

## · 现场调查 ·

# 三种蜱媒传染病在媒介蜱和鼠类中复合感染的研究

赵秋敏 吴晓明 张泮河 李建民 杨红 魏茂提 张习坦 曹务春

**【摘要】目的** 了解中国部分地区埃立克体病和其他蜱媒传染病病原体的复合感染情况。**方法** 运用聚合酶链反应方法对内蒙古自治区、黑龙江省、北京市的蜱和鼠类标本粒细胞埃立克体、莱姆病螺旋体、斑点热群立克次体的感染进行检测,对福建省的蜱和鼠脾脏标本中查菲埃立克体、斑点热立克次体及莱姆病螺旋体的感染情况进行检测。**结果** 内蒙古采集的全沟硬蜱 408 只,人粒细胞埃立克体感染率 6.8%,莱姆病螺旋体感染率 7.8%,斑点热群立克次体感染率 45.6%,其中粒细胞埃立克体与莱姆病螺旋体复合感染标本 5 份(5/408),粒细胞埃立克体与斑点热群立克次体复合感染标本 1 份(1/408)。黑龙江采集的 46 只全沟硬蜱中人粒细胞埃立克体感染率 6.5%,莱姆病螺旋体感染率 10.8%,斑点热群立克次体感染率 34.8%,其中粒细胞埃立克体与莱姆病螺旋体复合感染标本 1 份(1/46)。北京市采集的蜱类标本 922 只,有 2 只检测到莱姆病螺旋体的 DNA 片段。福建省宁化地区采集的优势蜱种越原血蜱 283 组(659 只)中,查菲埃立克体最小阳性率为 3.8%(25 组阳性),38 份野鼠脾脏的阳性率为 56.4%(21 只阳性),检测出有 2 只(2/659)蜱同时感染了粒细胞埃立克体和斑点热群立克次体,野鼠的脾脏标本中,也发现有一只同时感染了查菲埃立克体和斑点热立克次体。**结论** 人粒细胞埃立克体和莱姆病螺旋体复合感染以及查菲埃立克体和斑点热群立克次体复合感染可能在特定地区发生;其地区的蜱类、鼠类存在着极低的复合感染。

**【关键词】** 蜱媒传染病;复合感染;埃立克体,人粒细胞;埃立克体,查菲

**Study on the coinfection of three tick-borne infectious diseases in China using polymerase chain reaction method** ZHAO Qiu-min, WU Xiao-ming, ZHANG Pan-he, LI Jian-min, YANG Hong, WEI Mao-ti, ZHANG Xi-tan, CAO Wu-chun. Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100071, China  
Corresponding author: CAO Wu-chun

**【Abstract】Objective** To study the existence of Ehrlichiosis, lyme disease and tick-borne spotted fever coinfection in some areas in China. **Methods** Using polymerase chain reaction (PCR), *B. burgdorferi* sensu lato, spotted fever group (SFG) *Rickettsiae* and human granulocytic ehrlichia (HGE), *Ehrlichia chaffeensis* (EC) were detected in ticks and mouse samples collected from Inner Mongolia autonomous region, Heilongjiang province, Beijing and Fujian province. **Results** 408 *Ixodes persulcatus* collected from Inner Mongolia autonomous region, HGE and *B. burgdorferi* sensu lato and SFG *Rickettsiae* were detected positive, with rates as 6.8%, 7.8%, 45.6%, respectively. 5(5/408) were coinfection with HGE and *B. burgdorferi* sensu lato while 1(1/408) was coinfection with HGE and SFG *Rickettsiae*. 46 *Ixodes persulcatus* collected from Heilongjiang province were determined positive, with rates as 6.5%, 10.8% and 34.8%, respectively including 1(1/46) coinfecting with HGE and *B. burgdorferi* sensu lato. 2 of 922 ticks collected from Beijing were detected positive with *B. burgdorferi* sensu lato. Among 283 groups of *Haemaphysalis yeni* ticks(3/group) and from 38 rodent samples collected from Ninghua county of Fujian province HGE and *B. burgdorferi* sensu lato and SFG *Rickettsiae* were detected. Out of them, 25 groups were positive with EC and the minimal positive rate was 3.8% while 21 rodent samples were positive with EC with a positive rate of 56.4%. 2 ticks and 1 rodent sample were detected positive with EC and spotted fever group. **Conclusion** Coinfection of HGE and *B. burgdorferi* sensu lato or spotted fever group Richi did exist in *Ixodes persulcatus* collected from Inner Mongolia autonomous region and Heilongjiang province. Coinfection of EC and spotted fever group Richi was found in the ticks and rodents collected from Fujian province.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970655)

作者单位:100071 北京,军事医学科学院微生物流行病学研究所

通讯作者:曹务春

**【Key words】** Tick-borne disease; Coinfection; Human granulocytic ehrlichia; Ehrlichia chaffeensis

近年来一系列新的蜱媒传染病相继出现,对人类的生存构成威胁。肩突硬蜱(*Ixodes scapularis*)可能是人粒细胞埃立克体(HGE)的传播媒介<sup>[1,2]</sup>。而这种蜱也是莱姆病和巴贝西亚虫病的主要传播媒介<sup>[3-5]</sup>。在美国东北部地区,白足鼠是伯氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*)和巴贝西亚虫的主要贮存宿主<sup>[6]</sup>,而在小哺乳动物包括白足鼠中也检测到了HGE病原体<sup>[2,6-8]</sup>。对许多地区人群的血清流行病学调查也显示存在多种蜱媒病的抗体<sup>[9-11]</sup>。因此可以预料到人埃立克体病和其他蜱媒病的病原体会复合感染人。人同时感染一种以上的蜱传播病原体很少,目前仅有三种双重感染被报道过<sup>[12-14]</sup>。本文就我国部分北方和南方地区人埃立克体病和其他蜱媒病复合感染的情况进行了研究。

## 材料与方 法

### 1. 标本来源:

(1) 蜱标本:北方的蜱标本为 1997 年 5-10 月用布旗法在黑龙江省林区采集的游离蜱共 1000 只(本研究取 46 只全沟硬蜱),将蜱放入通气的昆虫瓶中保存,带回实验室分类鉴定。也从林区的牛、羊体表以及经常随主人到山林劳动的家犬体表收集宿主蜱。另外,在野外作业的林场工人及其家属收工时,检查他们的身体和衣服上是否有蜱类爬动或侵寄,如发现蜱,当即取下放入保存瓶中。1999 年 5 月从内蒙古自治区(内蒙古)采集的游离全沟硬蜱标本系大兴安岭内蒙古牙克石中心林管局莫尔道嘎林业局和乌尔旗汗林业局采集约 2000 只蜱(本研究取 408 只蜱),主要是以布旗法在针阔混交林,林间和灌木丛间小路两侧的植被上采集的游离蜱;也有少量从正在野外作业的林场工人的体表,以及采蜱人员的体表采集的游离蜱。从 2000 年 4-10 月对北京市的部分林区(延庆县的松山森林公园,房山区的十渡,怀柔县的青龙峡、汤河口,密云县的黑龙潭、东灵山等地)进行蜱类和鼠类的现场调查,采集的蜱标本 1622 只(本研究取 922 只蜱)。

南方的蜱标本为 1997-1998 年在蜱类活动高峰期(4-5 月)按常规方法从武夷山及福建省宁化县林区草丛采集的游离蜱及从家畜和野生动物宿主(山鹿、野猪、野兔、狗、牛、狐狸等)体表捉到的寄生蜱,共计 797 只(本研究取 659 只越原血蜱分成 283

组),冷冻、干燥或于 70% 的酒精中保存,经鉴定,按种类和宿主分组。

(2) 动物标本:1997-1998 年间在福建省宁化县林区用电子捕鼠器或鼠笼捕获野鼠,消毒后,无菌取脾脏和心血,冻存。野猪、野兔、狐狸是当地猎人击毙的,消毒后,无菌取心血,冻存;合计有 38 只。1999 年一部分为在内蒙古现场采集的鼠标本,限于季节和时间等条件,只在森林里捕捉到 8 只动物。2000 年在北京林区捕获的 206 只野鼠,其中东灵山有 119 只。

### 2. 标本处理及制备模板:

(1) 蜱标本中提取 DNA 模板:应用美国 Genaco 公司 DNA 提取液,将洗净的蜱装入研磨管中研碎,每管加入 200~600  $\mu$ l DNA 提取液,煮沸约 2 min 至提取液变混浊;冷却后冰浴 1 min,10 000 r/min 离心 1 min;将上清移至 1.5 ml 离心管中,加入等量异丙醇,混匀后室温放置 15 min 沉淀 DNA;12 000 r/min 离心 1 min,弃上清;加 2 倍体积的 70% 酒精洗涤沉淀,离心后弃上清,自然晾干;加 50  $\mu$ l TE 溶解 DNA,放 -20℃ 冰箱保存,备用。

(2) 动物标本中 DNA 模板的提取:以无菌操作取野鼠脾脏 3 mm×3 mm 小块,用研磨器研碎(冻存的血块融化后,各吸取 100  $\mu$ l 于消毒的离心管中),加蛋白酶 K 消化液 300  $\mu$ l,55℃ 水浴 3 h,用等体积酚:酚:氯仿(1:1)、氯仿:异戊醇(24:1)抽提,两倍体积无水乙醇沉淀,70% 酒精洗涤,沉淀干燥后,加 50  $\mu$ l TE 溶解,-20℃ 贮存备用。

(3) 人血块标本中 DNA 模板的提取:冻存的血块融化后,各吸取 100  $\mu$ l 于消毒的离心管中,加蛋白酶 K 消化液 300  $\mu$ l,55℃ 水浴 3 h,抽提及以后步骤同动物脏器标本处理方法。

### 3. 引物的设计与聚合酶链反应(PCR)扩增:

(1) 引物的设计与合成:所用引物分别从粒细胞埃立克体结构蛋白基因和粒细胞埃立克体 16S rRNA 基因、查菲埃立克体 16S rRNA 基因、伯氏疏螺旋体外膜蛋白 A 基因及斑点热群立克次体 rOmpA 基因构建。参照文献[15-19]合成(表 1)。

(2) PCR 反应体系(30  $\mu$ l):纯水 18  $\mu$ l,10×PCR 缓冲液 3  $\mu$ l,2 mmol dNTP 3  $\mu$ l,Taq DNA 聚合酶(1 U)1  $\mu$ l,上游引物 100 ng 1  $\mu$ l,下游引物 100 ng 1  $\mu$ l,样本模板 3  $\mu$ l。以上样品加好后 1000 r/min 离

心 10 s。

4. PCR 扩增: 以下 PCR 反应参数以引物本身的序列经过 Goldkey 软件分析所确定的参数为依据, 经过对 PCR 反应条件的优化, 获得稳定的反应条件(表 2)。

(1) PCR 扩增条件: 人粒细胞埃立克体结构蛋白 LA6/LA1 引物取上述 DNA 模板 3  $\mu$ l, 10  $\times$  PCR 缓冲液 3  $\mu$ l, 引物浓度为 0.8 mmol/L, dNTPs 100 mmol/L, 总反应体积为 30  $\mu$ l。

(2) 较特殊 PCR 扩增条件: 引物 LA6/LA1: PCR 94 $^{\circ}$ C 预变性 120 s; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 62 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s 扩增 2 个循环; 再依次退火温度 60 $^{\circ}$ C、58 $^{\circ}$ C、56 $^{\circ}$ C 各两个循环, 余不变; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 54 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 28 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。取上述 PCR 产物 10  $\mu$ l, 用 1.4% 的琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察结果。为避免标本污染引起的假阳性反应, DNA 模板的提取、PCR 反应体系的配制和扩增以及产物电泳均在不同的房间进行, 加样移液器分开专用, 每次实验都设立空白对照, 检测中皆应用了阴、阳性对照。

5. 灵敏度和特异性: 见参考文献[20]。

6. 统计学分析: 用 SPSS 10.0 分析软件进行统计学检验。

结 果

1. 蜱类的检测及复合感染: 对内蒙古采集的蜱类标本 408 只、黑龙江省采集的蜱类标本 46 只、北京市采集的蜱类标本 922 只, 用莱姆病螺旋体引物 OA1/OA4 和 SL/OA4, 斑点热立克次体引物 70p/70ln, 埃立克体引物 LA1/LA6, GE9F/GE10R/EHR521 进行 PCR 检测。

检测结果表明, 从内蒙古的莫尔道嘎和乌尔旗汗的蜱中分别查到埃立克体和斑点热群立克次体及莱姆病螺旋体的感染, 检测内蒙古采集的蜱 408 只, HGE 感染率 6.8%, 莱姆病螺旋体感染率 7.8%, 斑点热群立克次体感染率 45.6%, 其中粒细胞埃立克体与莱姆病螺旋体复合感染标本 5 份, HGE 与斑点热群立克次体复合感染标本 1 份。提示该地区蜱至少存在着 HGE 和斑点热群立克次体, 及 HGE 和莱姆病的复合感染。

表1 用于蜱传病原体复合感染调查的引物

引物名称	序 列	长度(bp)	位置(序列位号)
莱姆病			
OA1	5'-AATAGGTCTAATATTAGCCTTAATAGC-3'	27	21~47
OA4	5'-TTATTTTAAAGCGT[G]T[C]TTT-3'	18	805~822
SL	5'-GGAAAAGCTAAAGAG[A]GTTTTAAAA-3'	24	466~489
斑点热			
R. rOmpA190.70p	5'-ATGGCGAATATTTCTCCAAAA-3'	21	70~90
R. rOmpA190.70l	5'-GTTCCGTTAATGGCAGCATCT-3'	21	701~681
查非埃立克体			
HE1	5'-CAATTGCTTATAACCTTTTGTTTATAAAT-3'	29	49~77
HE3	5'-TATAGGTACCGTCATTATCTTCCCTAT-3'	27	438~412
PER2	5'-CTCTACACTAGGAATCCGCTAT-3'	23	635~613
粒细胞埃立克体			
LA6	5'-GAGAGATGCTTATGGTAAGAC-3'	21	2260~2280
LA1	5'-CGTTCAGCCATCATTGTGAC-3'	20	2684~2703
GE9F	5'-AACGGATTATCTTTATAAGCTTGCT-3'	26	49~73
GE10R	5'-TTCCGTTAAGAAGGATCTAATCTCC-3'	25	967~953
EHR521	5'-TGTAGCGGTTTCGGTAAGTTAAAG-3'	24	527~550

表2 用于检测的半巢式 PCR 扩增条件

引物	预变性		变 性		退 火		延 伸		循环次数	延 伸	
	温度( $^{\circ}$ C)	时间(s)		温度( $^{\circ}$ C)	时间(s)						
OA1/OA4*	94	180	94	15	50	15	72	30	40	72	420
SL/OA4*	94	180	94	15	50	15	72	30	40	72	420
70l/70p*	94	180	94	15	54	15	70	30	40	72	420
HE1/PER2	95	300	94	60	56	75	72	70	35	72	420
HE1/HE3	95	300	94	60	56	75	72	70	35	72	420
70l/70p	95	300	94	45	54	45	70	90	40	72	420
GE9F/GE10R	95	300	94	60	52	75	72	70	35	72	420
GE10R/EHR521	94	300	94	60	56	75	72	70	35	72	420

\* 引物采用 PCR 仪为 2400 型; 其余引物扩增采用 PCR 仪为 480 型

从黑龙江省苇河地区的蜱中分别查到埃立克体和蜱传斑点热立克次体莱姆病螺旋体的感染,黑龙江省采集的 46 只全沟硬蜱中 HGE 感染率 6.5%, 莱姆病感染率 10.8%, 斑点热群立克次体感染率 34.8%, 其中 HGE 与莱姆病螺旋体复合感染标本 1 份。提示该地区蜱至少存在着粒细胞埃立克体和莱姆病的复合感染。

而北京地区的 922 只蜱中,只有东灵山采集的 3 只游离全沟硬蜱中有 1 只检测到莱姆病螺旋体的 DNA 片段,57 只全沟硬蜱若蜱或幼蜱(从东灵山捕获的野鼠体表检获)中有 1 只检测阳性,其他蜱标本未检测到莱姆病螺旋体 DNA 片段,埃立克体和蜱传斑点热立克次体全部检测阴性。此次的调查显示北京地区未发现复合感染情况。

对福建省宁化地区采集的蜱类标本 283 组(659 只),用莱姆病螺旋体引物 OA1/OA4 和 SL/OA4,斑点热立克次体引物 70p/70ln,查非埃立克体引物 HE1/HE3/PER2,进行 PCR 检测,查非埃立克体最小阳性率 3.8% (25 组阳性),斑点热群立克次体检测,越原血蜱的最小阳性率 2.4% (16 组阳性),莱姆病螺旋体检测结果为阴性,有 2 只蜱和 1 只野鼠脏器合并有查非埃立克体和斑点热群立克次体的复合感染。提示在该地区蜱及动物中可能至少存在着查非埃立克体和斑点热群立克次体这两种蜱传病原体的复合感染,至于南方地区和北方地区是否存在其他蜱传病原体的复合感染、是否存在二种以上蜱传病原体的复合感染以及在该地区的人群中是否也存在复合感染等,还有待于进一步的调查研究。

2. 鼠类的检测及复合感染情况:在内蒙古的一只大林姬鼠的脏器中检测到查非埃立克体 16S rRNA 的基因片段,由于标本量较小没有检测到复合感染情况。大林姬鼠是当地的优势鼠种,但还不能确定其为动物宿主。在福建省 5 种鼠的血块和/或脾脏标本中检出了查非埃立克体 DNA 片段。共检测鼠脾脏标本 38 份,有 21 份阳性,阳性率为 56.4%。检测这些鼠的血块标本共 31 份,12 份(38.7%)阳性。脾脏和血块均阳性的鼠有 9 只;6 种鼠中社鼠的检出阳性率最高。斑点热群立克次体检测,野鼠脾脏的阳性率为 5.3% (2 只阳性),莱姆病螺旋体检测为阴性,其中 1 只复合感染了查非埃立克体和斑点热群立克次体。6 种鼠中,社鼠的检出阳性率最高,褐家鼠、黄胸鼠和社鼠是福建省宁化县的优势种,本次调查从野鼠和野兔标本中检出查

非埃立克体 DNA,表明调查点鼠类及野兔可能感染查非埃立克体,其作为贮存宿主的可能性值得重视。除野生啮齿动物宿主外,越原血蜱常寄生于牛、山羊、山鹿等大家畜和野生大型动物上,所以其作为贮存宿主的可能性也不能排除。

从北京林区捕获的野鼠的脏器标本 250 份(206 只)检测莱姆病螺旋体、埃立克体和斑点热群立克次体 DNA(方法同蜱类检测),结果从北京市东灵山捕获的 119 只野鼠的脏器标本中,有 9 只检测到莱姆病螺旋体 DNA 片段,阳性率为 7.56%。其中 8 只 *B. garinii* 阳性,1 只 *B. afzelii* 阳性,其他鼠脏器标本未检测到莱姆病螺旋体 DNA 片段;野鼠脏器标本没有检测到埃立克体和斑点热群立克次体的 DNA 片段。

## 讨 论

本次研究是在原来工作的基础上进行的,引物的设计为参考国外文献和分析软件,而且经过序列分析了北方和南方的几只蜱标本的埃立克体的全部序列。通过 16S rRNA 全基因序列(测定序列已在 GenBank 注册,查非埃立克体 GenBank 注册号 AF147752,人粒细胞埃立克体 GenBank 注册号 205140),16S rRNA 基因生物进化高度保守性这一特点,使之被人们称作进化史中活化石。使用巢式 PCR 又进一步提高了检测的灵敏性。斑点热群立克次体和莱姆病螺旋体的检测结果也经序列分析证实,检测的手段是可靠的。

我们的结果提示,在自然界中,两种病原体可由同一种蜱媒传播,而且存在于流行地区的共同的传递链中。这些病原体可能潜在的同时或相继地经蜱咬传播给人或动物。这一研究提供了人复合感染埃立克体病原和其他蜱媒病的可能的初步证据。但我们检测结果复合感染率偏低,分析的原因:①由于蜱媒病是一种自然疫源性疾病,病原体大多以野生啮齿动物为宿主,以某些硬蜱为媒介,而宿主、媒介的数量、活动性都随季节而改变,存在着影响蜱类和鼠类分布、组成、季节消长的相关自然因素,而且病原体只在特定的生境和地区才存在,因而使疾病在人群和动物中的流行具有明显的季节性和地区性。②这批标本的反复冻融,反复使用,也可能影响检测结果。③两种或三种蜱媒病是否有竞争性抑制还有待于进一步研究。④人埃立克体病、莱姆病、斑点热各自病程的发生发展和各自的特点也造成了流行季节

和地区差异,国内对此研究的并不多。目前人为的因素可能影响蜱类和鼠类的生存环境,同时人群也受到蜱类和鼠类的威胁。因此,进行蜱类和鼠类复合感染调查对于媒介控制、鼠害防治和保护旅游人群、林区人群的健康具有重要的流行病学和现实意义。

我们曾对内蒙古的部分有蜱咬史的发热病例进行了复合感染的检测,表明存在着极低的复合感染。上述的结果也表明蜱类和鼠类的复合感染率也是很低的。

对复合感染的诊断除了应结合病例的蜱暴露史、临床表现及实验室检查结果外,还应考虑到病例是否来自或去过流行区,如果这些资料不支持复合感染的诊断,即使有血清学的证据也不足以说明是复合感染,最重要和确切的诊断依据是分离出两种病原体。

我们目前尚未完全证实发现人埃立克体病的病例,因为病原学结果还没得到确切的证实,但很多地区存在传播疾病的潜在蜱种。在东北部林区,有莱姆病和森林脑炎复合感染的血清学依据,同时在该地区的蜱媒中已发现了 HGE 的病原线索;在我国南方一些地区,也发现了查菲埃立克体感染的蜱媒及宿主动物,当地同时已有斑点热立克次体的流行。因此对于一些蜱咬后发热待查的病例,对于有多种蜱媒病流行地区的不明原因发热病例进行诊断时,应考虑到多种蜱媒病复合感染的可能。进行经验性抗菌治疗时,应选用对多种蜱媒病原体敏感的广谱抗生素。

综上所述,对于 HGE 和莱姆病螺旋体复合感染已从蜱媒、宿主动物等多方面得到证实,可以确定这两种病原体的复合感染能在特定地区发生。对于查菲埃立克体和斑点热立克次体的复合感染也有蜱媒和动物的依据,已有患者复合感染的报道,因此也应提起人们的注意,对于有多种蜱媒病流行地区的不明原因发热患者进行诊断时,应考虑应用多种蜱媒病原体敏感的广谱抗生素。

#### 参 考 文 献

- Pancholi P, Kolbert CP, Mitchell PD, et al. *Ixodes dammini* as a potential vector of human granulocytic *ehrlichiosis*. J Infect Dis, 1995, 172:1007-1012.
- Telford III SR, Dawson JE, Katavolos P, et al. Perpetuation of the agent of human granulocytic *ehrlichiosis* in a deer tick-rodent cycle. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93:6209-6214.
- Piesman J, Mather TN, Telford III SR, et al. Concurrent *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* infection in nymphal *Ixodes dammini*. J Clin Microbiol, 1986, 24:446-447.
- Piesman J, Hicks TC, Sinsky RJ, et al. Simultaneous transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* by individual nymphal *Ixodes dammini* ticks. J Clin Microbiol, 1987, 25:2012-2013.
- Spielman A, Wilson ML, Levine JF, et al. Ecology of *Ixodes dammini*-borne human Babesiosis and Lyme disease. Annu Rev Entomol, 1985, 30:439-460.
- Anderson JF, Johnson RC, Magnarelli LA, et al. *Peromyscus leucopus* and *Microtus pennsylvanicus* simultaneously infected with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti*. J Clin Microbiol, 1986, 24:2779-2783.
- Magnarelli LA, Anderson JF, Stafford KC 3rd, et al. Antibodies to multiple tick-borne pathogens of babesiosis, *ehrlichiosis* and Lyme borreliosis in white-footed mice. J Wildl Dis, 1997, 33:466-473.
- Walls JJ, Greig B, Neitzel DF, et al. Natural infection of small mammal species in Minnesota with the agent of human granulocytic *ehrlichiosis*. J Clin Microbiol, 1997, 35:853-855.
- Stafford KC 3rd, Massung RF, Magnarelli LA, et al. Infection with agents of human granulocytic *ehrlichiosis*, Lyme disease and babesiosis in wild white-footed mice (*Peromyscus leucopus*) in Connecticut. J Clin Microbiol, 1999, 37:2887-2892.
- Mitchell PP, Reed KD, Hofkes JM. Immunoserologic evidence of coinfection with *Borrelia burgdorferi*, *Babesia microti*, and human granulocytic *ehrlichia* species in residents of Wisconsin and Minnesota. J Clin Microbiol, 1996, 34:724-727.
- Magnarelli LA, Ijdo JW, Anderson JF, et al. Human exposure to a granulocytic *ehrlichia* and other tick-borne agents in Connecticut. J Clin Microbiol, 1998, 36:2823-2827.
- Nadelman RB, Horowitz HW, Hsieh T-C, et al. Simultaneous human granulocytic *ehrlichiosis* + and Lyme borreliosis. N Engl J Med, 1997, 337:27-30.
- Krause PJ, Telford III SR, Spielman A, et al. Concurrent Lyme disease and babesiosis: evidence for increased severity and duration of illness. JAMA, 1996, 275:1657-1660.
- Sexton DJ, Corey GR, Capenter C, et al. Dual infection with *ehrlichia chaffeensis* and a spotted fever group *Rickettsia*: a case report. Emerg Infect Dis, 1998, 4:311-316.
- 曹务春, 张洋河, 张习坦, 等. PCR 检测蜱中查菲埃立克体 DNA 及其序列分析. 寄生虫与医学昆虫学报, 1999, 6:58-63.
- 赵秋敏, 曹务春, 张习坦, 等. 黑龙江全沟硬蜱中检测出类似人粒细胞埃利希体的病原体 DNA. 中国人兽共患病杂志, 2001, 17:28-30.
- 赵秋敏, 曹务春, 李建民, 等. 粒细胞埃立克体 444-Epank 基因的检测与序列分析. 中华流行病学杂志, 2002, 23:286-288.
- 张洋河, 曹务春, 张习坦, 等. 我国斑点热群立克次体新种检测及其 rOmpA 基因序列分析. 中国公共卫生, 2000, 16:518-520.
- 李建民, 曹务春, 张习坦, 等. 用聚合酶链方法对北京林区莱姆病疫源地及莱姆病病原体基因型的探索性研究. 中华流行病学杂志, 2002, 23:209-212.
- 戴庆华, 曹务春, 张习坦, 等. 半套式 PCR 检测蜱中查菲埃立克体的评价. 解放军预防医学杂志, 2000, 18:221.

(收稿日期:2004-02-02)

(本文编辑:尹廉)