

# 秦岭地区常见蜱虫携带病原体流行病学特征分析

贺真, 付婷, 严敏, 邵中军\*

空军军医大学军事预防医学系军队防疫与流行病学教研室, 陕西 西安

收稿日期: 2023年9月27日; 录用日期: 2023年10月20日; 发布日期: 2023年10月27日

## 摘要

目的: 了解秦岭地区蜱虫种类及分布情况, 为蜱虫及蜱媒传染病的防治提供依据。方法: 采用动物体表逆毛捡拾法对2019年陕西省秦岭地区开展蜱类调查, 通过形态学观察以及PCR检测明确秦岭地区蜱虫分布及携带病原体情况。结果: 秦岭地区的蜱类采集活动中, 共获得蜱虫267只, 经鉴定均为长角血蜱。之后对其中采集的163只蜱针对6种病原体进行PCR检测。在秦岭地区的蜱类中, 长角血蜱的立克次体感染率为18.4%, 吞噬细胞无形体感染率为61.35%, 巴贝西原虫感染率为0.61%, 巴尔通体感染率为2.45%, 新型布尼亚病毒感染率为3.07%, 而莱姆螺旋体未检出。秦岭三个地区蜱虫携带病原体的阳性率均有差异( $P < 0.05$ )。并且携带病原体中存在四种混合感染类型, 分别为立克次体与无形体混合感染、立克次体与巴尔通体混合感染、无形体与新型布尼亚病毒混合感染、无形体与巴贝西原虫混合感染。结论: 长角血蜱为试验采集蜱虫中的优势蜱种; 进行病原体检测发现吞噬细胞无形体具有较高感染率, 不同地区蜱虫携带病原体分布有差异, 并且存在病原体混合感染的情况, 提示在蜱虫比较活跃地区及季节应该增强防范措施, 避免叮咬感染。

## 关键词

蜱媒传染病, 长角血蜱, 混合感染

# Analysis of Epidemiological Characteristics of Pathogens Carried by Ticks in Qinling Area

Zhen He, Ting Fu, Min Yan, Zhongjun Shao\*

Department of Military Epidemiology, School of Military Preventive Medicine, Air Force Medical University, Xi'an Shaanxi

\*通讯作者。

文章引用: 贺真, 付婷, 严敏, 邵中军. 秦岭地区常见蜱虫携带病原体流行病学特征分析[J]. 临床医学进展, 2023, 13(11): 16961-16967. DOI: 10.12677/acm.2023.13112375

## Abstract

**Objective:** To investigate and analyze the diversity of the tick species in Qinling area. **Methods:** This study mainly collates and summarizes the data in 2019. Ticks were collected from the animal body surface by hand searching. Through the morphological observation and PCR detection, we identified the ticks and pathogens in Qinling area. **Results:** The results showed that total of 267 ticks were collected, all of which were identified as *Haemaphysalis longicornata*. After the test of 163 ticks collected for 6 kinds of pathogens detected by PCR, the *Rickettsia rickettsii* infection rate was 18.4%, the *Anaplasma phagocytophilum* was 61.35%, the Babesia was 0.61%, the Bartonella was 2.45%, the severe fever with thrombocytopenia syndrome virus was 3.07%, but lyme spirochete was not detected. There were differences in the positive rates of ticks carrying pathogens in three areas of Qinling Mountains ( $P < 0.05$ ). And there are four types of mixed infection among the pathogens, namely *Rickettsia rickettsii* and *Anaplasma phagocytophilum* co-infection, *Rickettsia rickettsii* and Bartonella co-infection, *Anaplasma phagocytophilum* and the severe fever with thrombocytopenia syndrome virus co-infection, *Anaplasma phagocytophilum* and Bartonella co-infection. **Conclusion:** *Haemaphysalis longicornata* was the dominant tick species collected in this study, pathogen detection found that phagocyte Anaplasma has a high infection rate. The distribution of pathogens carried by ticks in different regions is different and there is co-infection of pathogens. Preventive measures should be intensified in areas and seasons where ticks are more active to prevent people from being infected.

## Keywords

Tick-Borne Disease, *Haemaphysalis longicornata*, Co-Infection

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

蜱虫是一类分布广泛的媒介生物，可引起蜱媒传染病。蜱媒传染病是一类由媒介蜱传播、感染所引发的自然疫源性疾病[1]。蜱携带和传播的病原体种类繁多，包括病毒、细菌、立克次体、螺旋体等，宿主动物分布广泛、流行环节复杂交错，且易受到自然环境和社会经济条件的影响[2] [3]。几种蜱传疾病往往共存于同一疫源地，一种媒介蜱也可同时携带两种或两种以上的病原体，这极大地增加了宿主动物及人类复合感染的机率，极易造成蜱传疾病的流行和暴发[4] [5] [6] [7]。

秦岭地处北纬 32'~34'之间，介于关中平原和南面的汉江谷地之间，该地区自然资源丰富，生态系统物种繁多，地形复杂植被丰富，其独有的地理优势和独特的气候很适合蜱虫的生长和繁殖，因此秦岭地区就此成为蜱媒传染病的自然疫源地[8]。

2019 年我们选取了蜱虫繁殖活跃的季节，对秦岭地区三个监测点：长安区、鄠邑区以及商南县的蜱虫携带病原体的情况进行调查研究，为秦岭地区的蜱媒传染病的流行病学研究提供依据，对秦岭地区蜱传疾病的防控具有一定意义。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 材料

寄生蜱虫标本采集地点选取秦岭地区东段商南县、中段鄂阳区以及西段的长安区作为采集点，以三县位于山丘地去的农户家放养的羊、牛、犬作为研究对象，通过对家畜体表寄生蜱进行采集。

### 2.2. 方法

#### 2.2.1. 蜱标本的采集

2019年5月~2019年8月以来我们在蜱虫活动高峰期进入采样点进行蜱标本的采集，并记录好采集地点的环境信息。主要采用动物体表检查的方法采集羊、牛、犬身上附着的寄生蜱。长安区124只，鄂阳区26只，商南县117只，共计采集267只蜱虫。

#### 2.2.2. 蜱标本的保存与运输

对于在家畜体表采集到的寄生蜱标本，直接放入大塑料瓶中，做到编号和登记。将活蜱放入后再放入干滤的纸条，随后将标本送到实验室，将其放入4℃冰箱内进行保存。

#### 2.2.3. 蜱虫标本拍照及形态学鉴定

对采集到的蜱虫标本用蒸馏水冲洗，再用75%乙醇固定，干燥后使用微生物电动视频检测系统对标本进行3D拍照，同时进行鉴定分类，之后放入-80℃超低温冰箱保存。

#### 2.2.4. 蜱媒传播病原体DNA/RNA核酸提取

蜱虫标本病原体核酸的提取采用Qiagen All prep DNA/RNA Mini kit试剂盒操作过程如下：

1) 将每支装有蜱虫的EP管中加入3~4颗小钢珠，每管加入400 μl RLT，蛋白酶K 40 μl，放入细胞组织粉碎仪研磨；

2) 将EP管放入水浴55℃，10 min；

3) 全速离心，取上清入DNA柱，8000 g离心，30 s，离心套管内的滤液用来提取RNA；

4) 将DNA离心柱中加入500 μl Aw1，8000 g离心15 s；

5) 将DNA离心柱中加入500 μl Aw2，14,000 g离心20 min；

6) 离心柱放入新EP管中，加入100 μl EB，8000 g离心1 min；

7) 将套管内的滤液350 μl，加入等体积的350 μl 70%乙醇，将混合液放入RNA柱，8000 g离心15 s；

8) 加入700 μl RW1，8000 g离心15 s；

9) 加入500 μl RPE，8000 g离心15 s；

10) 加入500 μl RPE，8000 g离心2 min；

11) 加入50 μl RNase-free water，8000 g离心1 min。

收集提取的RNA和DNA放置于-80℃冰箱保存待检测。

#### 2.2.5. 蜱媒传播病原体的PCR检测

对蜱虫携带的立克次体、无形体、巴贝西原虫、莱姆螺旋体、巴尔通体的检测采用巢式PCR的方法，针对新型布尼亚病毒采用Real-Time PCR的方法进行了核酸检测。选取各个病原体的高度保守区作为靶区域设计特异性引物，随后进行PCR扩增和琼脂糖凝胶电泳实验，实验引物序列见表1。

1) PCR扩增检测以提取的DNA核酸为模板，分别进行两轮的巢式PCR扩增。扩增体系为25 μL，体系如下PCR Taq酶 Mix 12.5 μL，上下游引物各0.5 μL，模板DNA 2 μL，ddH<sub>2</sub>O 9.5 μL。第一轮产物作为第二轮模板，体系同上进行PCR扩增，对第二轮产物进行琼脂糖凝胶电泳，根据特定片段长短

**Table 1.** Primers and probe sequences used for pathogen detection**表 1.** 病原体检测所用引物及探针序列

目标病原体	引物名称	引物序列
斑点热群立克次体	Forward Primer 1	5'-ATGGCGAATATTTCTCAAAA-3'
	Reverse Primer 2	5'-AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT-3'
	Forward Primer 3	5'-AAAACCGCTTTATTCACC-3'
	Reverse Primer 4	5'-GGCAACAAGTTACCTCCT-3'
嗜吞噬细胞无形体	Forward Primer 1	5'-TTGAGAGTTTGATCCTGGCTCAGAACG-3'
	Reverse Primer 2	5'-CACCTCTACACTAGGAATTCGCTATC-3'
	Forward Primer 3	5'-GTAATAACTGTATAATCCCTG-3'
	Reverse Primer 4	5'-GTACCGTCATTATCTTCCCTA-3'
巴贝西原虫	Forward Primer 1	5'-CTTAGTATAAGCTTTTATACAGC-3'
	Reverse Primer 2	5'-ATAGGTCAGAACTTGAATGATACA-3'
	Forward Primer 3	5'-GTTATAGTTTATTTGATGTTTCGTTT-3'
	Reverse Primer 4	5'-AAGCCATGCGATTCGCTAAT-3'
莱姆螺旋体	Forward Primer 1	5'-CGACCTTCTTCGCTTAAAGC-3'
	Reverse Primer 2	5'-TAAGCTGACTAATACTAATTACCC-3'
	Forward Primer 3	5'-CTGCGAGTTCGCGGGAGA-3'
	Reverse Primer 4	5'-TCCTAGGCATTCACCATA-3'
五日热巴尔通体	Forward Primer 1	5'-YCTTCGTTTCTCTTCTTCA-3'
	Reverse Primer 2	5'-AACCAACTGAGCTACAAGCC-3'
	Forward Primer 3	5'-CTCTTCTTCAGATGATGATCC-3'
	Reverse Primer 4	5'-GGATAAACCGGAAAACCTTC-3'
新型布尼亚病毒	SFTSV -F	5'-AGCAGCAGCAGCAACCTCAG-CAGC-3'
	SFTSV -R	5'-AGCCTAATTGGATATGTCAAATTGC-3'
	Taqman Probe	5'-CGGGTGAAGTGGCTGAAGG-3'

对目的基因阳性进行标记记录。

2) Real-Time PCR 检测以提取 RNA 核酸为模板, 进行一步法的 RT-PCR。扩增体系为 20  $\mu$ L, 体系如下 One Step RT-PCR Buffer 10  $\mu$ L, Ex Taq 酶 0.4  $\mu$ L, RT-Enzyme Mix 0.4  $\mu$ L, ROX Dye 0.4  $\mu$ L, 上下游引物各 0.4  $\mu$ L, 探针引物 0.8  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 5.2  $\mu$ L。

### 2.3. 统计分析

使用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 不同地区的蜱虫病原体阳性携带率的差异使用卡方检验的方法,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. 蜱种类鉴定

2019 年 5 月以来我们在秦岭三个检测点共采集到蜱标本 267 只, 其中长安区 124 只, 鄠邑区 26 只,

商南县 117 只。经鉴定采集到的蜱标本均为硬蜱科血蜱属长角血蜱，结果显示以上三个观察点的优势蜱种为长角血蜱。

蜱虫体长中等，无眼，有缘垛。假头短小，钝楔形。假头基为矩形，有明显的呈三角形的强大基突。须肢外缘向外侧中度突出，呈角状。雌虫盾板亚圆形，中部宽大，雄虫基突强大，末端尖。盾板上刻点中等大，分布均匀而较稠密。颈沟短小呈弧形。侧沟窄而明显。缘垛窄长而清晰。气门板为卵圆形(见图 1)。



Figure 1. *Haemaphysalis longicornata*  
图 1. 长角血蜱

### 3.2. 媒介蜱标本感染病原体情况

我们对采集的蜱标本中的 163 只蜱虫标本通过 PCR 方法进行检测，发现蜱标本中立克次体阳性携带 30 只，阳性率 18.40% (30/163)；嗜吞噬细胞无形体阳性携带 100 只，阳性率 61.35% (100/163)；巴贝西原虫阳性携带 1 只，阳性率 0.61% (1/163)；巴尔通体阳性携带 4 只，阳性率 2.45% (4/163)；新型布尼亚病毒阳性携带 5 只，阳性率 3.07% (5/163)；莱姆螺旋体经检测均为阴性。

### 3.3. 蜱虫地区分布差异情况

通过对秦岭三个地区蜱虫携带病原体阳性率进行统计分析，发现三个地区蜱虫携带病原体的阳性率均有差异( $P < 0.05$ )。长安区蜱虫携带立克次体阳性率最高为 35.00%，商南县次之，鄂邑区最低。嗜吞噬细胞无形体的阳性率在鄂邑区最高，达到 96.15%，商南县次之为 62.39%，长安区最低为 10.0%。巴贝西原虫只在商南县有检出，巴尔通体仅在长安区的蜱虫中检出，新型布尼亚病毒仅在商南县的蜱虫中检出(表 2)。

Table 2. Tick pathogen carriage in different regions of the Qinling Mountains in 2019  
表 2. 2019 年秦岭不同地区蜱虫携带病原体情况

蜱虫携带病原体	蜱虫携带病原体类型 N (%)						卡方值	P
	长安区	阳性率	鄂邑区	阳性率	商南县	阳性率		
立克次体	7	35.00%	2	7.69%	21	17.95%		
嗜吞噬细胞无形体	2	10.00%	25	96.15%	73	62.39%		
巴贝西原虫	0	0	0	0	1	0.85%	35.69	<0.0001
巴尔通体	4	20.00%	0	0	0	0		
新型布尼亚病毒	0	0	0	0	5	4.27%		

### 3.4. 蜱媒传染病相关病原体混合感染情况

163 只蜱虫中检出混合感染 20 只，混合感染率为 12.27%。检出双重混合感染共有 4 种，包括立克次体与无形体混合感染、立克次体与巴尔通体混合感染、无形体与新型布尼亚病毒混合感染、无形体与巴

贝西原虫混合感染。未见三重及以上多重混合感染情况。其中立克次体与嗜吞噬细胞无形体混合感染最多为 15 只，混合感染率为 9.20% (表 3)。

**Table 3.** Mixed infection status of tick pathogens  
**表 3.** 蜱虫病原体混合感染情况

地区	立克次体 + 嗜吞噬细胞 无形体	立克次体 + 巴尔通体	嗜吞噬细胞无形体 + 新型布尼亚病毒	嗜吞噬细胞无形体 + 巴贝西原虫
长安区	1	1	0	0
鄠邑区	2	0	0	0
商南区	12	0	3	1
合计	15	1	3	1

#### 4. 讨论

蜱虫是第一种被认定为能够向人类传播病原体的节肢动物，是世界上仅次于蚊子的传染病传播媒介 [5] [9]。蜱媒传染病是指病原体维持在自然周期中的人畜共患病，包括蜱媒和动物宿主 [10]。不同的蜱种偏好不同的生物群落或环境，这决定了它们的地理分布，因此也决定了人类患蜱媒传染病的风险区域 [11] [12]。畜牧区、野生动物栖息区、自然保护区、鸟类或者兽类栖息地等都是蜱虫分布的地方 [13] [14]。随着当今社会发展，城市化进程加剧以及人口流动速度加快，导致了人员活动的范围在不断扩大，越来越多的人进入自然保护区，势必会进入蜱媒传染病相关病原体的自然疫源地，从而变成蜱虫感染相关疾病的易感人群 [15]。

本研究采集蜱虫 267 只，其中全部为长角血蜱，表明该地区媒介蜱的优势蜱种为长角血蜱。采用 PCR 的方法检测 163 只蜱虫，检出 5 种病原体，分别为嗜吞噬细胞无形体、立克次体、新型布尼亚病毒、巴尔通体以及巴贝西原虫。其中嗜吞噬细胞无形体阳性携带率最高为 61.35%，其次依次为立克次体阳性率 18.40%，新型布尼亚病毒阳性率 3.07%，巴尔通体阳性率 2.45%，最低的为巴贝西原虫阳性率为 0.61%。我们的研究提示长角血蜱也是该地区蜱媒传染病主要传播媒介之一。

本次通过对秦岭地区蜱虫携带病原体进行检测调查，共发现了 4 种类型的双重混合感染，混合感染率为 12.27%，研究显示最常见的混合感染为立克次体与嗜吞噬细胞无形体混合感染。混合感染是指两种或两种以上的病原体同时或者先后侵入同一机体造成的共同感染 [16]。我们知道蜱虫可以携带多种蜱传病原体，通过叮咬将这些病原体传染易感人群。而混合感染的病原体往往通过协同作用可以影响疾病的发生、发展以及预后，从而导致疾病不同的严重程度，影响临床治疗 [4] [15]。

秦岭地区地形复杂、植被覆盖率高、生态物种丰富，是蜱媒传染病的自然疫源地。本次调查结果提示该地区蜱虫携带多种病原体，是人和动物诸多重要疾病的传播媒介，对进入该地区旅游或周边生活的人员存在潜在感染蜱媒的危害，因此有必要加强对这些蜱传疾病的防控。

#### 参考文献

- [1] Fang, L.Q., Liu, K., Li, X.L., Liang, S., Yang, Y., Yao, H.W., *et al.* (2015) Emerging Tick-Borne Infections in Mainland China: An Increasing Public Health Threat. *The Lancet. Infectious Diseases*, **15**, 1467-1479. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00177-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00177-2)
- [2] Wu, X.B., Na, R.H., Wei, S.S., Zhu, J.S. and Peng, H.J. (2013) Distribution of Tick-Borne Diseases in China. *Parasites & Vectors*, **6**, 119. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-119>
- [3] Yamaoka, S., Weisend, C. and Ebihara, H. (2020) Identifying Target Cells for a Tick-Borne Virus That Causes Fatal Hemorrhagic Fever. *The Journal of Clinical Investigation*, **130**, 598-600. <https://doi.org/10.1172/JCI134512>

- [4] 田冰, 邓宝成. 蜱媒传染病相关病原体混合感染[J]. 中国人兽共患病学报, 2018, 34(9): 5.
- [5] Yu, Z., Wang, H., Wang, T., Sun, W., Yang, X. and Liu, J. (2015) Tick-Borne Pathogens and the Vector Potential of Ticks in China. *Parasites & Vectors*, **8**, 24. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0628-x>
- [6] 于天, 韩金成, 王洋, 梁喜植, Seong-Yoon Kim, 杜宏鑫, 等. 吉林省东部山区蜱种分布及蜱传病原概况[J]. 动物医学进展, 2023, 44(5): 108-112.
- [7] 柳小青, 郑卫青, 付仁龙, 陶卉英, 刘仰青, 马红梅, 等. 江西省环鄱阳湖地区蜱传病原体感染情况调查[J]. 中华卫生杀虫药械, 2020, 26(2): 7.
- [8] Guo, W.P., Xie, G.C., Xue, Z.Q., Yu, J.J., Jian, R., Du, L.Y. and Li, Y.N. (2020) Molecular Detection of Hepatozoon Canis in Dogs and Ticks in Shaanxi Province, China. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **72**, Article No. 101514. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101514>
- [9] Li, J., Chen, Z.H., Jiang, L., Wu, C.Y., Liao, S.Q., Lin, X.H., Xiang, R., Lyu, M.N., Qi, N.S., Zhang, J.F., Chen, Q.L. and Sun, M.F. (2018) Characterization of Cattle-Origin Ticks from Southern China. *Acta Tropica*, **187**, 92-98. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.07.025>
- [10] Jia, N., Wang, J., Shi, W., Du, L., Sun, Y., Zhan, W., et al. (2020) Large-Scale Comparative Analyses of Tick Genomes Elucidate Their Genetic Diversity and Vector Capacities. *Cell*, **182**, 1328-1340.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.023>
- [11] Shao, J.W., Zhang, X.L., Li, W.J., Huang, H.L. and Yan, J. (2020) Distribution and Molecular Characterization of Rickettsiae in Ticks in Harbin Area of Northeastern China. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **14**, e0008342. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008342>
- [12] Li, L.-H. and Zhang, Y. (2019) Epidemic Status and Control of Tick-Borne Parasitic Diseases in China. *Chinese Journal of Schistosomiasis Control*, **31**, 58-62.
- [13] Guo, W.P., Huang, B., Zhao, Q., Xu, G., Liu, B., Wang, Y.H. and Zhou, E.M. (2018) Human-Pathogenic Anaplasma spp., and Rickettsia spp. in Animals in Xi'an, China. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **12**, e0006916. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006916>
- [14] Yang, X., Gao, Z., Zhou, T., Zhang, J., Wang, L., Xiao, L., Wu, H. and Li, S. (2020) Mapping the Potential Distribution of Major Tick Species in China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**, 5145. <https://doi.org/10.3390/ijerph17145145>
- [15] 周明浩, 陈红娜. 我国新发蜱媒病原体研究概述[J]. 中华卫生杀虫药械, 2019, 25(3): 6.
- [16] 程成, 黄洋, 鞠文东, 王艳梅, 徐宁, 耿聪, 等. 黑龙江口岸蜱携带斑点热群立克次体及嗜吞噬细胞无形体复合感染调查[J]. 口岸卫生控制, 2019(2): 7.