

内蒙古部分边境口岸地区主要蜱类及蜱媒病原检测

郝广福 李宏 孙毅 葛润平 乔国强 李彬 田文智 史纳新 杨晓野

【摘要】 目的 调查内蒙古主要陆地边境口岸地区蜱的种群分布、构成和自然感染病原体情况。方法 采用人工/小时布旗法和宿主上搜法采集蜱标本,PCR法进行病原检测。结果 在被调查的策克、满都拉、满洲里3个口岸地区共采集蜱1313只,隶属于1科4属7种。草原革蜱在3个口岸均有分布,策克口岸获蜱占69.08%、蜱种多(6种)、短小扇头蜱为该口岸的优势种占74.86%。3个口岸地区共检测出5种蜱传疾病病原体,其中贝氏斯柯氏体仅在策克检出;平均感染率依次为莱姆病螺旋体15.08%、人巴贝西原虫3.35%、斑点热群立克次体1.98%、贝氏斯柯氏体1.07%、埃立克体0.99%。蜱感染莱姆病螺旋体阳性率在上述3个口岸地区均较高,分别为13.56%、22.88%、5.00%,且地区间差异有统计学意义;人巴贝西原虫、斑点热群立克次体地区间阳性率差异有统计学意义。结论 莱姆病螺旋体等5种蜱媒病原在策克、满都拉、满洲里口岸地区有不同程度自然感染。

【关键词】 蜱类;病原学检测;种群分布;口岸地区

Detection of tick and tick-borne pathogen in some ports of Inner Mongolia HAO Guang-fu¹, LI Hong, SUN Yi, GE Run-ping, QIAO Guo-qiang, LI Bin, TIAN Wen-zhi, SHI Na-xin, YANG Xiao-ye. ¹Department of Health Quarantine of Bureau of Exit-Entry Inspection and Quarantine in Inner Mongolia, Huhehaote 010020, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the distribution, composition and situation of natural infection pathogen of tick species in the main ports of Inner Mongolia. **Methods** All ticks were collected manually with white cloth, from the grassland and searching for the hosts followed by detection of pathogens, with PCR. **Results** 1313 ticks identified, belonged to 1 family, 4 genres and 7 species in the three surveyed areas, with *Dermacentor nuttallia* distributed in the Ceke, Mandula and Manzhouli bordering ports. 69.08% of the total species were discovered at Port Ceke, with *Rhipicephalus pumilio* as the predominant one, which accounted for 74.86%. 5 kinds of tick-borne disease pathogens were detected from ticks in these three bordering ports while only *Coxiella burnetii* was found at the Port Ceke. In these three ports, the average infection rates of *Lyme disease borrelia*, Human babesia microti, Spotted fever group *Rickettsia*, *Coxiella burnetii*, *Ehrlichiosis* were 15.08%, 3.35%, 1.98%, 1.07%, 0.99% respectively. The positive rate of tick infected with *Borrelia burgdorferi* were 13.56%, 22.88%, 5.00% in the 3 bordering ports, respectively with significant differences. The positive rates of *Babesia microti* and Spotted fever group *Rickettsia* infections were also significantly different among these areas. **Conclusion** The natural infection rates of the above mentioned five kinds of tick-borne pathogens were different in the Ports Ceke, Mandula and Manzhouli.

【Key words】 Tick; Pathogen detection; Species distribution; Border ports

内蒙古地处我国北部,边境线长4300 km。生境植被从东至西依次是草原、荒漠、半荒漠草原、戈壁,得天独厚的自然环境和大量家畜牧养使之成为蜱类的主要孳生地之一,20世纪80年代陆续从蜱体内分离出莱姆病螺旋体、Q热立克次体、斑点热群立克次体等蜱媒病原^[1-3],从而证实蜱传疾病在内蒙古地区的存在。本次调查是根据东北四省(区)口岸蜱

传疾病调查方案,选择部分具有代表性的边境口岸设立蜱传疾病监测点,连续2年开展监测工作,完成了蜱类在3个口岸的本底调查,初步掌握了蜱的种类、密度、病原携带情况,同时对该地区可能存在的新发蜱媒病进行初步研究,从分子流行病学角度探讨这些新发蜱媒传染病存在情况,为建立科学检测与防御措施提供基础资料。

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.04.014

作者单位:010020 呼和浩特,内蒙古出入境检验检疫局卫生检疫处(郝广福、李宏、葛润平、乔国强、李彬、田文智、史纳新);军事医学科学院微生物流行病研究所(孙毅);内蒙古农业大学动物医学院(杨晓野)

材料与方法

1. 标本采集与处理:2006年5月至2007年9月,每月上旬2天,下旬2天,采用人工/小时布旗法

和宿主主体上搜法在内蒙古自治区满洲里、满都拉和策克口岸地区采集蜚类,经分类鉴定后以人工/小时法或寄生率和染蜚指数为指标,计算蜚类种群密度。

2. 蜚携带病原体检测:

(1) 蜚 DNA 样品制备: 蜚类用 70% 的乙醇浸泡后,用无菌水洗涤,风干、冷冻研磨,加入 200 μ l 无菌水、3 μ l RNAase 溶液和 200 μ l 4 mol/L dNTPs,在 0 $^{\circ}$ C 孵育 10 min。然后加入 200 μ l 酚-氯仿-异戊醇(25:24:1),混匀后-30 $^{\circ}$ C 冷冻 3 min,然后 10 000 ~ 12 000 r/min 离心 4 ~ 5min,取上清,调节离子浓度,加入等体积异丙醇。此后以液氮冷冻,用 37 $^{\circ}$ C 解冻后 12 000 r/min 离心 10 min 后弃上清,沉淀以 75% 乙醇洗涤 2 ~ 3 次、风干后用 150 μ l TE(Tris-EDTA, pH 值 7.2)溶解备用。

(2) 应用 PCR 技术对蜚携带病原体的 DNA 序列进行扩增。

(3) 扩增产物的回收、克隆与序列测定: 回收阳性扩增结果的琼脂糖凝胶中的条带,将产物扩增后与质粒载体连接,连接后转化采取氨苄标记的蓝白斑法筛选分离,挑取白色菌落传代培养。接着,采用 PCR 快速鉴定重组质粒,然后培养增菌,采用 ABI100 PRISM377 型测序仪测序。

结 果

1. 蜚种类及种群构成:

(1) 口岸分布: 在被调查的满洲里、满都拉和策克口岸地区共采集蜚 1313 只,隶属于 1 科 4 属 7 种(表 1)。其中,满洲里口岸为 2 种,分别为草原革蜚、嗜群血蜚;满都拉为 3 种,分别为草原革蜚、亚东璃眼蜚、残缘璃眼蜚;策克口岸为 6 种,分别为森林革蜚、草原革蜚、残缘璃眼蜚、亚东璃眼蜚、短小扇头蜚、银盾革蜚;蜚分类名录:硬蜚科(Lxodidae):革蜚属(*Dermacentor*),草原革蜚(*D.nuttallia*,满洲里、满都拉、策克),森林革蜚(*D.silvarum*,策克),银盾革蜚(*D.niveus*,策克);璃眼蜚属(*Hyalomma*):亚东璃眼蜚(*H.asiaticum* Koziolenev, 满都拉、策克),残缘璃眼蜚(*H.detrutum* Schulze, 满都拉、策克);血蜚属(*Haemaphysalis*):嗜群血蜚(*H.comcinna*, 满洲里);扇头蜚属(*Rhipicephalus*):短小扇头蜚(*R.pumilio*,策克)。

(2) 种群构成: 策克口岸获蜚种、数量均较多,占 69.08%(907/1313),策克口岸短小扇头蜚为优势种占 74.86%(679/907),其次是亚东璃眼蜚占 12.57%(114/907);满洲里、满都拉口岸草原革蜚为优势种分别占 99%(99/100)、78.43%(240/306)。

表 1 内蒙古 3 个口岸地区蜚种类分布

口岸	采集蜚只数	草原革蜚	森林革蜚	亚东璃眼蜚	残缘璃眼蜚	银盾革蜚	嗜群血蜚	短小扇头蜚
满洲里	100	99	0	0	0	0	1	0
满都拉	306	240	0	64	2	0	0	0
策克	907	30	3	114	26	55	0	679
合计	1313	369	3	178	28	55	1	679

2. 蜚密度调查:

(1) 人工/小时布旗法: 满洲里口岸进行了 44 人工/小时的调查,共采集蜚 57 只,平均密度为 1.29 只(人工/小时)。满都拉口岸进行了 40 人工/小时的调查,共采集蜚 5 只,平均密度为 0.13 只(人工/小时)。策克口岸进行了 30 人工/小时的调查,共采集蜚 107 只,平均密度为 3.57 只(人工/小时)。

(2) 宿主主体上搜法: 选择固定采集点,选择固定的宿主动物编号定期采集蜚。满洲里口岸选择牧民的 13 匹马,共收集蜚 45 只,平均蜚密度 3.46 只/畜体。用鼠夹捕鼠 76 只,收集幼、若蜚 34 只,幼、若蜚密度为 44.7%。满都拉口岸共获蜚 58 只,平均蜚密度为 5.8 只/畜体。策克口岸选择羊 10 只、骆驼 10 峰、狗 2 只进行蜚密度调查,共获蜚 258 只,其中短小扇头蜚 176 只,亚东璃眼蜚 96 只,平均蜚密度为 25.8 只/畜体。

3. 蜚类携带病原体检测结果: 策克、满都拉、满洲里口岸地区共检测出 5 种蜚传疾病病原体,贝氏斯柯氏体仅在策克检出,平均感染率依次为莱姆病螺旋体(包括伽氏疏螺旋体和艾氏疏螺旋体) 15.08%、人巴贝西原虫(包括微小巴贝西原虫和双芽巴贝西原虫) 3.35%、斑点热群立克次体(包括北亚斑点热群立克次体和黑龙江立克次体) 1.98%、贝氏斯柯氏体 1.07%、埃立克体(包括人单核细胞埃立克体和人吞噬细胞无形体) 0.99%。蜚感染莱姆病螺旋体阳性率在 3 个口岸地区较高,分别为 13.56%、22.88%、5.00%,且地区间差异有统计学意义($\chi^2=24.090, P=0.000$),人巴贝西原虫、斑点热群立克次体地区间阳性率差异也有统计学意义(表 2,表 3)。

表 2 内蒙古 3 个口岸地区蜚自然感染病原体检出情况

口岸	蜚检测只数	莱姆病螺旋体	人巴贝西原虫	斑点热群立克次体	贝氏斯柯氏体	埃立克体
策克	907	123(13.56)	15(1.65)	8(0.88)	14(1.54)	8(0.89)
满都拉	306	70(22.88)	12(3.92)	9(2.94)	0	4(1.31)
满洲里	100	5(5.00)	17(17.00)	9(9.00)	0	1(1.00)
合计	1313	198(15.08)	44(3.35)	26(1.98)	14(1.07)	13(0.99)
χ^2 值		24.090	65.894	32.479	-	0.422
P 值		0.000	0.000	0.000	-	0.810

注:括号外数据为感染病原体的蜚只数,括号内数据为感染病原体阳性率(%)

表3 内蒙古3个口岸地区蜱类携带病原体的检测结果

种类	检测只数	Bg	Ba	HME	HGA	BAB	BAD	CB	Rs	Rhe
策克口岸										
残缘璃眼蜱	26	1(3.85)	1(3.85)	0	2(7.69)	0	0	0	0	0
草原革蜱	30	2(6.67)	0	1(3.33)	0	1(3.33)	5(16.7)	0	0	0
短小扇头蜱	679	87(12.81)	11(1.62)	0	0	5(0.74)	0	14(2.06)	1(0.15)	2(0.29)
森林革蜱	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
亚东璃眼蜱	114	12(10.53)	7(6.14)	1(0.88)	3(2.63)	1(0.88)	1(0.88)	0	1(0.88)	1(0.88)
银盾革蜱	55	1(1.82)	1(1.82)	1(1.82)	0	1(1.82)	1(1.82)	0	0	3(5.45)
满都拉口岸										
残缘璃眼蜱	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
草原革蜱	240	34(14.17)	21(8.75)	0	1(0.42)	2(0.83)	10(4.17)	0	2(0.83)	3(1.25)
亚东璃眼蜱	64	6(9.38)	9(14.06)	3(4.69)	0	0	0	0	4(6.25)	0
满洲里口岸										
草原革蜱	99	3(3.03)	2(2.02)	0	1(1.01)	5(5.05)	12(12.12)	0	9(9.09)	0
嗜群血蜱	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

注: Bg: 伽氏疏螺旋体(*Borrelia garinii*); Ba: 艾氏疏螺旋体(*Borrelia afzelii*); HME: 人单核细胞埃立克体(*Human monocytis ehrlichiosis*); HGA: 人吞噬细胞无形体(*Human granulatus anaplasma*); BAB: 微小巴贝西原虫(*Babesia microti*); BAD: 双芽巴贝西原虫(*B. divergens*); CB: 贝氏斯柯氏体(*Coxiella burnetii*); Rs: 北亚斑点热群立克次体(*R. sibirica*); Rhe: 黑龙江立克次体(*R. heilongjiangensis*)

讨 论

利用人工/小时布旗法调查各口岸的蜱密度都较低,可能于近几年口岸常年干旱,植被生长差,草场退化,野生动物数量下降有关。此外,内蒙古地区实行的禁牧、轮牧和生态移民政策,使得草原上家畜数量减少,也是草原蜱密度指数低的原因。从宿主主体搜蜱法看,各口岸都是4、5月份捕获蜱数量多,蜱密度高。原因是从5月份以后,天气逐渐变暖,牧民要对家畜进行剪毛、药浴除虫,剪毛后家畜体上蜱密度指数明显下降。在以后监测工作中应引起重视。从样本量来看,3个口岸采集数量和种类呈不对称分布,这可能是由于采集时间和生境不统一所致,故尚不能反映被调查地区蜱类的实际情况。

内蒙古地区作为我国重要的林牧业基地之一,不仅拥有较高森林覆盖率,同时也与俄罗斯、蒙古等国接壤,是蜱媒病危害比较严重的地区。森林脑炎、斑点热、蜱传回归热等蜱媒传染病都有报道^[4-6],此外,还有一些新近发现的蜱媒传染病,如莱姆病、埃立克体病和巴贝西原虫病等,它们的危害情况都有报道,伴随物资和人员流动进入我国的可能性很大,因此,本次调查对内蒙古部分口岸地区的蜱类和蜱类感染病原体的情况进行了初步了解,并发现了蜱类自然感染莱姆病螺旋体、Q热、埃立克体和人巴贝西原虫病的情况。尽管除莱姆病外,其余蜱媒病原的感染阳性率很低,但足以证实这些病原的存在。

另外,由于该地区分布有大量的璃眼蜱属的种类,这些种类是传播新疆出血热(克里米亚-刚果出血热)的主要媒介,历史上都曾引起新疆出血热的流行。本次未能对这些病毒的感染情况进行检测,主要原因是对采集的样本保存方法欠妥,送检标本都

是乙醇浸泡标本,无法进行病毒感染情况的检测。

从检测的结果来看,不同蜱种对蜱媒病原的感染携带差异很大,可能与蜱种及其宿主的特异性有关,蜱类对病原体的敏感性存在种属特异性。扇头蜱和革蜱以羊、牛、马为主要宿主动物,主要生活在林缘草地,以大型家畜为寄主动物。而璃眼蜱属则主要分布于荒漠和半荒漠地区,以骆驼、牛、马为寄主,本次调查所获的亚东璃眼蜱和残缘璃眼蜱全部来自以满都拉、策克口岸为代表的荒漠和半荒漠地区;不同的地理生态条件和种属特异性可能是形成这些感染格局的主要原因。然而,自然感染病原体并不意味着这些阳性蜱类就是这些病原体的传播媒介,还需要试验传播、流行病学三间分布一致性等证据。例如,尽管有不少嗜群血蜱自然感染莱姆病螺旋体的实证,但实验研究发现,嗜群血蜱不具备经期传播莱姆病螺旋体的能力,即使它们通过吸血获得莱姆病螺旋体的感染,也会随血餐消化而丢失^[7]。

参 考 文 献

- [1] 张启恩,叶振发,朱羽凡,等. 从内蒙古采集的全沟硬蜱中分离出莱姆病病原体. 中国人兽共患病杂志, 1990, 6(5): 5-6.
- [2] 武成远,刘小元,陈香蕊,等. 从内蒙古中部牧区成蜱体内首次分离Q热立克次体. 中国人兽共患病杂志, 1990, 6(1): 9-10.
- [3] 范明远. 内蒙古蜱传斑点热的发现. 实用预防医学, 2004, 11(6): 1310-1312.
- [4] 敖尔布. 内蒙古人畜共患疾病. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1995: 128-224.
- [5] 曹务春,张习坦,许荣满. 蜱类及蜱媒疾病的公共卫生学意义. 中国公共卫生, 1999, 15(3): 221.
- [6] 刘怡芳, 张颖. Q热、埃立克体病的研究进展. 医学综述, 2008, 14(6): 864-867.
- [7] Sun Y, Xu RM, Guo TY, et al. Ability of *Ixodes persulcatus*, *Haemaphysalis concinna* and *Dermacentor silvarum* to acquire and transmit the Lyme disease spirochete *Borrelia garinii*. Exp Appl Acarol, 2003, 31: 151-160.

(收稿日期: 2008-11-09)

(本文编辑: 尹廉)