

文章编号: 1674-7054(2023)02-0159-07



# 海南4个地区犬体表蜱种鉴定及其无形体携带情况

周 飒, 林 洋, 祖海月, 王金花

(海南大学 动物科技学院, 海口 570228)

**摘要:** 为研究海南省犬体表蜱虫的种类及其携带无形体的情况, 对4个地区犬蜱进行形态学、分子生物学鉴定及进化分析, 且基于16S *rRNA* 和 *gltA* 基因, 通过PCR检测犬蜱携带无形体的情况。形态学及分子生物学鉴定结果表明, 所有蜱类为血红扇头蜱(*Rhipicephalus sanguineus*), 基于蜱虫线粒体16S rDNA基因的系统发育树表明, 研究中所获得的HN-01和HN-02基因序列处于不同的遗传进化分支, HN-01与已知的来自美国的血红扇头蜱(MH018842)处于同一分支, HN-02与来自泰国(KC170744)的血红扇头蜱处于同一分支, 与我国甘肃省、北京市所获得的血红扇头蜱(JF979377、KC203362)序列亲缘关系较远。基于扁平无形体(*Anaplasma platys*) *gltA* 基因的PCR结果表明, 犬蜱携带有扁平无形体, 其阳性率为1.1%(6/546)。基于16S *rRNA* 基因的PCR检测结果表明, 研究中所获得的犬体表蜱未携带嗜吞噬细胞无形体(*Anaplasma phagocytophilum*)和牛无形体(*Anaplasma bovis*)。

**关键词:** 血红扇头蜱; 犬; 扁平无形体; 分子鉴定

**中图分类号:** S 851      **文献标志码:** A

**引用格式:** 周飒, 林洋, 祖海月, 等. 海南4个地区犬体表蜱种鉴定及其无形体携带情况 [J]. 热带生物学报, 2023, 14(2): 159-165. DOI: 10.15886/j.cnki.rds wxb.2023.02.004

蜱虫是一种专性吸血的体外寄生虫, 它们可以从包括人类在内的哺乳动物、鸟类和爬行动物身上吸血, 从而传播各种疾病, 被认为是仅次于蚊子的重要传播媒介。它们传播的病原体种类很广, 包括病毒、细菌、立克次体、原虫, 甚至某些蠕虫(微丝蚴)<sup>[1-2]</sup>。无形体(*Anaplasma*)是经由蜱媒传播的一种革兰氏阴性菌, 隶属于立克次体目(Rickettsiales)无形体科(Anaplasmataceae), 目前常见的无形体有7种, 分别是嗜吞噬细胞无形体(*Anaplasma phagocytophilum*)、牛无形体(*Anaplasma bovis*)、绵羊无形体(*Anaplasma ovis*)、山羊无形体(*Anaplasma capra*)、扁平无形体(*Anaplasma platys*)、边缘无形体(*Anaplasma marginale*)及中央无形体(*Anaplasma centrale*)。

20世纪90年代初, 在美国首次发现了人粒细胞无形体病的确诊病例<sup>[3]</sup>。2006年在我国安徽省

也出现了该病例, 并发现该病原可通过HGA患者血液或呼吸道分泌物进行传播<sup>[4]</sup>。牛无形体主要分布在非洲、亚洲和南美洲。牛和水牛被认为是牛无形体的主要宿主, 但在我国的犬中也发现了牛无形体的存在<sup>[5]</sup>。扁平无形体主要侵染犬的血小板, 引起犬传染性循环血小板减少症。1978年Harvey和他的同事在美国佛罗里达州的一例犬感染中首次描述了这种疾病<sup>[6]</sup>。有研究表明血红扇头蜱(*Rhipicephalus sanguineus*)是扁平无形体的生物媒介<sup>[7]</sup>。扁平无形体在血蜱和犬中广泛流行, 美国、阿根廷、巴西、格林纳达、智利、海地、意大利、葡萄牙、马来西亚等国家和中国台湾省均有报道<sup>[8-19]</sup>; 在阿尔及利亚的家畜中<sup>[20]</sup>、中国的山羊<sup>[21]</sup>和猫<sup>[22]</sup>中也检测到了扁平无形体; 一些南美和加勒比国家<sup>[23-24]</sup>也有报道人被扁平无形体感染的案例。由此可见, 扁平无形体对包括人类在内的广

收稿日期: 2021-11-19

修回日期: 2022-06-01

基金项目: 海南省重点研发项目(ZDK2021035)

第一作者: 周飒(1997-), 女, 海南大学动物科技学院2019级硕士研究生. E-mail: 1765025683@qq.com

通信作者: 王金花(1979-), 女, 副教授. 研究方向: 热带动物医学媒介寄生虫病. E-mail: 505448533@qq.com

泛宿主物种构成威胁。

无形体病是一种蜱传疾病,主要在热带和亚热带地区流行,不仅会对家畜的健康和生产力造成严重的影响,还会威胁到人类的健康。该病已被世界动物卫生组织(OIE)列为 B 类动物传染病,也被我国农业部列为进出口动物检疫项目之一<sup>[25]</sup>。海南全年暖热,雨量充沛,植被丰富,适合蜱类生长,目前海南省硬蜱有 6 属 20 种,并且是斑点热的疫源地<sup>[26]</sup>。但迄今为止,海南省乃至中国对于犬寄生蜱及其携带的病原报道较少。另外,随着宠物数量的剧增,宠物蜱传人兽共患病的发病率也不断升高,有研究发现,养宠物的人被蜱叮咬的可能性约为不养宠物的人的 1.5 倍<sup>[27]</sup>,因此,探究海南犬寄生蜱种类及其携带扁平无形体的情况,有助于进一步了解海南犬蜱的分类组成,可为动物寄生蜱种类分布及预防蜱传疾病提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 样本来源及其处理** 样本从海南省白沙、乐东、定安、屯昌 4 个地区的犬体表获得,主要使用宿主体表检查法,着重检查犬只易被蜱虫叮咬的部位,如犬耳、颈部、腋窝、胸部、腹股沟、肛周、腿跟等易感染部位,发现蜱虫后,使用镊子夹住蜱虫的头部并将其放入干净的离心管中。共采集犬体表寄生蜱虫 546 只。将采集到的蜱虫用 75% 酒精漂洗 3~5 次,洗去表面杂质,再用灭菌蒸馏水冲洗 3 次后放入 75% 酒精的样本管中保存。

**1.2 试剂及仪器** 主要试剂: 2×*Taq* Plus Master Mix II(Dye Plus) 购自南京诺维赞生物科技股份有限公司; Goldview 染料购自苏州金唯智生物科技

有限公司; 琼脂糖、动物基因组 DNA 提取试剂盒; DNA Marker 购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

主要仪器: PCR 仪(TProfessional)购自德国 Biometra 公司,小型台式高速冷冻离心机(5415R)购自 Eppendorf 公司,体视显微镜购自 Saike Digital 公司,琼脂糖水平电泳仪(Mini-PROTEAN Tetra)购自北京六一仪器厂,凝胶成像分析系统(GEL DOC XR+)购自美国 Bio-Rad 公司。

**1.3 蜱的形态学鉴定** 参照中国畜禽外寄生虫形态分类彩色图谱,用体视显微镜对蜱虫进行初步的形态学鉴定,主要观察蜱虫的假头基、盾板、气门板、生殖孔、肛侧板、肛沟和基节等具有形态学鉴定意义的部位,最终确定蜱虫种类并拍摄相应的图片。

**1.4 DNA 提取** 取出上述经过形态学鉴定的蜱虫,每只放入 1.5 mL 离心管中,再用 ddH<sub>2</sub>O 反复冲洗,去除表面杂质,干燥后将蜱虫磨碎,再参照动物基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取蜱虫 DNA,并于 -20 °C 保存。

**1.5 PCR 检测** 查找蜱种鉴定及无形体检测相关的引物序列送至广州天一辉远基因科技有限公司合成,本研究使用的引物信息见表 1。嗜吞噬细胞无形体和牛无形体使用巢氏 PCR 进行扩增。扁平无形体和牛无形体使用常规 PCR 进行扩增。PCR 反应体系 25 μL: 2×*Taq* PCR Master Mix 12.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 10.5 μL, 上游引物(浓度 10 pmol·μL<sup>-1</sup>) 0.5 μL, 下游引物(浓度 10 pmol·μL<sup>-1</sup>) 0.5 μL, 基因组 DNA (~20 ng) 1 μL。PCR 反应扩增条件见表 2。反应结束后,取 5 μL PCR 产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察是否有目的条带,并拍照保

表 1 引物信息

基因	引物名称	引物序列(5'-3')	片段大小/bp	参考文献
16S <i>rDNA</i>	16SF	CTGCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGTGG	460	[28]
	16SR	CCGGTCTGAACCTCAGATCAAGT		
<i>gltA</i>	<i>gltAF</i>	GACCTACGATCCGGGATTCA	580	[29]
	<i>gltAR</i>	CCGCACGGTCGCTGTT		
16S <i>rRNA</i>	EE1	TCCTGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGC	1433	[30]
	EE2	AGTCACTGACCCAACCTTAAATGGCTG		
16S <i>rRNA</i>	SSAP2F	GCTGAATGTGGGATAATTTAT	641	[31]
	SSAP2R	ATGGCTGCTTCCTTTCGGTTA		
16S <i>rRNA</i>	AB1F	CTCGTAGCTTGCTATGAGAAC	551	[31]
	AB1R	TCTCCCGACTCCAGTCTG		

表 2 PCR 扩增条件

种类	引物名称	扩增条件					
		预变性	变性	退火	延伸	循环/次	再延伸
<i>A. bovis</i>	EE1 EE2	94 ℃	94 ℃	55 ℃	72 ℃	35	72 ℃
		5 min	30 s	30 s	30 s		5 min
	AB1f AB1r	94 ℃	94 ℃	58 ℃	72 ℃	40	72 ℃
		5 min	30 s	30 s	30 s		10 min
<i>A. phagocytophilum</i>	EE1 EE2	94 ℃	94 ℃	55 ℃	72 ℃	35	72 ℃
		5 min	30 s	30 s	30 s		5 min
	SSAP2f SSAP2r	94 ℃	94 ℃	58 ℃	72 ℃	40	72 ℃
		5 min	30 s	30 s	30 s		10 min
<i>A. platys</i>	<i>gltAF gltAR</i>	94 ℃	94 ℃	60 ℃	72 ℃	35	72 ℃
		3 min	1 min	1 min	1 min		5 min
16S <i>rDNA</i>	16SF 16SR	95 ℃	95 ℃	58 ℃	72 ℃	35	72 ℃
		5 min	30 s	30 s	45 s		5 min

存。将所获得的阳性产物送往广州天一辉远基因科技有限公司进行测序。

**1.6 序列分析及系统发育树的构建** 使用 NCBI 中 BLAST 在线比对工具将蜱种鉴定及扁平无形体的测序结果与 GenBank 中已知序列进行比对分析, 利用 DNAMAN 8.0 基因分析软件进行同源分析, 使用 Mega X 软件, 选择 Neighbor-joining (NJ) 算法中的 Kimura-2-parameter 参数模型, Bootstrap 值选择 1 000 进行系统发育进化树的构建。

## 2 结果与分析

**2.1 蜱的形态学鉴定** 经形态学鉴定, 546 只犬寄生蜱均属于扇头蜱属中的血红扇头蜱, 其中雌蜱 265 只, 雄蜱 281 只。蜱虫外部形态观察结果见图 1。

**2.2 蜱的分子生物学鉴定及种系发育分析** 犬寄生蜱的 16S *rDNA* 基因 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳见图 2, 扩增片段为 460 bp, 与预期片段长度一致。通过序列比对之后, 发现本实验中所有

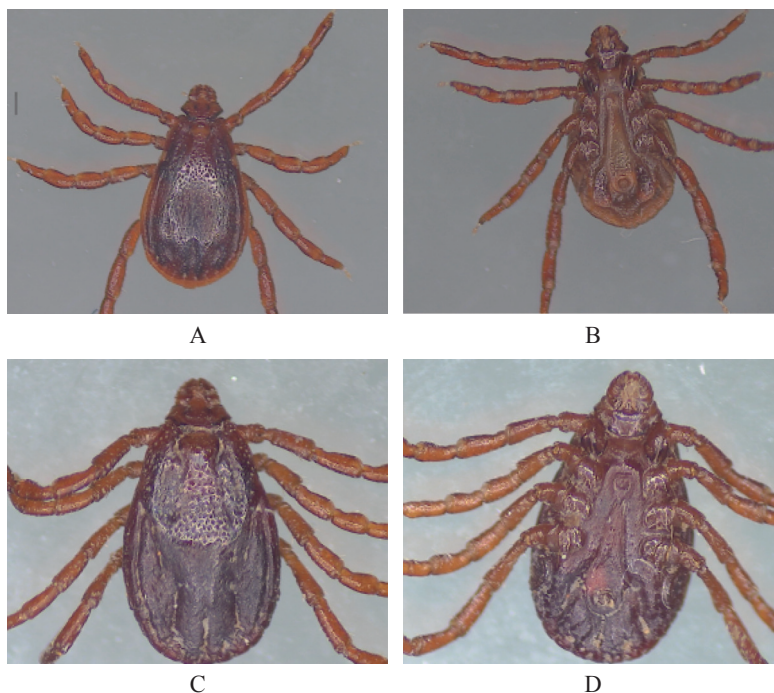


图 1 血红扇头蜱外部形态

A: 背部(雄性); B: 腹部(雄性); C: 背部(雌性); D: 腹部(雌性)。

蜱虫均为血红扇头蜱,与 Genbank 中已有的蜱种参考株 *Rhipicephalus sanguineus*(登录号为 MG651947)的同源性为 100%,与形态学鉴定结果相符。用 MEGA-X 软件选择本实验中获得的代表性血红扇头蜱线粒体 16S *rDNA* 基因序列构建系统发育树(图 3),分析结果表明序列 HN-01 和 HN-02 处于

不同的遗传进化分支,HN-01 与已知的来自美国的血红扇头蜱 (MH018842) 处于同一分支,HN-02 与来自泰国的血红扇头蜱 (KC170744) 处于同一分支,与我国甘肃省、北京市所获得的血红扇头蜱 (JF979377、KC203362) 序列亲缘关系较远。

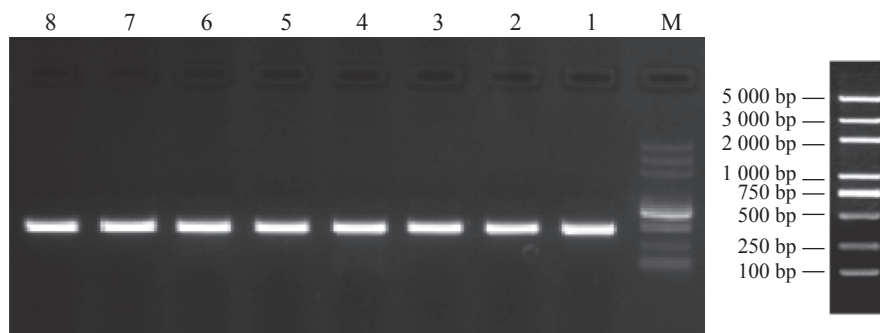


图 2 16S *rDNA* 基因 PCR 扩增结果电泳图  
M: DL5000; 1 ~ 8: 检测样本。

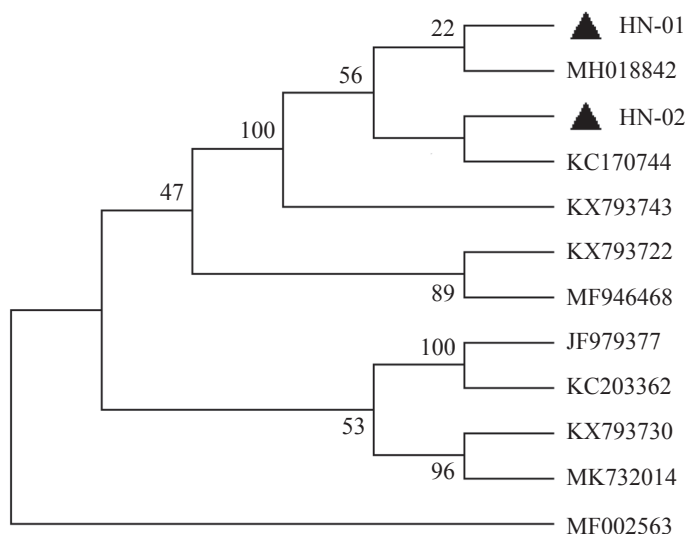


图 3 基于 16S *rDNA* 基因构建的系统发育树

**2.3 犬蜱携带无形体的 PCR 检测结果** 笔者在犬体表蜱中未检测到嗜吞噬细胞无形体和牛无形体,只发现了犬蜱中携带有扁平无形体。犬体表蜱 3 种无形体感染率见表 3。犬蜱携带扁平无形体 *gltA* 基因的 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳见图 4,结果显示扩增产物在 580 bp 处出现目的片段,与预期片段大小相符。扩增序列测序后经

Blast 比对后与 GenBank 上已有的扁平无形体序列同源性为 100%。

**表 3 3 种无形体感染率**

种类	<i>A. pagocytophilum</i>	<i>A. bovis</i>	<i>A. platys</i>
阳性	0	0	6
感染率/%	0	0	1.1

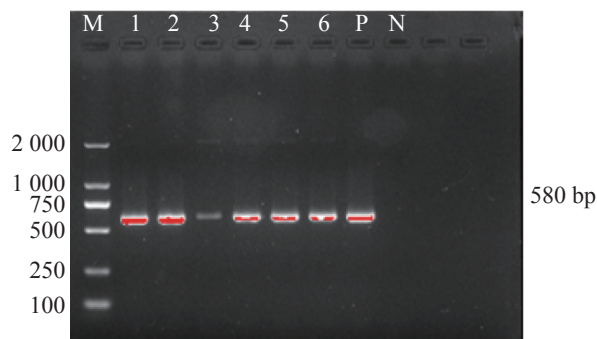


图 4 *gltA* 基因 PCR 扩增结果电泳图  
M: DL2000; 1 ~ 6: 检测样本; P: 阳性对照; N: 阴性对照。

### 3 讨 论

**3.1 犬体表蜱种** 蜱虫是犬只常见的外寄生虫, 研究报道, 有多种蜱类可以寄生在犬的体表, 如血红扇头蜱 (*Rhipicephalus sanguineus*)、长角血蜱 (*Haemaphysalis longicornis*)、微小牛蜱 (*Boophilus microplus*)、草原血蜱 (*Haemaphysalis verticalis*)、图兰扇头蜱 (*Rhipicephalus turanicus*)、铃头血蜱 (*Haemaphysalis campanulata*) 等, 但由于各地地理环境不同, 其优势蜱种也不同。宋胜男等<sup>[32]</sup>在 2021 年通过 PCR 检测的方法鉴定出石河子地区宠物犬体表 436 只图兰扇头蜱 (*Rhipicephalus turanicus*), 它也是新疆地区的优势蜱种。张艳等<sup>[33]</sup>在 2021 年通过 PCR 的方法鉴定出河南犬体表 2 只长角血蜱 (*Haemaphysalis longicornis*), 1 只褐黄血蜱 (*Haemaphysalis flava*)。张俭伟等<sup>[34]</sup>在 2017 年统计了我国中东地区 20 个城市宠物犬体表蜱虫种类, 其中杭州、福州、广州、厦门、深圳、南宁、青岛、太原和长沙地区为血红扇头蜱; 郑州、石家庄、济南和重庆地区为长角血蜱; 上海、北京、天津、西安和宁波地区则均存在血红扇头蜱与长角血蜱。陈绍基等<sup>[35]</sup>在 2020 年通过 PCR 检测出重庆市荣昌区中华田园犬体表有长角血蜱。本研究通过形态学和分子生物学相结合的方法鉴定出犬体表寄生蜱均为血红扇头蜱, 与国内大部分地区犬体表蜱虫鉴定结果一致<sup>[36-38]</sup>。血红扇头蜱对环境适应性强, 广泛分布于世界各地<sup>[39]</sup>, 它也是犬最常见的寄生蜱种。本次调查结果显示蜱种种类分布较为单一, 这也证明了血红扇头蜱是犬的优势蜱种, 这一方面是因为血红扇头蜱本身属于热带物种, 海南岛炎热的气候条件为其提供了良好的生存环境; 另一方面可能是由于采样点的局限性造就了单一蜱种, 因此, 要获得更丰富的犬寄生蜱种类资料, 还需要扩大采样范围及样本数量。

基于蜱虫 16S *rDNA* 基因构建的系统发育树表明, 本试验中所得到的 HN-01 和 HN-02 序列处于同一大的分支上, 但分别聚集在不同的小分支上, HN-01 序列与美国所得到的血红扇头蜱同源性较高, HN-02 序列与泰国的血红扇头蜱同源性较高, 然而 2 个序列与国内甘肃、河北等地的血红扇头蜱亲缘关系较远。这可能是由于海南独特的地理位置造成蜱种地域差异性。

**3.2 犬体表蜱携带无形体** 在国内外, 关于蜱虫

感染无形体的报道有很多。Hosseini 等<sup>[40]</sup>在伊朗不同的地理区域分别鉴定出亚洲璃眼蜱 (*Hyalomma asiaticum*)、单峰驼璃眼蜱 (*H. dromedarii*)、血红扇头蜱 (*Rhipicephalus sanguineus*) 和牛蜱 (*Boophilus*), 并在牛蜱中获得一条边缘无形体序列和在血红扇头蜱中获得 2 条绵羊无形体序列。Qin 等<sup>[41]</sup>调查了我国山东省胶南市长角血蜱中无形体的感染率, 结果发现嗜吞噬细胞无形体、牛无形体和山羊无形体的感染率分别为 0.10%、1.55% 和 0.33%。然而, 在我国集中于犬体表寄生蜱携带无形体的调查研究较少。本试验通过对采集的所有犬体表蜱虫进行无形体 16S *rRNA* 和 *gltA* 基因的 PCR 检测结果发现扁平无形体阳性率为 1.1%(6/546), 未检测到嗜吞噬细胞无形体和牛无形体。2018 年韩宏晓等<sup>[36]</sup>通过 PCR 的方法鉴定出上海地区宠物犬体表的血红扇头蜱, 并对蜱虫携带嗜吞噬细胞无形体的情况进行了调查, 结果也未检测到, 与本试验结果一致。Yuasa<sup>[19]</sup>在 2017 年用 PCR 检测的方法调查了台湾省犬体表寄生血红扇头蜱携带扁平无形体的阳性率为 3.6% (11/306), 这一结果高于本实验调查得到的扁平无形体阳性率。尽管本试验中检测到的犬蜱感染扁平无形体的阳性率较低, 但是这也间接反应了犬只本身感染扁平无形体的情况, 这也需要后续对犬只进行更加深入的调查。

此外, 我国养宠家庭逐年上升, 犬作为一种伴侣动物并且与人类的活动息息相关, 二者均存在被蜱叮咬并感染蜱传疾病的危险。虽然扁平无形体还未被公认为是一种人兽共患病原, 但已有感染人的记录。据报道, 在委内瑞拉的 2 名女性患者中检测到扁平无形体的病原<sup>[23]</sup>。为了避免蜱虫叮咬及感染蜱传疾病的危险, 犬主应加强对犬只的行为约束, 避免带犬只去野外或草地玩耍, 另外也应定期对犬只进行卫生管理, 定期驱虫, 做好防蜱灭蜱工作。

### 4 结 论

本试验对海南部分地区犬体表寄生蜱进行形态学和分子生物学鉴定, 结果全为血红扇头蜱。并通过 PCR 的方法对蜱虫进行了无形体的检测, 结果表明犬体表蜱携带扁平无形体的阳性率为 1.1%(6/546), 没有检测到嗜吞噬细胞无形体和牛无形体。

## 参考文献:

- [1] DE LA FUENTE J, ESTRADA-PENA A, VENZAL J M, et al. Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals [J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 6938 – 6946.
- [2] YU Z, WANG H, WANG T, et al. Tick-borne pathogens and the vector potential of ticks in China [J]. *Parasites Vectors*, 2015, 8: 24.
- [3] CHEN S M, DUMLER J S, BAKKEN J S, et al. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease [J]. *Clin. Microbiol*, 1994, 32: 589 – 595.
- [4] ZHANG L, LIU Y, NI D, et al. Nosocomial transmission of human granulocytic anaplasmosis in China [J]. *JAMA*, 2008, 300(19): 2263 – 2270.
- [5] 曹树轩. 不同宿主动物无浆体感染情况调查及其种系发育分析[D]. 郑州: 河南农业大学, 2016.
- [6] HARVEY J W, SIMPSON C F, GASKIN J M. Cyclic thrombocytopenia induced by a Rickettsia-like agent in dogs [J]. *Infect Dis*, 1978, 137: 182 – 188.
- [7] SNELLGROVE A N, KRAPIUNAYA I, FORD S L, et al. Vector competence of *Rhipicephalus sanguineus sensu stricto* for *Anaplasma platys* [J]. *Ticks Tick Borne Dis*, 2020, 11(6): 101517.
- [8] DINIZ P P, BEALL M J, OMARK K, et al. High prevalence of tick-borne pathogens in dogs from an Indian reservation in northeastern Arizona [J]. *Vector Borne Zoon Dis*, 2010, 10: 117 – 123.
- [9] CICUTTIN G L, TARRAGONA E L, DE SALVO M N, et al. Infection with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in two lineages of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) from Argentina [J]. *Ticks Tick Borne Dis*, 2015, 6(6): 724 – 729.
- [10] EIRAS D F, CRAVIOTTO M B, VEZZANI D, et al. First description of natural *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* infections in dogs from Argentina [J]. *Infect Dis*, 2013, 36: 169 – 173.
- [11] SOARES R, RAMOS C A, PEDROSO T, et al. Molecular survey of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil [J]. *An Acad Bras Cienc*, 2017, 89: 301 – 306.
- [12] WILKERSON M J, BLACK K E, LANZA-PEREA M, et al. Initial development and preliminary evaluation of a multiplex bead assay to detect antibodies to *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, and *Ehrlichia chaffeensis* outer membrane peptides in naturally infected dogs from Grenada, West Indies [J]. *Vet Diagn Invest*, 2017, 29: 109 – 114.
- [13] LANZA-PEREA M, ZIEGER U, QUOROLLO B A, et al. Intraoperative bleeding in dogs from Grenada seroreactive to *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* [J]. *Vet Intern Med*, 2014, 28: 1702 – 1707.
- [14] LOFTIS A D, KELLY P J, FREEMAN M D, et al. Tick-borne pathogens and disease in dogs on St. Kitts, West Indies [J]. *Vet Parasitol*, 2013, 196: 44 – 49.
- [15] STARKEY L A, NEWTON K, BRUNKER J, et al. Prevalence of vector-borne pathogens in dogs from Haiti [J]. *Vet Parasitol*, 2016, 224: 7 – 12.
- [16] RAMOS R A N, LATROFA M S, GIANNELLI A, et al. Detection of *Anaplasma platys* in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* group ticks by a quantitative real-time PCR [J]. *Vet Parasitol*, 2014, 205: 285 – 288.
- [17] CARDOSO L, GILAD M, CORTES H C, et al. First report of *Anaplasma platys* infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) and molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Leishmania infantum* in foxes from Portugal [J]. *Parasit Vectors*, 2015, 8: 144.
- [18] LOW V L, PRAKASH B K, LIM Y A L, et al. Detection of *Anaplasmataceae* agents and co-infection with other tick-borne protozoa in dogs and *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* ticks [J]. *Exp Appl Acarol*, 2018, 75: 429 – 435.
- [19] YUASA Y, TSAI Y L, CHANG C C, et al. The prevalence of *Anaplasma platys* and a potential novel *Anaplasma* species exceed that of *Ehrlichia canis* in asymptomatic dogs and *Rhipicephalus sanguineus* in Taiwan [J]. *J Vet Med Sci*, 2017, 79: 1494 – 1502.
- [20] DAHMANI M, DAVOUST B, BENTERKI M S, et al. Development of a new PCR-based assay to detect *Anaplasmataceae* and the first report of *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma platys* in cattle from Algeria [J]. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2015, 39: 39 – 45.
- [21] WEI W, LI J, WANG Y W, et al. *Anaplasma platys*-like infection in goats, Beijing, China [J]. *Vector-Borne Zoonotic Dis*, 2020, 20: 755 – 762.
- [22] QUOROLLO B A, BALAKRISHNAN N, CANNON C Z, et al. Coinfection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae*, *Bartonella koehlerae* and ‘*Candidatus Mycoplasma haemominutum*’ in a cat diagnosed with splenic plasmacytosis and multiple myeloma [J]. *Feline Med Surg*, 2014, 16: 713 – 720.
- [23] ARRAGA-ALVARADO C M, QUOROLLO B A, PARRA O C, et al. Case report: Molecular evidence of *Anaplasma platys* infection in two women from Venezuela [J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2014, 91(6): 1161 – 1165.
- [24] MAGGI R G, MASCARELLI P E, HAVENGA L N, et al. Coinfection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* and *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* in a veterinarian [J]. *Parasit Vectors*, 2013, 6: 103.
- [25] REINBOLD J B, COETZEE J F, SIRIGIREDDY K R, et al. Detection of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in bovine peripheral blood samples by duplex real-time reverse transcriptase PCR assay [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48(7): 2424 – 2432.
- [26] 孙定炜, 赵伟, 曾林海, 等. 海南省硬蜱种类调查及一新纪录蜱种[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2013, 24(5): 442 – 443.

- [27] TULLOCH J S P. What is the risk of tickborne diseases to UK pets? [J]. *Vet Rec*, 2018, 182(18): 511 – 513.
- [28] 张璘. 新疆北疆地区蜱种分布及蜱源性病原检测方法的建立[D]. 石河子: 石河子大学, 2014.
- [29] SILVA C B D A, SANTOS H A, NAVARRETE M G, et al. Molecular detection and characterization of *Anaplasma platys* in dogs and ticks in Cuba [J]. *Ticks Tick Borne Dis*, 2016, 7: 938 – 944.
- [30] BARLOUGH J, MADIGAN JE, DEROCK E et al. Nested polymerase chain reaction for detection of *Ehrlichia equi* genomic DNA in horses and ticks (*Ixodes pacificus*) [J]. *Vet. Parasitol*, 1996, 63: 319 – 329.
- [31] KAWAHARA M, RIKIHISA Y, LIN Q, et al. Novel genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma bovis*, *Anaplasma centrale*, and a novel *Ehrlichia* sp. in wild deer and ticks on two major islands in Japan [J]. *Applied and environmental microbiology*, 2006, 72(2): 1102 – 1109.
- [32] 宋胜男, 郭嘉, 杨翌承, 等. 石河子地区宠物犬蜱的种类鉴定及其携带布鲁氏菌的检测[J]. *中国畜牧兽医*, 2021, 48(5): 1717 – 1724.
- [33] 张艳, 彭永帅. 河南省部分地区硬蜱种类鉴定及无形体携带情况调查[J]. *现代牧业*, 2021, 5(1): 27 – 34.
- [34] 张俭伟, 刘清彪, 王德谋, 等. 我国中东部地区宠物犬蜱种类及其分布调查[J]. *畜牧与兽医*, 2017, 49(7): 126 – 129.
- [35] 陈绍基, 李芳, 谭纯, 等. 重庆市荣昌区中华田园犬蜱种鉴定及序列分析[J]. *西南大学学报(自然科学版)*, 2021, 43(5): 56 – 61.
- [36] 韩宏晓, 赵秋华, 盛中华, 等. 上海市闵行区宠物犬体表蜱及蜱传病原体初步调查[J]. *中国动物传染病学报*, 2018, 26(2): 85 – 88.
- [37] 修福晓, 孙宁. 辽宁地区犬体蜱虫感染的调查[J]. *山东畜牧兽医*, 2014, 35(4): 56.
- [38] 张维谊, 姚佳玲, 周珂珂, 等. 上海市警犬寄生蜱种鉴定及其携带的原虫及微生物组分析[J]. *中国动物传染病学报*, 2019, 27(6): 48 – 53.
- [39] DANTAS-TORRES F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control [J]. *Vet. Parasitol*, 2008, 152: 173 – 185.
- [40] HOSSEINI-CHEGENI A, TAVAKOLI M, GOUDARZI G, et al. Molecular detection of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma ovis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in Ixodid Tick species in Iran [J]. *Arch Razi Inst*, 2020, 75(1): 39 – 46.
- [41] QIN X R, HAN F J, LUO L M, et al. *Anaplasma* species detected in *Haemaphysalis longicornis* tick from China [J]. *Ticks Tick Borne Dis*, 2018, 9(4): 840 – 843.

## Identification of tick species and investigation of *anaplasma* spp. in some areas of Hainan

ZHOU Sa, LIN Yang, ZU Haiyue, WANG Jinhua

(College of Animal Science and Technology, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

**Abstract:** Ticks are arthropods that transmit more types of pathogens globally than any other vector, and they can transmit a variety of diseases by sucking blood from mammals, birds and reptiles, including humans. *Anaplasma* spp are an important tick-borne pathogens, which have a significant impact on human and animal health and the development of animal husbandry. In order to investigate the species of ticks on canine body surface and the situation of ticks carrying *Anaplasma* spp. in some areas of Hainan province, morphological observation, molecular biological identification and evolutionary analysis were performed on canine ticks from four regions of Hainan province, and 16S *rRNA* and *gltA* genes were used to detect *Anaplasma* spp in canine ticks. Morphological observation and molecular biological identification showed that all the ticks were *Rhipicephalus sanguineus*. The phylogenetic tree established based on tick mitochondrial 16S *rDNA* gene indicated that the HN-01 and HN-02 gene sequences obtained were in different genetic evolutionary clade, and that HN-01 was in the same clade as the known tick from the United States (MH018842). HN-02 was in the same branch as *R. sanguineus* from Thailand (KC170744), and was far related to *R. sanguineus* from Gansu Province (JF979377) and Beijing (KC203362). PCR results based on the *gltA* gene showed that *A. platys* was carried by canine ticks with a positive rate of 1.1% (6/546). PCR detection based on 16S *rRNA* gene indicated that the canine body surface ticks obtained did not carry *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma bovis*.

**Keywords:** dog; *Rhipicephalus sanguineus*; *Anaplasma platys*; molecular identification