

蒙古色楞格省森林地区蜱自然感染嗜吞噬细胞无形体现况

Javkhlan G^a, Enkhtaivan B^a, Baigal B^b, Myagmarsuren P^a, Battur B^a和Battsetseg B^a

通讯作者: Battsetseg Badgar (e-mail: bata07@gmail.com)。

嗜吞噬细胞无形体 (*Anaplasma phagocytophilum*) 是具有公共卫生意义的人兽共患病原体, 可感染人和动物。本研究在蒙古色楞格省一个蜱分布广泛且蜱传疾病呈地方性流行的森林地区开展嗜吞噬细胞无形体感染情况调查。采集蜱的标本并用聚合酶链反应 (PCR) 进行特定的 *groEL* 基因检测。在 14 份 (6%) 全沟硬蜱 (*Ixodes persulcatus*) 以及 4 份 (1%) 草原革蜱 (*Dermacentor nuttalli*) 中检测到嗜吞噬细胞无形体; 而在 1% 的全沟硬蜱和 10% 的草原革蜱中检测到扁平无形体 (*Anaplasma platys*)。系统树分析表明, 当地的嗜吞噬细胞无形体与俄罗斯族群最为相近, 这可能与地理位置相似有关。这一发现对兽医和公共卫生官员均很重要, 因为该病原体能导致动物和人类发病。

嗜吞噬细胞无形体 (*Anaplasma phagocytophilum*) 是一种革兰氏阴性、专性细胞内生长的细菌, 很早以前就被认为是一种动物病原体^[1], 最近发现其也可以感染人类。人粒细胞无形体病 (Human granulocytic anaplasmosis, HGA) 于 1994 年首先报告于美国^[2], 自那以后嗜吞噬细胞无形体被认为是有公共卫生意义的新发传染病病原体^[3]。HGA 的特点是: 头痛、畏寒、肌痛、关节痛、全身乏力, 以及血象异常, 如血小板减少、白细胞减少、转氨酶升高^[4]。嗜吞噬细胞无形体通过蜱-啮齿动物循环维持自然传播, 人作为终末宿主 (dead-end hosts) 偶然感染发病^[5]。

在蒙古地方性流行区, 牲畜是嗜吞噬细胞无形体的重要宿主。中亚地区首次对人感染嗜吞噬细胞无形体的血清流行率调查结果显示, 色楞格省为 2.3%, 布尔干省为 5.6%, 东戈壁省 2.8%, 中央省和乌兰巴托均为 3.0%^[6]。

本研究的目的是调查蒙古色楞格省森林地区蜱媒嗜吞噬细胞无形体的感染现况。

方法

在蒙古色楞格省与俄罗斯接壤的阿勒坦布拉格和库德 2 个地区采集未进食的蜱。选择这些地区作为研究对象, 是因为它们有森林地区且蜱分布广泛。对蜱进行种属鉴定, 使用前活蜱在 4°C 条件下保藏。蜱标本 (3-5 只蜱) 用液氮冻存和捣碎, 然后使用 G-spin 基因

组 DNA 提取试剂盒 (韩国 iNtron 生物技术公司) 提取 DNA。

开展聚合酶链反应 (PCR), 采用 *groEL* PCR 限制性片段长度多态性检测并测序分析^[7]。引物设计针对编码嗜吞噬细胞无形体热休克蛋白的部分 *groEL* 基因, 检测嗜吞噬细胞无形体和扁平无形体分别使用 EphplgroELF (5'-ATGGTATGCAGTTTGATCGC-3') 和 EphplgroELR (5'-TCTACTCTGTCTTTGCGTTC-3'), 预期可以扩增出 625 个碱基对的基因序列。PCR 扩增采用 Maxime PCR PreMix 试剂盒 (韩国 iNtron 生物技术公司)。所有 PCR 产物通过琼脂糖凝胶电泳分离、溴化乙锭染色并在紫外光下显像 (图 1)。

使用相同的 PCR 引物进行 DNA 测序。如果测序结果质量低, 则将扩增子通过 TOPO TA 克隆试剂盒 (加利福尼亚州卡尔斯巴德 Invitrogen 公司) 克隆到质粒载体中, 再使用该试剂盒提供的引物进行测序。在美国国家生物技术信息中心的 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 中进行核苷酸序列的初步检索, 与其它已知核苷酸序列进行比对。多重比对分析和系统树分析则使用 ClustalW 在线服务 (<http://www.genome.jp/tools/clustalw/>), 相关参数采用系统默认值。

结果

共采集了 242 只未进食的蜱, 包括 222 只成年全沟硬蜱和 20 只成年草原革蜱, 对每一只蜱都进行了逐一检

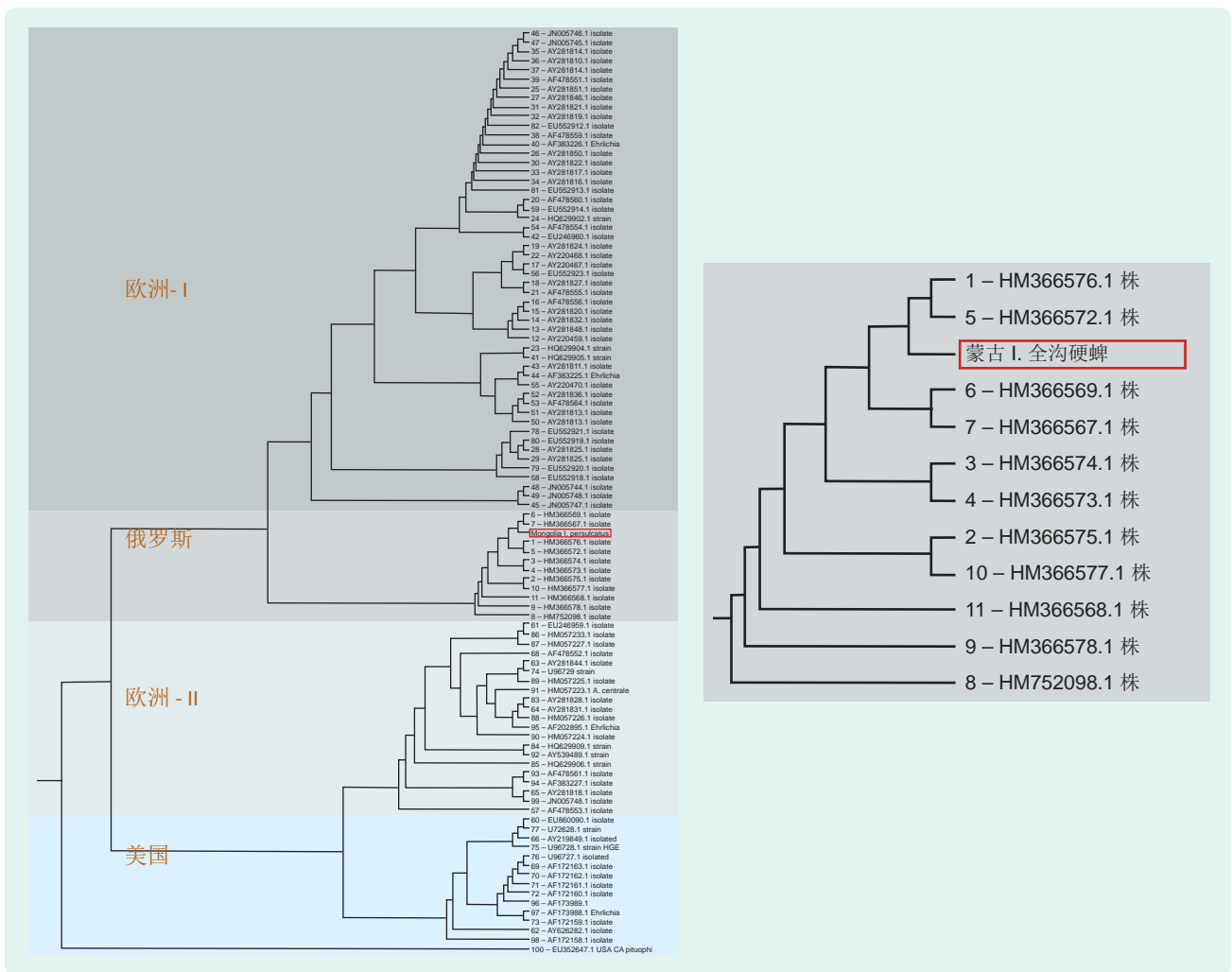
^a 蒙古国立农业大学兽医研究所分子遗传学实验室, 蒙古乌兰巴托。

^b 国家人兽共患病中心病毒实验室, 蒙古乌兰巴托。

投稿日期: 2013 年 7 月 26 日; 发表日期: 2014 年 3 月 5 日

doi: 10.5365/wpsar.2013.4.3.001

图1. 嗜吞噬细胞无形体groEL基因系统树



查。其中，14只(6.3%)全沟硬蜚和4只(20%)草原革蜚嗜吞噬细胞无形体阳性；4只(1.8%)全沟硬蜚和2只(10%)草原革蜚扁平无形体阳性(表1)。

系统树分析显示有4个簇群：欧洲-I、俄罗斯、欧洲-II和美国。本次调查获得的嗜吞噬细胞无形体的groEL基因序列属于俄罗斯簇群，与俄罗斯新西伯利亚(GenBank: HM366567.1)和斯维尔德洛夫斯克州(GenBank: HM366569.1)的全沟硬蜚中检测到的嗜吞噬细胞无形体最为相近，而与欧洲-I、欧洲-II和美国簇群的遗传学特性则有明显不同(图1)。

讨论

世界各地已经发现了不同种类能感染嗜吞噬细胞无形体的蜚。本研究在蒙古色楞格省森林地区的蜚中发现了嗜吞噬细胞无形体和扁平无形体。全沟硬蜚的嗜吞噬细胞无形体的流行率为6.3%，与中国内蒙古自治区和黑龙江省先前报告的4.6%相近[8]。雌性全沟硬蜚感

染率高于雄性。全沟硬蜚的扁平无形体感染率为1.8%。对于草原革蜚，嗜吞噬细胞无形体的感染率为20%，扁平无形体感染率为10%。结果提示，这些蜚种可能在嗜吞噬细胞无形体和扁平无形体从蜚传染给人中发挥重要作用。

系统树分析表明本次发现的无形体属于俄罗斯簇群，与从俄罗斯相同蜚种样本分离的无形体最为接近，而与从蓖子硬蜚、反刍动物、马和人等分离的无形体遗传学上明显不同。由于色楞格省位于蒙古北部，毗邻俄罗斯，与其有类似的地理地貌，因此这一结果并不奇怪。在亚洲、俄罗斯的乌拉尔山脉、西伯利亚、远东和俄罗斯波罗的海地区，全沟硬蜚是嗜吞噬细胞无形体的媒介[9]。全沟硬蜚分布在蒙古的北部和东北部地区，而草原革蜚则广泛分布在蒙古全境。

据作者所知，本研究是蒙古关于蜚中嗜吞噬细胞无形体和扁平无形体的首次描述，由于这些病原体既能感染动物也能感染人，因此这一结果在兽医和公共

表1. 2013年蒙古色楞格省不同地区、不同性别的蜱种嗜吞噬细胞无形体和扁平无形体检出情况

蜱种类	地区	蜱性别	标本数	嗜吞噬细胞无形体阳性(%)	扁平无形体阳性(%)
草原革蜱 (20只)	阿勒坦布拉格	雌	6	1 (16.7)	—
		雄	4	1 (25.0)	—
	库德	雌	6	1 (16.7)	2 (33.3)
		雄	4	1 (25.0)	—
	小计	雌	12	2 (16.7)	2 (16.7)
雄	8	2 (25.0)	—		
全沟硬蜱 (222只)	阿勒坦布拉格	全部	20	4 (20.0)	2 (10.0)
		雌	23	3 (13.0)	1 (4.4)
	雄	26	2 (7.7)	1 (3.8)	
	库德	雌	88	5 (5.7)	2 (2.3)
		雄	77	4 (5.2)	—
	不详	8	—	—	
	小计	雌	111	8 (7.2)	3 (2.7)
雄	103	6 (5.8)	1 (1.0)		
全部	222	14 (6.3)	4 (1.8)		
合计			242	18 (7.4)	6 (2.5)

卫生界均有重要意义。蒙古已有人感染嗜吞噬细胞无形体的血清学证据^[6]，因此有必要开展从蜱到人具体传播机制的研究，以制定有效的人感染嗜吞噬细胞无形体预防措施。

利益冲突

未申报。

基金

无。

引用本文地址：

Javkhlan G et al. Natural *Anaplasma phagocytophilum* infection in ticks from a forest area of Selenge province, Mongolia. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 2014, 5(1):21–24. doi:10.5365/wpsar.2014.5.1.013

参考文献：

- Dumler JS et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichiaequi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia* *phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary*

- Microbiology*, 2001, 51:2145–2165. doi:10.1099/00207713-51-6-2145 pmid:11760958
- Chen SM et al. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 1994, 32:589–595. pmid:8195363
- Walker DH, Dumler JS. Emergence of the ehrlichioses as human health problems. *Emerging Infectious Diseases*, 1996, 2:18–29. doi:10.3201/eid0201.960102 pmid:8903194
- Bakken JS et al. Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis. *Journal of the American Medical Association*, 1996, 275:199–205. doi:10.1001/jama.1996.03530270039029 pmid:8604172
- Telford SR 3rd et al. Perpetuation of the agent of human granulocytic ehrlichiosis in a deer tick-rodent cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93:6209–6214. doi:10.1073/pnas.93.12.6209 pmid:8650245
- Walder G et al. Serological evidence for tick-borne encephalitis, borreliosis, and human granulocytic anaplasmosis in Mongolia. *International Journal of Medical Microbiology*, 2006, 296 Suppl 40:69–75. doi:10.1016/j.ijmm.2006.01.031 pmid:16524782
- Hancock SI, Breitschwerdt EB, Pitulle C. Differentiation of *Ehrlichia platys* and *E. equi* infections in dogs by using 16S ribosomal DNA-based PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39:4577–4578. doi:10.1128/JCM.39.12.4577-4578.2001 pmid:11724889
- Cao WC et al. Prevalence of *Anaplasma phagocytophila* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes persulcatus* ticks from northeastern China. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2003, 68:547–550. pmid:12812342
- Katargina O et al. Identification of *Anaplasma phagocytophilum* in tick populations in Estonia, the European part of Russia and Belarus. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012, 18:40–46. doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03457.x pmid:21199155