意义($\chi^2=1.032$, $P>0.05$); 玛曲县与碌曲县绵羊感染率分别为(9.88%, 32/324), (7.96%, 14/201), 两个

县绵羊的感染率差异无统计学意义($\chi^2=0.5484$, $P>0.05$); 玛曲县与碌曲县牛的感染率分别为(13.51%, 10/74), (13.95%, 6/43), 感染率差异无统计学意义($\chi^2=0.004460$, $P>0.05$)。

表 1 甘南地区家畜细粒棘球蚴流行情况
Table 1 Prevalence of CE from livestock from Gannan Prefecture

采样点 Location	数量 No.	阳性感染数 No. positive			感染率 (%) Infection rate	基因型 Genotype	
		Liver	Lung	Total		95% CI	G1 (%)
羊							
玛曲县	324	29	3	32	9.88	6.85-13.66	26(81.25)
碌曲县	201	14	2	16	7.96	4.62-12.61	16(100)
总计 Total	525	43	5	48	9.14	6.82-11.94	42(87.50)
牛							
玛曲县	74	8	2	10	13.51	6.68-23.45	10(100)
碌曲县	43	5	1	6	13.95	5.30-27.93	6(100)
总计 Total	117	13	3	16	13.68	8.02-21.26	16(100)

2 感染的脏器

在所有受感染的家畜中, 只有肝脏和肺脏出现包囊, 其中肝脏是感染最严重的脏器(表 1)。在感染的家畜中, 肝脏和肺脏感染率分别为 90.63%(58/64), 9.38%(6/64), 绵羊肝脏和肺脏感染率分别为 67.19%(43/64), 7.81%(5/64), 牛肝脏和肺脏感染率分别为 20.31%(13/64), 4.69%(3/64)。

3 基因型分析

将分离的 64 份包囊进行 PCR 扩增, 均成功扩增出细粒棘球蚴线粒体 nad2 基因, 条带大小为 882 bp 条带图, 将测序结果与 GenBank 中发表的细粒棘球蚴的序列进行比对, 相似度均达到 99% 以上(表 2)。64 个序列经 DnaSPv6 分析, 共有 12 个单倍型(Hap), 其中 Hap3 是和 Hap4 属于 G3 基因型, 共有 6 个序列(9.37%, 6/64), Hap3 和 Hap4 分别有 1 个和 5 个序列, 其他均为 G1 基因型(90.63%, 58/64)。Hap1 是最主要的单倍型, 共有 32 个序列(50.00%, 32/64), 占比 Hap2 次之, 共有 9 个序列(14.06%, 9/64), 其他单倍型的序列数量均为 1 到 5 序列。

4 系统发生树及基因网络图

系统进化树分析结果显示(图 1), G1 基因型(Hap1-Hap12, 除 Hap3 与 Hap4)均与中国分离株(GenBank 登录号 AF297617)处于同一条分支上, G3 基因型(Hap3-Hap4)与中国四川(GenBank 登录号 KJ559023)分离株也同在一条分支上, Hap1-Hap12 与细粒棘球蚴 G4-G10 基因型及狮棘球绦虫(*E. felidis*)、福氏棘球绦虫(*E. vogeli*)距离较远, 但同处于一个较大的分支。同时, 进化树结果显示 Hap1-

Hap12与其他棘球绦虫如：多房棘球绦虫(*E. multilocularis*)、石渠棘球绦虫(*E. shiquicus*)、羊带绦虫(*Taenia ovis*)，且与上述细粒棘球蚴及狮棘球绦虫(*E. felidis*)、福氏棘球绦虫(*E. vogeli*)距离较远。

表2 甘南州家畜感染细粒棘球蚴线粒体nad2基因单倍型的宿主在两县的分布及与世界其他地区的序列相似度分析
Table 2 Distribution of *E. granulosus* s. s. mitochondrial nad2 gene haplotypes from hosts and two Counties in Gannan Prefecture and analysis of identical sequence in other regions

单倍型 Haplotype	宿主数 Host origin(No.)	地区 Region	序列相似度 Identical sequence
Hap1	羊(24),牛(8)	玛曲县(22),碌曲县(10)	100%: 法国(KY766889),西班牙(MG672148),土耳其(KY766888),突尼斯(MG672165),阿尔及利亚(MG672292),伊朗(MG672244),巴基斯坦(OP006636),印度(KY766891),智利(MG672218),阿根廷(MG672214),巴西(MG672226)等
Hap2	羊(6),牛(3)	玛曲县(5),碌曲县(4)	100%: 中国(AF297617)
Hap3	羊(1)	玛曲县(1)	100%: 中国: 四川(KJ559023)
Hap4	羊(5)	玛曲县(5)	100%: 印度(MG682543),伊朗(MG682539),土耳其(MG682530),西班牙(KY766903),巴基斯坦(OP006641)等
Hap5	羊(3)	玛曲县(1),碌曲县(2)	99.89%: 印度(MG682543),伊朗(MG682537),土耳其(KY766904)等
Hap6	羊(1)	玛曲县(1)	99.66%: 印度(MG682543),土耳其(KY766904)等
Hap7	羊(5)	玛曲县(3),碌曲县(2)	99.89%: 中国(AF297617),99.77%: 阿尔及利亚(MG672290)等
Hap8	羊(2)	玛曲县(2)	99.66%: 中国(AF297617),99.55%: 阿尔及利亚(MG672292)等
Hap9	羊(1)	玛曲县(1)	99.89%: 阿尔及利亚(MG672292),伊朗(MG672244),印度(KY766891)等
Hap10	牛(2)	碌曲县(2)	99.77%: 阿尔及利亚(MG672292),土耳其(KY766888),西班牙(MG672150)等
Hap11	牛(2)	玛曲县(1),碌曲县(1)	99.89%: 阿尔及利亚(MG672292),伊朗(MG672239),突尼斯(MG672156)等
Hap12	羊(1)	碌曲县(1)	99.77%: 印度(MG682543),西班牙(MG682528),巴基斯坦(OP006649)等

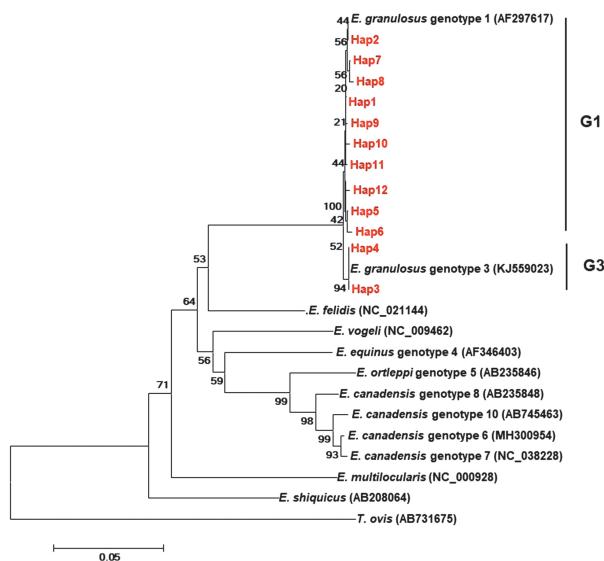


图1 基于线粒体nad2基因序列以邻接法构建的甘肃省甘南州细粒棘球绦虫系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of *E. granulosus* in Gannan Prefecture of Gansu Province constructed by the neighbor-joining method based on mitochondria nad2 sequences

基因网络图结果显示,12个单倍型以Hap1为中心,其他11个单倍型呈散射状分布,表明这11个单倍型与Hap1有非常亲缘的关系,可能属于Hap1突变后的单倍型(图2)。

5 遗传分析

利用nad2单倍型计算甘南州两个县遗传多样性多样性分析,结果显示,单倍型多样性范围为0.7086~0.7706,核苷酸多样性范围为0.00321~0.00452(表3)。这些结果表明,该地区细粒棘球蚴的单倍型多样性较高,而核苷酸多样性相对较低,细粒棘球蚴种群不存在明显的遗传分化。两个县的田岛检验(Tajima's D)均为负值,表明甘南州的细粒棘球蚴种群处于扩张或净化选择的趋势,加之中性检验(Fu's F)的F值均为负值,推测两个县的细粒棘球蚴种群近期处于扩张趋势,存在一些不常见的单倍型,如:Hap5-Hap12与世界其他流行区的序列不完全相同,且序列数量较少,均为1~5个序列。根据玛曲县与碌曲县nad2序列间的F_{ST}值进行遗传分析,结果显示两个县家畜间细粒棘球蚴种群的遗传分化差异不显著($F_{ST}=-0.02133, P>0.05$),同时,牛羊间细粒棘球蚴种群分化差异不显著($F_{ST}=0.02684, P>0.05$)。

表3 甘南州两县家畜细粒棘球蚴线粒体nad2基因片段多样性和中性指数分析
Table 3 Diversity and neutrality indices for different populations of *E. granulosus* s. s.

Location	n	h	Hd	Pi	Tajima's D	Statistical significance	Fu's F	Statistical significance
采样点	样本数	单倍型	单倍型多样性	核苷酸多样性	田岛检验	统计显著性	中性检验	统计显著性
玛曲县	42	11	0.7086	0.00321	-1.61382	0.02500, $P<0.05$	-4.50267	0.00800, $P<0.05$
碌曲县	22	8	0.7706	0.00452	-1.27716	0.08700, $P>0.05$	-2.94887	0.02300, $P<0.05$

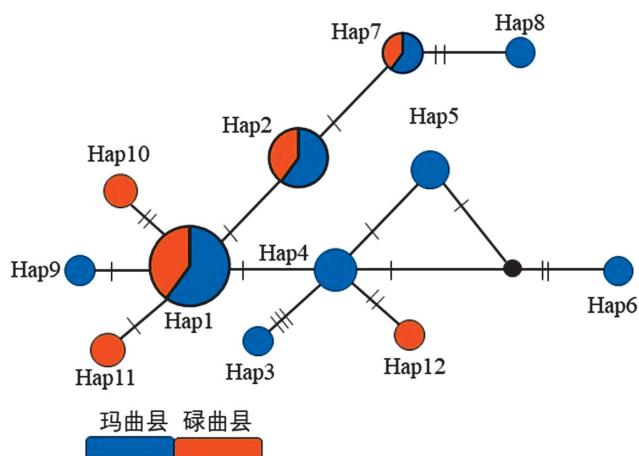


图 2 基于线粒体 *nad2* 基因序列构建的甘肃省甘南州细粒棘球绦虫基因型网络图

Fig. 2 Haplotypes network of *E. granulosus* based on mitochondria *nad2* sequences

讨 论

甘南州绵羊和牛的感染率分别为 9.14%、13.68%，且牛羊之间感染率差异极显著，这些与结果与 Guo 等^[17-18]的结果相类似。由于饲养周期的原因，绵羊一般为冬羔，前一年冬天出生后，第二年屠宰，大多数月龄不到 10 个月，但牛一般都是被宰杀前经过 2 年的饲养^[18]，生长期比绵羊要长一年多，牛羊同一时间感染细粒棘球绦虫虫卵后在牛的体内生长周期较长，加之牛较长的生长周期，感染虫卵的次数较绵羊多，且虫卵有较长的发育成长时间，最终导致牛羊之间感染率差异比较显著^[17]。

细粒棘球蚴 G1 是最常见的基因型，广泛流行于我国西部的牧区，是世界上流行广泛的细粒棘球蚴基因型，在欧洲、非洲、中东、南美洲及南亚均有家畜感染的报道^[9,19]，与本研究中的 Hap1 的序列完全相同，并且与 G1 基因型的其他单倍型，如：Hap2、Hap5、Hap6 及 Hap7 等的序列均达到 99% 以上的相似度。在本次调查中单倍型 Hap5-Hap12 为首次测序发现，且均为 G1 基因型突变的单倍型，表明 G1 基因型有较高的变异率，经过遗传变异产生了甘南州境内特有的单倍型。G3 基因型作为细粒棘球蚴的基因型，我国西部也有报道，与四川的报道序列完全相同 (GenBank 登录号 KJ559023)^[20]，并且 G3 基因型的两个单倍型分别与国外的报道的 G3 基因型序列也完全一致，如：印度 (GenBank 登录号 MG682543)，伊朗 (GenBank 登录号 MG682539)，土耳其 (GenBank 登录号 MG682530)，西班牙 (GenBank 登录号 KY766903)，巴基斯坦 (GenBank 登录号 OP006641)，表明 G3 基因型是仅次于 G1 的主要的细粒棘球蚴基因型^[21]，是引起人和家畜感染的最主要的致病性基因型之一^[22]。这

些遗传变异可能与甘南州特有的地理特征有关，甘南州境内山峦重迭，沟谷纵横，地形错综复杂，形成了一定地理阻隔，在甘南州境内，由于高原季风气候、高海拔，以及宿主多样性诸等因素导致细粒棘球蚴单倍型的遗传多样性^[23]。

本研究结果表明甘南州存在单倍型多样性较高和核苷酸多样性较低的特征，Tajima's D 在所有分析序列中均为负值，表明细粒棘球蚴种群具有扩展和/或纯化的趋势^[8]，这些均与甘南州较高的人群感染率较高相一致。Fu's F 检验是基于单倍型或等位基因的分布，Fu's F 负值表明在甘南州的两个流行县均存在罕见的单倍型，例如 Hap5-Hap12，一种解释为由于近期的甘南州境内种群扩张而产生上述罕见的单倍型^[8]，另一种有可能是由于细粒棘球蚴为专性寄生，其进化与宿主适应性及环境变化相关，甘南州特殊的生境因素导致感染细粒棘球蚴宿主无法与外界的宿主种群进行交流，造成细粒棘球蚴种群之间种群交流隔离，无法引入细粒棘球蚴新的基因流，最终形成一些特有的基因型。

本研究结果发现，甘南州的牛羊感染的细粒棘球蚴表现出较高的遗传多样性，家畜感染的主要还是细粒棘球蚴 G1 基因型，G1 基因型是甘南州乃至世界上其他流行区最主要的单倍型，G3 基因型次之^[22]。甘南州的细粒棘球蚴种群扩展和/或纯化的趋势，存在罕见的单倍型，所以我们应采取综合防治措施，监测家畜特别是牛羊的感染，同时监测终末宿主犬的感染，及时使用杀虫剂，加强流浪犬和无主犬的管理和治疗，并加强公众健康教育。制定新的棘球蚴防控策略，如流行病学调查、疫苗接种和人口 B 超筛查，提高综合控制方案的有效性。最后加强细粒棘球蚴分子生物学研究，监测人群和家畜细粒棘球蚴基因型，以确定基因型的确切来源，提高预防效率。

【参考文献】

- [1] Wen H, Vuitton L, Tuxun T, et al. Echinococcosis: Advances in the 21st Century [J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(2): e00075-18.
- [2] 李亮, 李静, 张传山, 等. 细粒棘球蚴转化生长因子 β II 型受体胞外域基因的克隆、表达及抗血清制备 [J]. 中国病原生物学杂志, 2016, 11(8): 719-722, 741.
- [3] Deplazes P, Rinaldi L, Alvarez Rojas CA, et al. Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis [J]. Adv Parasitol, 2017, 95: 315-493.
- [4] Zhang W, Zhang Z, Wu W, et al. Epidemiology and control of echinococcosis in central Asia, with particular reference to the People's Republic of China [J]. Acta Trop, 2015, 141(Pt B): 235-243.
- [5] Xu J, Song G, Xiong M, et al. Prediction of the potential suitable habitat of *Echinococcus granulosus*, the pathogen of

- echinococcosis, in the Tibetan Plateau under future climate scenarios[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2023, 30(8): 21404-21415.
- [6] Vuitton DA, McManus DP, Rogan MT, et al. International consensus on terminology to be used in the field of echinococcoses [J]. Parasite, 2020, 27: 41.
- [7] Laurim e T, Kinkar L, Moks E, et al. Molecular phylogeny based on six nuclear genes suggests that *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes G6/G7 and G8/G10 can be regarded as two distinct species[J]. Parasitology, 2018, 145(14): 1929-1937.
- [8] Sharma M, Fomda BA, Mazta S, et al. Genetic diversity and population genetic structure analysis of *Echinococcus granulosus* sensu stricto complex based on mitochondrial DNA signature[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e82904.
- [9] Kinkar L, Laurim T, Sharbatkhori M, et al. New mitogenome and nuclear evidence on the phylogeny and taxonomy of the highly zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu stricto [J]. Infect Genet Evol, 2017, 52: 52-58.
- [10] 勿德芳,付永,任宾,等. 青海人源两型棘球绦虫(棘球蚴)遗传多样性及分化时间研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2022, 40(5): 610-615, 621.
- [11] Alvarez Rojas CA, Kronenberg PA, Aitbaev S, et al. Genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus granulosus* sensu lato in Kyrgyzstan: The A2 haplotype of *E. multilocularis* is the predominant variant infecting humans[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2020, 14(5): e0008242.
- [12] Nakao M, Yokoyama N, Sako Y, et al. The complete mitochondrial DNA sequence of the cestode *Echinococcus multilocularis* (Cyclophyllidae: Taeniidae)[J]. Mitochondrion, 2002, 1(6): 497-509.
- [13] Wu C, Zhang W, Ran B, et al. Genetic variation of mitochondrial genes among *Echinococcus multilocularis* isolates collected in western China[J]. Parasit Vectors, 2017, 10(1): 265.
- [14] Le TH, Pearson MS, Blair D, et al. Complete mitochondrial genomes confirm the distinctiveness of the horse-dog and sheep-
- dog strains of *Echinococcus granulosus* [J] Parasitology, 2002, 124(Pt 1): 97-112.
- [15] 魏玉环,胡媛,曹建平. 细粒棘球绦虫基因多态性的研究进展 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2019, 37(4): 481-485.
- [16] Zhao Y, Gesang D, Wan L, et al. *Echinococcus* spp. and genotypes infecting humans in Tibet Autonomous Region of China: a molecular investigation with near-complete/complete mitochondrial sequences[J]. Parasit Vectors, 2022, 15(1): 75.
- [17] Guo B, Zhao L, Zhao L, et al. Survey and Molecular Characterization of *Echinococcus granulosus* sensu stricto from Livestock and Humans in the Altai Region of Xinjiang, China [J]. Pathogens, 2023, 12(1): 134.
- [18] Meng Q, Wang G, Qiao J, et al. Prevalence of hydatid cysts in livestock animals in Xinjiang, China [J]. Korean J Parasitol, 2014, 52(3): 331-334.
- [19] Kinkar L, Laurim e T, Acosta-Jamett G, et al. Global phylogeography and genetic diversity of the zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu stricto genotype G1[J]. Int J Parasitol, 2018, 48(9): 729-742.
- [20] Wang N, Xie Y, Liu T, et al. The complete mitochondrial genome of G3 genotype of *Echinococcus granulosus* (Cestoda: Taeniidae)[J]. Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal, 2016, 27(3): 1701-1702.
- [21] Alvi MA, Ohiole JA, Saqib M, et al. *Echinococcus granulosus* (sensu stricto) (G1, G3) and *E. ortleppi* (G5) in Pakistan: phylogeny, genetic diversity and population structural analysis based on mitochondrial DNA[J]. Parasit Vectors, 2020, 13(1): 347.
- [22] Hua RQ, Du XD, He X, et al. Genetic diversity of *Echinococcus granulosus* sensu lato in China: Epidemiological studies and systematic review[J]. Transbound Emerg Dis, 2022, 69 (5): e1382-e1392.
- [23] 安婧,张晓曙,梁雪枫,等. 甘肃省2004-2018年甲型肝炎时空聚集性分析[J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(8): 1319-1323.

【收稿日期】 2024-03-23 【修回日期】 2024-06-20

(上接 1013 页)

- [11] Lv L, Huang B, Zhao Q, et al. Identification of an interaction between calcium-dependent protein kinase 4 (EtCDPK4) and serine protease inhibitor (EtSerpin) in *Eimeria tenella* [J]. Parasit Vectors, 2018, 11(1): 259.
- [12] 张念章. 弓形虫CDPKs核酸疫苗及重组亚单位疫苗的免疫保护性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [13] Shortt E, Hackett CG, Stadler RV, et al. CDPK2A and CDPK1 form a signaling module upstream of *Toxoplasma* motility [J]. mBio, 2023, 14(5): e0135823.
- [14] 张冀东,王志晗,刘博. 深度学习在生物序列分析领域的应用进展[J]. 北京工业大学学报, 2022, 48(8): 878-887.
- [15] 张晓磊,赵利娜,郭坦达,等. 刚地弓形虫P30基因的克隆及编码蛋白结构与抗原表位的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志,

- 志, 2023, 18(4): 411-415, 420.
- [16] 马航斌,张晶,王婧惠,等. 刚地弓形虫棒状体顶端表面蛋白2结构和功能的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2023, 18 (10): 1152-1157.
- [17] 张越,尹维文,赵旭,等. 刚地弓形虫钙依赖性蛋白激酶2B的生物信息学分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(10): 1096-1102, 1108.
- [18] Huang SY, Chen K, Wang JL, et al. Evaluation of protective immunity induced by recombinant calcium-dependent protein kinase 1 (TgCDPK1) protein against acute toxoplasmosis in mice [J]. Microb Pathog, 2019, 133, 103560.

【收稿日期】 2024-04-05 【修回日期】 2024-06-12