

DOI:10.13350/j.cjpb.230913

• 调查研究 •

# 山西长治地区蜱媒病原微生物流行现状分析\*

崔佳<sup>1</sup>, 李瑞晓<sup>2</sup>, 刘益萍<sup>3</sup>, 于娟<sup>1</sup>, 缪玉<sup>2</sup>, 徐爱玲<sup>2</sup>, 栗冬梅<sup>2\*\*</sup>, 饶华祥<sup>1\*\*</sup>

(1. 长治医学院基础医学部微生物学教研室, 山西长治 046000; 2. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所媒介生物控制室, 传染病预防控制国家重点实验室; 3. 长治医学院基础医学部寄生虫学教研室; 4. 长治医学院公共卫生与预防医学系流行病学与卫生统计学教研室)

**【摘要】** 目的 了解山西长治地区蜱媒病原体, 为科学进行媒介生物防控提供理论依据。方法 采集山西省长治市 5 个县(区)的游离蜱、寄生蜱标本, 首先采用形态学与 DNA 条码技术分类鉴定蜱标本, 再采用实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qPCR) 方法检测巴尔通体 (*Bartonella spp*)、伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)、莫氏立克次体 (*Rickettsia mooseri*)、噬吞噬细胞无形体 (*Anaplasma phagocytophilum*)、土拉弗朗西斯菌 (*Francisella tularensis*) 5 种病原体, 另外, 随机挑取了来自不同地区的 12 个样品进行三代纳米孔测序 (Nanopore sequencing) 检测。结果 本研究采集蜱虫标本 523 只, 均为长角血蜱 (*Haemaphysalis longicornis*), 其中游离蜱 109 只, 寄生蜱 414 只, 雌性成蜱 192 只, 雄性成蜱 244 只, 若蜱 87 只。结果显示巴尔通体阳性 5 份, 伯氏疏螺旋体、莫氏立克次体和噬吞噬细胞无形体阳性各 1 份, 未检出土拉弗朗西斯菌。Nanopore 测序结果发现蜱共生微生物主要分布在变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes), 属水平上主要分布在甲基菌属 (*Methylobacterium*), 鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*), 青枯菌属 (*Ralstonia*), 食酸菌属 (*Acidovorax*), 丛毛单胞菌属 (*Comamonas*), 不动杆菌属 (*Acinetobacter*), 假单胞菌属 (*Pseudomonas*), 葡萄球菌属 (*Staphylococcus*), 链球菌属 (*Streptococcus*)。结论 qPCR 方法与第三代测序技术 Nanopore 相结合能全面反应山西长治地区长角血蜱中病原微生物与其他潜在致病微生物的分布, 提示可能存在人类致病风险。

**【关键词】** 长角血蜱; 蜱媒微生物; 荧光定量 PCR; Nanopore; 山西长治

**【中图分类号】** R384.4

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2023)09-1065-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Sep;18(9):1065-1069.]

## Prevalence of tick-borne pathogens in Changzhi of Shanxi Province, China

CUI Jia<sup>1</sup>, LI Ruixiao<sup>2</sup>, LIU Yiping<sup>3</sup>, YU Juan<sup>1</sup>, MIAO Yu<sup>2</sup>, XU Ailing<sup>2</sup>, LI Dongmei<sup>2</sup>, RAO Huaxiang<sup>4</sup>

(1. Department of Microbiology of Basic Medical Sciences, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, Shanxi, China; 2. State Key Laboratory of Infectious Disease Prevention and Control, Department of Vector Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention; 3. Department of Medical parasitology of Basic Medical Sciences, Changzhi Medical College; 4. Department of Epidemiology and Health Statistics of Public Health and Preventive Medicine, Changzhi Medical College)\*\*\*

**【Abstract】** **Objective** To understand the pathogens carried by ticks in Changzhi area of Shanxi Province, and to provide theoretical basis for scientific vector control. **Methods** Samples of free-living ticks and parasitic ticks from 5 counties (districts) in Changzhi of Shanxi Province were collected. The ticks were identified by morphological details and DNA barcoding techniques, and then fluorescence quantitative PCR (qPCR) was used to detect 5 pathogens: *Bartonella*, *Borrelia burgdorferi*, *Rickettsia mooseri*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Francisella tularensis*. Twelve samples from different regions were randomly selected for Nanopore sequencing. **Results** In this study, 523 ticks were identified, all of which were *Haemaphysalis longicornis*, including 109 free-living ticks, 414 parasitic ticks, 192 adult female ticks, 244 adult male ticks, and 87 nymphs. In total, qPCR results showed that 5 samples were positive for *Bartonella*, 1 sample was positive for each *B. burgdorferi*, *R. mooseri* and *A. phagocytophilum*. No *F. tularensis* was detected in all samples. Nanopore sequencing results found that the microorganisms carried by ticks were mainly distributed in Proteobacteria and Firmicutes, which were identified as *Methylobacterium*, *Sphingomonas*, *Solanacearum*, *Acidobacteria*, *Tuomonas*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* and *Streptococcus* at the genus level. **Conclusion** The combination of qPCR and Nanopore sequencing can fully reflect the distribution of pathogenic microorganisms and other potential microorgan-

\* **【基金项目】** 山西省基础研究计划(自由探索类)项目(No. 20210302124299, 20210302124230), 山西省高等学校科技创新计划项目(No. 2021L340); 长治医学院博士科研启动基金(No. BS202121); 长治医学院学术技术带头人项目(No. XS202103)

\*\* **【通讯作者】** 饶华祥, E-mail: raohuaxiang2006006@163.com; 栗冬梅, E-mail: lidongmei@icdc.cn

**【作者简介】** 崔佳(1985-), 女, 博士, 副教授, 主要从事病原生物学感染与免疫研究。E-mail: cuijia@czmc.edu.cn

isms in *H. longicornis* in Changzhi of Shanxi Province, suggesting that there may be a risk of spreading natural focus diseases.

**【Key words】** *Haemaphysalis longicornis*; tick-borne pathogens; fluorescence quantitative PCR; Nanopore; Changzhi of Shanxi Province

蜱是一种吸血的节肢动物媒介生物,在我国分布广泛,北方较多,常见的属有:血蜱(*Haemaphysalis*),革蜱(*Dermacentor*),扇头蜱(*Rhipicephalus*),璃眼蜱属(*Hyalomma*)等<sup>[1]</sup>。研究发现蜱是携带病原微生物最多的媒介生物之一,常见的蜱媒病原微生物有:伯氏疏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*),巴贝西虫(*Babesia spp.*),巴尔通体(*Bartonella spp.*),嗜吞噬细胞无形体(*Anaplasma phagocytophilum*),土拉弗朗西斯菌(*Francisella tularensis*),立克次体(*Rickettsia spp.*),柯克斯体(*Coxiella spp.*),发热伴血小板减少综合征病毒(severe fever with thrombocytopenia syndrome bunyavirus, SFTSV),森林脑炎病毒(forest encephalitis virus),克里米亚-刚果出血热病毒(Cri-mean-Congo hemorrhagic fever virus)等<sup>[2-3]</sup>。近年来,动物和人类活动范围扩大、全球国际贸易交联、生态环境破坏、气候变化等因素显著增加了蜱媒病原菌的多样性,蜱传疾病长期困扰畜牧业、农业等产业发展,许多蜱媒病原菌亟待发现与确认,加之新现蜱传自然疫源性疾病与日俱增,更使得对蜱媒病原菌的监测具有重要公共卫生意义<sup>[4-6]</sup>。

山西长治地区属于山区盆地地貌,自然疫源地较多且环境复杂,动物类群多样性丰富,其中羊、牛、狗、兔、鼠等动物活动为蜱传疾病提供了更多可能<sup>[7]</sup>。有报道山西祁县地区血蜱携带嗜吞噬细胞无形体与伯氏疏螺旋体<sup>[8]</sup>。伯氏疏螺旋体是自然疫源性疾病莱姆病(Lyme disease, LD)的病原体,全国多个省、市、自治区均有蜱传莱姆病报道<sup>[9]</sup>。嗜吞噬细胞无形体是人粒细胞无形体病(Human granulocytic anaplasmosis, HGA)的病原体,在我国分布甚广,也是感染率较高的蜱媒病原微生物<sup>[10]</sup>。然而关于山西长治地区蜱媒病原微生物和蜱传疾病还未见报道。

本研究首先将山西长治 8 个采样点的蜱分类鉴定,通过 qPCR 方法对可能存在的蜱媒病原体进行分析,再根据 16SrDNA 与 Nanopore 测序技术揭示蜱体内共生微生物的多样性,为山西长治蜱传疾病的监测、预警、防控提供参考。

## 材料与方法

### 1 材料

**1.1 标本来源** 2022 年 5-7 月在山西省长治市的 5 个县(区)选择了 8 个采样点采集羊寄生蜱、犬寄生蜱、

兔寄生蜱和游离蜱共 523 只。游离蜱采用布旗法捕获,寄生蜱采用无菌镊子从动物身上捕获,采集完毕后转入 5 mL 离心管中于 -80 °C 保存。采集点见图 1。

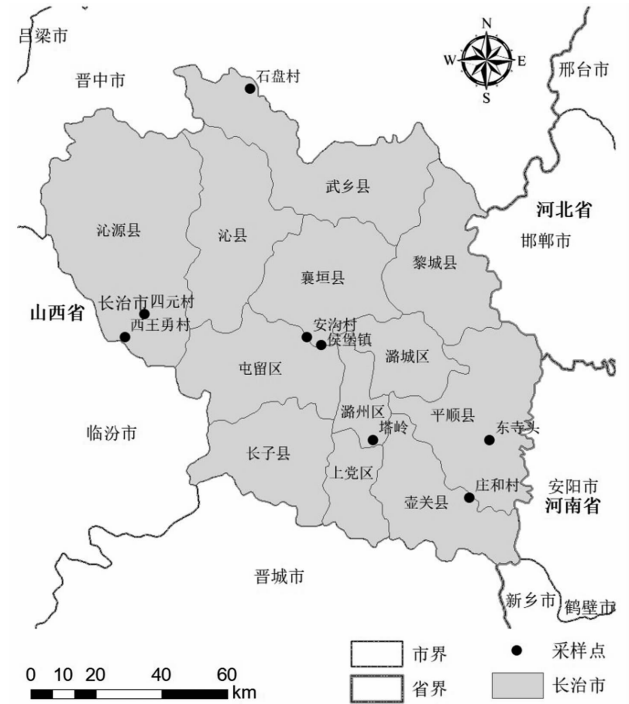


图 1 山西省长治地区捕获蜱虫的地理分布图  
Fig. 1 Geographical distribution of the trapped ticks in Changzhi of Shanxi province in China

**1.2 主要试剂** 2xEasy Taq PCR SuperMix 购自于北京全式金生物技术有限公司; Taq Pro U+ Multiple Probe qPCR Mix 购自于南京诺唯赞生物科技股份有限公司; NEBNext High-Fidelity 2xPCR Master Mix 购自于美国 New England Biolabs; 动物组织基因组 DNA 提取试剂盒购自于西安天隆科技有限公司; Nanopore 16S Barcoding Kit SQK-RAB204 购自于英国 Oxford Nanopore Technologies。

**1.3 主要仪器** 荧光分光光度计(美国 Thermo Fisher Qubit 4.0); 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad CFX96); 全自动核酸提取仪(西安天隆科技有限公司 NP968-C); 动物组织研磨仪(北京国科融智生物技术有限公司); 纳米孔 MinION 测序仪(英国 Oxford Nanopore Technologies)。

### 2 方法

**2.1 蜱虫标本提取基因组 DNA 分类** 对捕获的蜱样本根据刘明社等<sup>[11]</sup>文献进行形态学初步鉴定,使用

75%的酒精浸泡清洗1遍,再用PBS清洗2遍,将单只蜱置于2 mL研磨管内,每管样品内加入4 ℃预冷PBS 2 mL,3颗直径2 mm不锈钢珠,研磨机设置1 800 r/min,研磨30 s,间歇10 s,共6个循环,对蜱虫样本充分震荡研磨后,按照动物组织基因组DNA提取试剂盒说明书于核酸提取仪提取蜱虫基因组DNA。

**2.2 DNA条码技术鉴定** 蜱随机挑选20个蜱标本进行线粒体细胞色素C氧化酶亚基I(COI)基因扩增,引物选择为动物DNA条形码通用引物<sup>[12]</sup>,正向引物5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3',反向引物5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3',PCR反应体系为:12.5 μL 2xEasy Taq PCR SuperMix,正、反向引物各1 μL(10 μmol/L),1 μL蜱DNA模板,补充无核酸酶水至25 μL。PCR反应条件:预变性94 ℃ 5 min;94 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s和72 ℃ 1 min循环共35个,终延伸72 ℃ 10 min,扩增后送西安擎科生物科技有限公司测序。

**2.3 qPCR检测** 蜱媒病原微生物以提取的蜱基因组DNA为模板,采用伯乐CFX96实时荧光定量PCR仪检测病原微生物,巴尔通体、伯氏疏螺旋体、莫氏立克次体、噬吞噬细胞无形体、土拉弗朗西斯菌引物和探针序列见表1。PCR反应体系为:10 μL Taq Pro U+ Multiple Probe qPCR Mix,正、反向引物和探针各0.8 μL(10 μmol/L),5 μL DNA模板,补充无核酸酶水至20 μL。PCR反应条件:95 ℃预变性5 min;95 ℃ 30 s和55 ℃ 45 s循环共40个。每个检测体系至少设置两组重复。反应设阳性及阴性对照。所用莫氏立克次体、噬吞噬细胞无形体、土拉弗朗西斯菌阳性质粒由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所媒介生物控制室提供,巴尔通体阳性对照为中国疾病预防控制中心传染病预防控制所媒介生物控制室保存的RN38BJ热灭活菌液,伯氏疏螺旋体阳性对照由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所莱姆病实验室提供。

**2.4 第三代测序** Nanopore检测蜱媒微生物随机挑选12个蜱样本进行第三代测序检测病原微生物,样本遍布5个县(区)8个采样点,分别选择平顺县庄和村雌、雄羊寄生蜱和游离蜱、平顺东寺头村游离蜱、雌性羊寄生蜱、潞州区塔岭村雌性犬、兔寄生蜱,襄垣县安沟村雌性羊寄生蜱、襄垣县后堡镇雌性羊寄生蜱、沁源县西王勇村雌性羊寄生蜱、沁源县四元村雌性羊寄生蜱、武乡县石盘村雌性羊寄生蜱标本DNA各一份,利用16S Barcoding Kit对每个样本16SrDNA进行扩增,PCR反应体系为:25 μL NEBNext High-Fidelity 2xPCR Master Mix,16S Barcode引物1 μL(10 μmol/L),10 μL DNA模板,补充无核酸酶水至50 μL。PCR反应条件:95 ℃预变性1 min;95 ℃ 20 s,55 ℃

30 s和65 ℃ 2 min循环共25个,65 ℃ 5 min终延伸。PCR产物经过Qubit定量后利用磁珠纯化系统进行PCR产物纯化。12个样品各取1 μL纯化产物构建文库DNA混合样品,再加入1 μL引物接头蛋白RAP并充分混匀。根据Nanopore测序芯片的操作说明,于反应池中先加入测序缓冲液,再于点样孔中加入制备好的文库DNA后上机操作测序,测序分析时间选择24 h。Nanopore测序软件为MinKNOW(MinION Release 19.06.7),测序结果实时报告网址为EPI2ME网站(<https://epi2me.nanoporetech.com>),测序完毕后清洗芯片孔。具体步骤参数同参考文献[13]。

表1 qPCR引物与探针序列  
Table 1 qPCR primers and probes

病原微生物	引物探针	序列(5'-3')
伯氏疏螺旋体	正向引物	GTTCTGCAACATTAACACCTAAAGCTT
	反向引物	AGGTGGGATAGCTGCTTTTATTGAT
	探针	FAM-ACAGGATCAAGAGCATG-MGB
巴尔通体	正向引物	GCTATGGTAATAAATGGACAATGAAATAA
	反向引物	GCTTCTGTTGCCAGGTG
	探针	FAM-ACCCCGCTTAAACCTGCGACG-MGB
莫氏立克次体	正向引物	TGTTGATGGTGCAGGATTGA
	反向引物	CGAATTTGTAGCGACAGGAAGA
	探针	FAM-CAAACCTGGCGCTGGTGT-MGB
噬吞噬细胞无形体	正向引物	CCACGCAAGTCGCATTGAT
	反向引物	GCCGGTACTTTTCGCAATT
	探针	FAM-CTTACAGGTGCTATCATC-MGB
土拉弗朗西斯菌	正向引物	GCAGGGCGAGCACCATT
	反向引物	ATCTTGCATGGTCACCACTTGA
	探针	FAM-CGATATTTGCTGTTAGCACTCT-MGB

## 结 果

### 1 蜱基本信息

本次调查研究采集蜱标本共523只,经过形态学初步鉴定全部为硬蜱且均为血蜱,抽取20个典型样本进行COI基因确认,测序发现全部为长角血蜱(*Haemaphysalis longicornis*)。其中游离蜱与寄生蜱比例为:0.26:1(109/414),若蜱与成蜱比例为:0.21:1(89/434),成蜱雌雄比例为0.79:1(192/244)。

### 2 病原体检出情况

根据qPCR结果显示:巴尔通体检出5例(检出率为0.96%(5/523)),伯氏疏螺旋体检出1例(检出率为0.19%(1/523)),莫氏立克次体检出1例(检出率为0.19%(1/523)),噬吞噬细胞无形体检出1例(检出率为0.19%(1/523)),土拉弗朗西斯菌0例(检出率为0),无混合感染标本,统计结果见表2~4。



表 2 长角血蜱多种病原体检出情况[n(%)]

**Table 2 Detection of pathogens in *Haemaphysalis longicornis***

采样点	数量	巴尔通体	伯氏疏螺旋体	莫氏立克次体	噬吞噬细胞无形体	土拉弗朗西斯菌
潞州区塔岭	97	3(3.09)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
沁源县四元村	16	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
沁源县西王勇村	16	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
襄垣县安沟村	13	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
襄垣县后堡镇	16	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
武乡县石盘村	16	1(6.25)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
平顺县东寺头村	45	0(0.00)	1(2.22)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
平顺县庄和村	304	1(0.33)	0(0.00)	1(0.33)	1(0.33)	0(0.00)
合计	523	5(0.96)	1(0.19)	1(0.19)	1(0.19)	0(0.00)

表 3 游离蜱虫与寄生蜱虫病原体检出情况[n(%)]

**Table 3 Detection of pathogens in free-living ticks and parasitic ticks**

分类	数量	巴尔通体	伯氏疏螺旋体	莫氏立克次体	噬吞噬细胞无形体	土拉弗朗西斯菌
游离蜱	109	1(0.92)	1(0.92)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
寄生蜱	414	4(0.97)	0(0.00)	1(0.24)	1(0.24)	0(0.00)
合计	523	5(0.96)	1(0.19)	1(0.19)	1(0.19)	0(0.00)

表 4 雌、雄、若蜱病原体检出情况[n(%)]

**Table 4 Detection of pathogens in female, male ticks and nymphs**

分类	数量	巴尔通体	伯氏疏螺旋体	莫氏立克次体	噬吞噬细胞无形体	土拉弗朗西斯菌
雌蜱	192	3(1.56)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)
雄蜱	244	1(0.41)	0(0.00)	1(0.41)	0(0.00)	0(0.00)
若蜱	87	1(1.15)	1(1.15)	0(0.00)	1(1.15)	0(0.00)
合计	523	5(0.96)	1(0.19)	1(0.19)	1(0.19)	0(0.00)

### 3 第三代测序 Nanopore 检测蜱媒微生物多样性

12 个血蜱样本经第三代测序上机分析后得到已分类的总序列 reads 平均 786 914 个,未分类总序列 reads 平均 3 242 个,平均准确率为 90%。从门(Phylum)水平分析得到变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)两个门。从纲(Class)水平分析得到甲型变形菌纲(Alphaproteobacteria),乙型变形菌纲(Betaproteobacteria)和芽胞杆菌纲(Bacilli)。从目(Order)水平分析得到根瘤菌目(Rhizobiales),鞘脂单胞菌目(Sphingomonadales),伯克氏菌目(Burkholderiales),假单胞杆菌目(Pseudomonadales),肠杆菌目(Enterobacterales),芽胞杆菌目(Bacillales)和乳杆菌目(Lactobacillales)。从科(Family)水平分析得到甲基杆菌科(Methylobacteriaceae),鞘脂单胞菌科(Sphingomonadaceae),伯克氏菌科(Burkholderiaceae),丛毛单胞菌科(Comamonadaceae),莫拉菌科(Moraxellaceae),假单胞杆菌科(Pseudomonadaceae),肠杆菌科(Enterobacteriaceae),葡萄球菌科(Staphylococcaceae),链球菌科(Streptococcaceae),气球菌科(Aerococcaceae)。从属(Genus)水平分析得到甲基菌属(*Methylobacterium*),鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*),青枯菌属(*Ralstonia*),食酸菌属(*Acidovorax*),丛毛单胞菌属(*Comamonas*),不动杆菌属(*Acinetobacter*),假单胞菌属(*Pseudomonas*),葡萄球菌属(*Staphylococcus*),链球菌属(*Streptococcus*)。从种(Species)水平分析得到戈辛根甲基杆菌(*Methylobacterium goesingense*),皮氏罗尔斯顿菌(*Ralstonia pickettii*),白色不动杆菌(*Acinetobacter albensis*),马不动杆菌(*Acinetobacter equi Lwoffii*),球蛋白杆菌(*Acinetobacter lwoffii*),辛德勒不动杆菌(*Acinetobacter schindleri*),变异杆菌(*Acinetobacter variabilis*),米古拉假单胞菌(*Pseudomonas migulae*),金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),耳葡萄球菌(*Staphylococcus auricularis*),产色葡萄球菌(*Staphylococcus chromogenes*)。根据最低丰度界限 1%和分类群中前 30%从属水平分析共生微生物的纳米孔测序结果见图 2。

*dovorax*),丛毛单胞菌属(*Comamonas*),不动杆菌属(*Acinetobacter*),假单胞菌属(*Pseudomonas*),葡萄球菌属(*Staphylococcus*),链球菌属(*Streptococcus*)。从种(Species)水平分析得到戈辛根甲基杆菌(*Methylobacterium goesingense*),皮氏罗尔斯顿菌(*Ralstonia pickettii*),白色不动杆菌(*Acinetobacter albensis*),马不动杆菌(*Acinetobacter equi Lwoffii*),球蛋白杆菌(*Acinetobacter lwoffii*),辛德勒不动杆菌(*Acinetobacter schindleri*),变异杆菌(*Acinetobacter variabilis*),米古拉假单胞菌(*Pseudomonas migulae*),金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),耳葡萄球菌(*Staphylococcus auricularis*),产色葡萄球菌(*Staphylococcus chromogenes*)。根据最低丰度界限 1%和分类群中前 30%从属水平分析共生微生物的纳米孔测序结果见图 2。

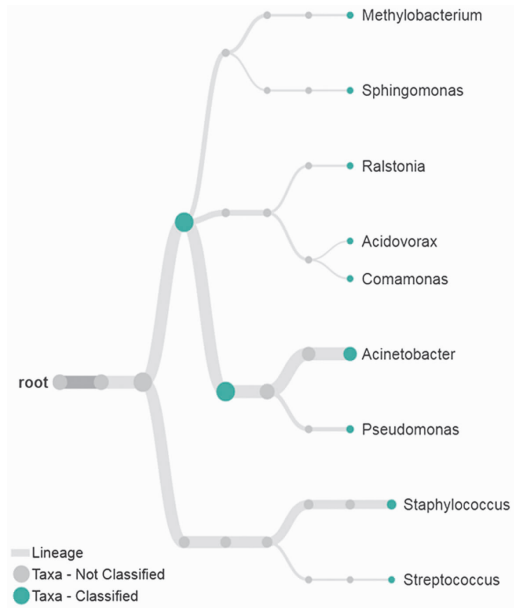


图 2 蜱共生微生物的纳米孔测序结果  
Fig. 2 Nanopore sequencing of tick-borne microbes

### 讨论

长角血蜱是山西长治地区的优势蜱种,也是病原微生物的主要宿主和传播媒介<sup>[14-16]</sup>。本研究将随机捕获的蜱种类经形态学与 DNA 条码技术鉴定后发现所采集的蜱均为长角血蜱。采用 qPCR 检测发现除土拉弗朗西斯菌外,巴尔通体、伯氏疏螺旋体、莫氏立克次体、噬吞噬细胞无形体均有检出。在 8 个采集点中,平顺庄和地区分别有巴尔通体、莫氏立克次体、噬吞噬细胞无形体阳性样本,可能与采集样本量丰富有关,提示我们后续进一步检测病原体时可以增加样本量,考虑进行蜱混合样品检测,扩大检测范围,提高检测精确度与科学性,为精准防控奠定理论基础。本研究在检测结果中还发现巴尔通体感染阳性有 3 例在潞州区,潞

州区是长治地区的城市中心,人员活动较频繁,推测人群活动可能对病原体感染传播广泛有一定影响。本研究在蜱标本中还检测出莫氏立克次体,与其他报告中莫氏立克次体更多发现在鼠蚤和鼠虱中不同,研究中所用引物与探针均根据《全国病媒生物病原学监测方案》以莫氏立克次体外膜蛋白 B 基因(ompB)设计,配制扩增体系与样本检测过程严格无菌操作、避免污染,且检测反应经过重复实验,均设置有阳性对照、阴性对照以排除实验室污染导致的假阳性结果,保证实验结果准确性、客观性。本研究揭示长角血蜱可能是莫氏立克次体的潜在媒介,这一发现丰富了我们对莫氏立克次体的潜在传播媒介和分布范围的认识,为后续研究提供了线索。

目前,Nanopore 技术由于其覆盖广、效率高等特点国内外已逐步开始应用于媒介生物的微生物种群多样性研究,该方法基于 16S rDNA 的高通量测序,能够鉴定低丰度和不易培养的细菌,检测分辨率高,灵敏度高<sup>[17-19]</sup>。我国学者应用三代测序技术对 27 个省市自治区的 678 组蜱样本进行了遗传结构和病原体分布特点分析<sup>[20]</sup>。Regier 利用 Nanopore 技术对德国中部地区的蜱传病原菌进行了分类<sup>[21]</sup>。Brinkmann 利用 Nanopore 技术对蜱传病毒进行了调查<sup>[22]</sup>。本研究应用 Nanopore 方法对随机采集的 8 个采样点的蜱标本共生微生物进行调查,样本覆盖面全,分析得到山西长治地区的蜱共生微生物主要以非致病菌为主,与党利红等<sup>[23]</sup>通过 Illumina MiSeq 技术和 16SrDNA V3-V4 区序列对长角血蜱得出的优势菌群结论类似。同时,本研究还发现蜱媒微生物有致病菌金黄色葡萄球菌,提示在做好常见蜱媒病原体防控的同时,还应注意其他病原微生物感染风险,预防和控制各种蜱媒病的发生。

综上所述,本研究首次分析了山西长治地区长角血蜱中共生微生物的物种多样性,调查发现巴尔通体、伯氏疏螺旋体、莫氏立克次体、噬吞噬细胞无形体在蜱中有感染率,提示当地居民、牧民及农业工作人员进入该地区有感染疾病风险,应加强自我防护措施,避免蜱叮咬。同时,本研究为蜱和蜱传疾病的防控提供了参考,也为深入研究蜱及蜱媒传染病、蜱内共生菌开辟了新思路。

#### 【参考文献】

[1] 邵中军. 我国重要蜱传疾病及传播媒介研究概述[J]. 中华卫生杀虫药械,2021,27(4):293-299.  
[2] Zhao GP, Wang YX, Fan ZW, et al. Mapping ticks and tick-borne pathogens in China[J]. Nat Commun,2021,12(1):1075.  
[3] de la Fuente J, Antunes S, Bonnet S, et al. Tick-pathogen interactions and vector competence: identification of molecular drivers for

tick-borne diseases[J]. Front Cell Infect Microbiol,2017,7:114.  
[4] Fang LQ, Liu K, Li XL, et al. Emerging tick-borne infections in mainland China: an increasing public health threat[J]. Lancet Infect Dis,2015,15(12):1467-1479.  
[5] 别双双,杜春红. 我国新发蜱传立克次体病研究进展[J]. 寄生虫与医学昆虫学报,2021,28(4):263-270.  
[6] 王晗,曹淦,孙刚,等. 我国常见蜱传疾病的流行特征和检测方法研究进展[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2022,33(5):765-770.  
[7] 于娟,边香,谢冰,等. 山西省东南部地区鼠传病原体流行状况研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2022,33(2):211-215.  
[8] 杨小娜,张琳,侯学霞,等. 16S rDNA 全长高通量测序在蜱媒病原生物多样性研究中的应用[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2021,32(4):404-411.  
[9] 徐翠平,王玲,官文焕. 莱姆病的临床与免疫[J]. 中国病原生物学杂志,2020,15(11):1363-1366.  
[10] 周琦,贺真,邵中军. 嗜吞噬细胞无形体的流行特征及临床诊断进展[J]. 中华卫生杀虫药械,2022,28(2):184-187.  
[11] 刘明社. 山西已知 17 种硬蜱的系统发育数值分析[J]. 山西医科大学学报,1997(1):16-18.  
[12] 周淑娟,肖方震,刘维俊,等. COI 基因 DNA 条形码技术在福建省蜱类鉴定中的应用[J]. 中国人兽共患病学报,2020,36(1):25-31.  
[13] 栗冬梅,周若冰,李寿江,等. 纳米孔测序实时检测鼠传巴尔通体[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2021,32(4):390-397.  
[14] 吴海霞,李志芳,刘起勇,等. 首次在长角血蜱中检测到汉赛巴尔通体[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2015,26(01):16-18.  
[15] 刘明社,车德才,黄克峻. 山西的蜱类及硬蜱科种检索表编制(附微小牛蜱畸形五例)[J]. 山西师大学报(自然科学版),1996(2):35-38.  
[16] 刘明社,黄克峻,赵中夫,等. 九省区蜱类区系初步调查[J]. 长治医学院学报,2005(4):249-250.  
[17] 刘丽,杨小蓉,彭凯,等. 三代宏基因组测序在食源性疾病事件中的应用[J]. 预防医学情报杂志,2022,38(11):1497-1500.  
[18] Greninger AL, Naccache SN, Federman S, et al. Rapid metagenomic identification of viral pathogens in clinical samples by real-time nanopore sequencing analysis[J]. Genome Med,2015,7:99.  
[19] Couper L, Swei A. Tick microbiome characterization by next-generation 16S rRNA amplicon sequencing[J]. J Vis Exp,2018,(138):58239.  
[20] Jia N, Wang J, Shi W, et al. Large-scale comparative analyses of tick genomes elucidate their genetic diversity and vector capacities[J]. Cell,2020,182(5):1328-1340. e13.  
[21] Regier Y, Komma K, Weigel M, et al. Combination of microbiome analysis and serodiagnostics to assess the risk of pathogen transmission by ticks to humans and animals in central Germany[J]. Parasit Vectors,2019,12(1):11.  
[22] Brinkmann A, Uddin S, Krause E, et al. Utility of a sequence-independent, single-primer-amplification (SISPA) and nanopore sequencing approach for detection and characterization of tick-borne viral pathogens[J]. Viruses,2021,13(2):203.  
[23] 党利红,张瑞玲. 长角血蜱雌雄个体间共生菌多样性比较[J]. 中国病原生物学杂志,2018,13(5):520-523.