

济宁市任城区鼠类自然感染肠螨情况调查

张秋生¹, 赵玉强², 程鹏², 王雪楠^{1*}

1. 济宁医学院附属医院消化内科, 山东 济宁 272029; 2. 山东省医学科学院, 山东省寄生虫病防治研究所, 山东 济宁 272033

摘要: **目的** 研究木材、面粉加工场所鼠类自然感染肠螨情况。**方法** 对捕获鼠类进行粪检螨阳性调查并对结肠组织进行病理分析;提取鼠类结肠组织总DNA,PCR检测粉螨细胞色素氧化酶I亚基因(CO I)。**结果** 调查济宁市任城区木材、面粉加工场所以及社区鼠类孳生场所10处,共捕鼠19只。鉴定鼠体表检出粗脚粉螨、腐酪食螨、粉尘螨、乳果螨和谷跗线螨。解剖结肠做粪检,螨阳性者2例;村镇木材加工、仓库杂货店鼠类肠螨感染率显著高于城市社区($\chi^2=160.27, P<0.01$),显示差异有统计学意义。PCR检测显示在380bp处出现阳性条带,与粪检阳性结果一致。鼠类阳性结肠组织经病理分析与肠螨病的典型特征相吻合。**结论** 调查显示鼠类自然感染肠螨情况与特定的环境有关,粉螨的CO I检测方法有利于肠螨调查。

关键词: 肠螨病;细胞色素氧化酶I亚基因;鼠类;病理

中图分类号: R532.39 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-9727(2014)9-1060-03

Investigation of intestinal acariasis infection in rodents in Rencheng county, Jining city

ZHANG Qiu-sheng¹, ZHAO Yu-qiang², CHENG Peng², WANG Xue-nan¹

1. Department of gastroenterology, The Affiliated Hospital of Jining Medical College, Jining 272013, Shandong, P.R. China;

Corresponding author: WANG Xue-nan, E-mail: wangxn72@163.com

Abstract: Objective To investigate infection status of intestinal acariasis infection in lumber workshops and flour mills.

Methods Fecal from the captured rodents were detected for natural infection of intestinal acariasis and all rodent colon tissue were pathologically examined. Then total RNA was extracted from the rodent colon tissue and cytochrome oxidase (CO I) were detected by using PCR. **Results** After investigation of 10 lumber workshops, flour mills and the community in Rencheng county, *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Dermatophagoides farinae*, *Carpoglyphus lactis* and *T. granarius* were discovered from 19 rodents caught and 2 positives were detected by dissection of the mites. The infection rate in rural area was much higher than that of urban, revealing statistically significant difference ($\chi^2=160.27, P<0.01$). PCR results showed a positive strip at 380bp, which was consistent with the fecal examination. The positive results of pathological verification were in accordance with the typical characteristics of intestinal acariasis. **Conclusion** The survey indicated that the epidemic of intestinal acariasis was related with the special environment, and the detection of mite CO I gene allowed the diagnosis of intestinal acariasis infection.

Key words: Intestinal acariasis; CO I; Rodents; Pathology

肠螨病是螨类经消化道侵入,寄生在宿主肠腔或肠壁所引起的一系列以胃肠道症状为特征的消化系统疾病。螨类在贮藏物中生存能力较强,甚至有部分螨类可随食物进入消化道并在肠腔内存存繁殖,严重者螨虫侵入肠粘膜甚至粘膜下层形成机械损伤。Hinman等早在1934即首先报道了粉螨科中的长食酪螨引起的肠螨病^[1]。由于肠螨病比较少见,在临床上并未引起足够的重视故常误诊为其他消化道疾病,如过敏性肠炎、慢性肠炎、肠阿米巴痢疾等而影响治疗。为研究肠螨病的发生发展规律和肠螨病的流行规律,我们于2013年7月~11月在肠螨病多发的济宁市任城区城郊和城区(社区)进行鼠类自然感染肠螨的调查,结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 调查对象与试剂

1.1.1 调查对象 任城区内肠螨病(或疑似)患者工作及居住地附近孳生的鼠类。

1.1.2 试剂 总DNA提取、凝胶回收试剂盒购自QIAGEN公司, DNA分子量标准2000、Pyrobest DNA Polymerase、dNTP、蛋白酶抑制剂均购自Takara公司,引物由上海生工生物技术有限公司合成。Rotor Gene 3000型PCR仪为美国GE公司出品。

1.2 调查方法

1.2.1 标本采集 汇总2012~2013年入住济宁医学院附属医院的诊断为肠螨病(或疑似)患者,筛选其工作及居住地设置捕鼠地点,共选定任城区内药材加工

基金项目: 山东省科学技术发展计划(No.2012YD18082)

作者简介: 张秋生(1963~),男,硕士,副主任医师,研究方向:消化病临床研究。

***通讯作者:** 王雪楠, E-mail: wangxn72@163.com

场、仓库杂货店以及社区10处,每次100笼(夹)/d,采用鼠笼(夹)食饵诱捕法,下午16:00~18:00左右布置,次日上午8:00收回。回收后快速放入冷藏箱内,并于当日实验室解剖提取结肠组织,置于-80℃冻存。

1.2.2 总DNA提取及RT-PCR 用QIAGEN公司的DNeasy Blood & Tissue Kit试剂盒提取基因组DNA。分别取280mg左右鼠结肠组织,倒入液氮迅速冷却研磨,加180μL Buffer ATL倒入1.5mL的离心管中。加20μL蛋白酶K混匀,56℃放置至组织完全溶解,离心。加入200μL Buffer AL混匀,加入200μL无水乙醇,混匀。混合液逐步移入柱中,10 000r/min,1min,弃废液,更换收集管。加入600μL Buffer AW1,离心10 000r/min,1min,弃废液,加入600μL Buffer AW2,14 000r/min,离心3min。将吸附柱放入新的1.5mL的离心管,直接加入200μL Buffer AE至吸附膜的中间。室温孵育1min,8 000r/min,离心1min,-20℃保存。

1.2.3 目的基因扩增 引物设计:据GenBank粉螨细胞色素氧化酶I亚基因设计一对特异性引物,引物序列为:上游:5'-GTTTTGGGATATCTCTCATAC-3',下游:5'-GAGCAACAACATAATAAGTATC-3'。预期扩增大小370~390bp。反应总体积为50μL:具体为10×Pyrobest Buffer 5μL, Pyrobest DNA Polymerase 0.25μL,基因组DNA 2μL, primer各0.5μL, dNTP 4μL, dH₂O补齐;94℃ 5 min, 94℃ 30 s, 56℃ 2 min, 71℃ 2 min, 30个循环;72℃ 7 min;4℃保存。1.5%琼脂糖凝胶电泳,EB染色,BIO-RAD凝胶成像系统拍照。按琼脂糖凝胶回收试剂盒说明书(Omega公司-美国)回收PCR产物,送北京诺赛生物技术有限公司进行测序。

1.2.4 病理组织学染色(HE法) 将采集的鼠结肠组织进行病理检查,取结肠组织以10%甲醛固定石蜡切片,HE染色后显微镜下观察组织病理变化。

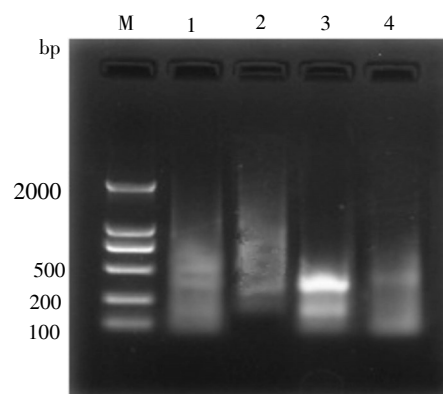
1.3 统计学分析 χ^2 检验比较木材、中药、面粉等加工店与居民社区鼠类肠螨病发病的差异,利用SPSS16.0软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 仓储螨类的调查 选择任城区内城乡结合部木材、中药材、粮食加工场以及居民社区共10处,累计捕鼠19只,其中城区(社区)居民房舍周围8只。鼠体表检出的螨经鉴定有5种,即粗脚粉螨、腐酪食螨、粉尘螨、乳果螨和谷跗线螨。解剖结肠做粪检,螨阳性者2例,检出率为10.53%。

2.2 基因组DNA的提取结果及PCR扩增粉螨COI目的基因 以设计的1组引物进行PCR扩增,电泳结果显示居民社区捕获的8只鼠类均没有发现阳性

结果条带,11只加工厂捕获的鼠类有2只在380bp预计位置发现条带,阳性率为18.19%;村镇木材加工、仓库杂货店鼠类肠螨发生率显著高于城市社区($\chi^2=160.27$, $P<0.01$),显示差异有统计学意义。阳性条带位于380bp处,测序返回结果提示基因片段与预期基因一致。见图1。



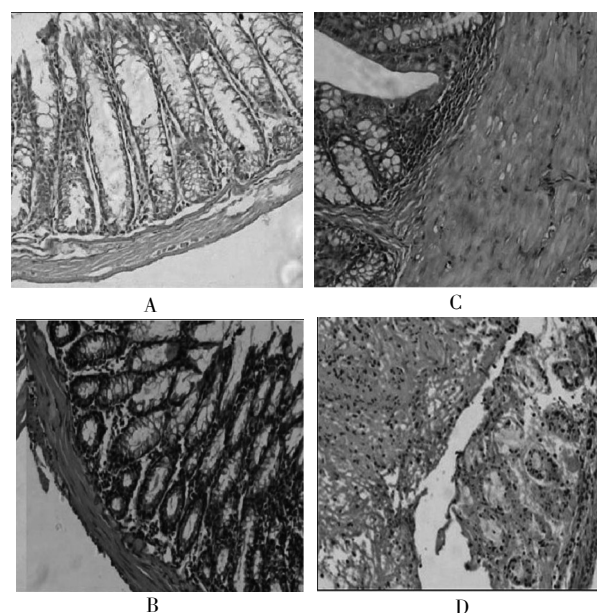
注:M: DNA分子量DL2000。1:空白对照。2与4:阴性结果。3: COI片断的阳性扩增产物。

M: DNA marker DL2000. 1: Blank control. 2 and 4: Negative results. 3: COI genome fragment.

图1 PCR扩增肠螨COI基因结果

Fig.1 PCR amplification of intestinal mite COI gene

2.3 病理组织学结果 鼠类结肠病变部位黏膜呈充血水肿,糜烂、坏死,多发溃疡,肠腔相对狭窄,全结肠较正常有明显增长^[2]。显微镜下观察,炎症改变存在位于粘膜及粘膜下层,主要以慢性炎性细胞、淋巴细胞和单核细胞浸润为主,组织学改变体现为淋巴滤泡增大、增多等慢性结肠炎的病理特征,见图2。



注:A.正常结肠组织(100×) B,C,D.肠螨阳性组(100×)

Note: A. Normal colonic mucosa (100×) B,C,D. Intestinal acariasis positive groups (100×)

图2 鼠类结肠组织病理切片(HE染色)

Fig.2 Conventional staining of rodent colon tissue with HE

3 讨论

由于城郊村镇木材、中药和面粉等加工场多为个体经营,设备简陋,因此环境卫生状况往往较差^[3]。课题组在这些经营场所物体表面取样发现了大量螨类,粉螨等微小生物随渣屑、面粉等播散在各角落;食物的充足和隐蔽的条件诱使鼠类动物觅食和移徙等活动频繁,可能是造成鼠类自然感染肠螨的原因之一^[4]。

当食物中孳生大量螨类,就会随食物进入宿主肠腔,随即生殖或侵入肠粘膜,引起以粘膜下层溃疡为主要病理表现的肠螨病。近年来李朝品等^[4-5]对肠螨病原螨进行了较为系统的研究,尤其表现在螨类生态学、病理学等方面。黄勇等^[6]也探讨生物素-亲和素酶联免疫吸附试验(ABC-ELISA)检测血清中螨特异性抗体IgG,证明ABC-ELISA法是实验室诊断肠螨病的一种有效方法。曲传智报道了6例肠螨病例^[7],反复粪检螨类均为阳性的6例患者,其中有4例从住所的中药材上都检出有螨虫,显示中药材粉螨污染严重,与赵玉强等有关报道^[8-9]相符;同时报道生活食品诸如红糖、腊肉、小米和胡椒面等也有螨虫孳生,提示这些食材亦可能是患者体内粉螨的主要感染源。本研究对现场鼠类自然感染肠螨的调查表明:从鼠类粪便中分离出的5类螨,是人们生活环境中常见的螨种,均在贮藏食物、药材中得到验证存在。该研究结果为进一步用于肠螨病的流行病学调查奠定了基础。

截止目前,有关肠螨病的临床报道病例比较少见,故也未能引起各大医院临床大夫的足够重视。粉螨随食物等进入宿主消化道后,可侵入肠粘膜层。其颚体、足爪和螯肢等会引起肠壁组织的机械性刺激,引起组织损伤。同时,螨的排泄物、代谢产物等会引起肠道的免疫反应,死亡的螨体分解亦可引起变态反

应,导致出现消化系统症状,如腹痛腹泻、肛门刺痛等^[10]。本病因较为少见常误诊为过敏性肠炎、慢性肠炎、阿米巴痢疾等而延误治疗,应提醒广大医务工作者注意。

我们认为临床上确诊肠螨病后不仅仅要积极治疗原发病症,更应该进行粉螨致病源调查并积极采取措施消除螨虫孳生地,最好请有关专业人员指导灭螨,如翻晒家里贮存的粮食和衣被、保持食品卫生等。总之,肠螨病的流行与特定的环境有关,查找和消除粉螨的孳生场所是预防肠螨病的重要方法。

参考文献

- [1] Hinman E, RH Kampmeier. Intestinal acariasis due to *Tyrophilus longior*Gervais [J]. Am J Med,1934, 14:355.
- [2] 徐肇,王月. 虫媒传染病学[M]. 银川:宁夏人民卫生出版社,1990:373.
- [3] 秦茂华,韩琳琳,田营营,等. 济宁市鼠类肺螨病的调查[J]. 中国热带医学,2012,12(9):1074-1076.
- [4] 李朝品,湛孝东,孙恩涛,等. 储藏中药材孳生肉食螨种类及其群落生态研究[J]. 中药学,2013,36(9):1412-1416.
- [5] 李朝品,王克霞,徐广绪,等. 肠螨病的流行病学调查[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,1996,14(1):63.
- [6] 黄勇,李朝品,崔玉宝. ABC-ELISA法诊断肠螨病的研究[J]. 中国人兽共患病杂志,2003,19(3):95-97.
- [7] 曲传智,朱庸代,翟亚红. 胃肠螨病六例报道[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,1997,6(2):135.
- [8] 赵玉强,刘利,程鹏,等. 山东部分地区鼠体外寄生螨种类调查[J]. 中国病原生物学杂志,2012,7(3):205-207.
- [9] 韩玉信,赵玉强. 不同居住和工作环境内螨类孳生情况调查[J]. 中国热带医学,2006,6(4):745.
- [10] 褚欣平,苏川. 人体寄生虫学[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:246.

收稿日期:2014-06-11 编辑:崔宜庆

本刊摘要要求

摘要应具有独立性,便于读者获取必要的信息;应着重反映研究中的创新内容和作者的独到观点;中文摘要应从第三人称角度撰写,不加评论和解释。新术语或尚无合适汉语译名的术语,可使用原文或在译名后加括号注明原文。

论著类文章摘要,按照结构式摘要撰写。内容包括研究“目的(Objective)”、“方法(Methods)”、“结果(Results)”和“结论(Conclusion)”四部分(各要素英文小标题应根据实际情况确定单复数)。字数以400~600字为宜。

综述类文章的摘要,其内容应包括综述的主要目的、资料来源、资料选择、数据提炼、数据综合和结论等。可以写成结构式摘要或报道性摘要。

本刊编辑部