

# 高通量组学技术在尘螨研究中的应用进展

刘娜娜<sup>1</sup>, 崔玉宝<sup>2</sup>, 叶林华<sup>1</sup>, 黄路圣<sup>1\*</sup>

**【提要】** 尘螨是全球最常见的吸入性变应原之一。近 20 年来, 尘螨过敏的患病率呈上升趋势。随着后基因组时代的到来, 生命科学研究进入到系统、全面、动态的探索阶段。高通量组学采用测序技术从基因、蛋白质等层面对样品进行全面系统的分析和数据挖掘, 解释生物学过程的内在机制。本文对尘螨基因组、转录组、蛋白质组、微生物组等 4 个方面的进展进行综述, 为进一步深入研究尘螨过敏原与过敏性疾病、开发新的防治策略提供思路。

**【关键词】** 尘螨; 过敏原组学; 基因组; 转录组; 蛋白质组; 微生物组

中图分类号: R384.429 文献标识码: A

## Applications of high-throughput omics technology in research on dust mite

LIU Na-na<sup>1</sup>, CUI Yu-bao<sup>2</sup>, YE Lin-hua<sup>1</sup>, HUANG Lu-sheng<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> Taixing People's Hospital Affiliated to Bengbu Medical College, Taizhou 225400, China; <sup>2</sup> Department of Clinical Laboratory, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China)

**【Abstract】** House dust mites are one of the most common inhaled allergens worldwide. Since the last 20 years, the prevalence of dust mite allergy has shown a trend of increase. With the advent of the post-genome age, research in life sciences has entered a new stage of systematic, comprehensive and dynamic exploration. High-throughput omics technology has been applied to comprehensively analyze samples at the gene and/or protein levels by sequencing for data mining, and interpreting intrinsic mechanisms of biological processes. This paper reviews the advance in application of high-throughput omics in the genomics, transcriptomics, proteomics and microbiology of dust mites, providing ideas for further research on dust mite allergens and allergic diseases and for the development of new control strategies.

**【Key words】** House dust mite; Allergenomics; Genome; Transcriptom; Proteom; Microbiome

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. NSFC81971511, No. NSFC31572319), the 333 Project of Jiangsu Province in 2017 (No. BRA2017216), the Major Program of Wuxi Health and Family Planning Commission (No. Z201701) and the Primary Research & Development Plan of Jiangsu Province (No. BE2018627)

\* Corresponding author, E-mail: huanglusheng@sina.cn

尘螨呈世界性分布, 属节肢动物门 (Arthropoda) 蛛形纲 (Arachnida) 蜱螨亚纲 (Acari) 疥螨目 (Sarcoptiformes) 羽螨总科 (Analgoidea) 无气门股 (Astigmatina) 麦食螨科 (Pyroglyphidae) 的一类微小动物, 体型微小。狭义上的尘螨系指麦食螨科螨

类。常见螨种为屋尘螨 (*Dermatophagoides pteronyssinus*)、粉尘螨 (*D. farina*) 及梅氏嗜霉螨 (*Euroglyphus maynei*)。尘螨的分泌物、尸体分解物及其排泄物等都可以引发能诱发 I 型超敏反应如荨麻疹、过敏性鼻炎、哮喘、皮炎等<sup>[1-2]</sup>。用 13 种常

**基金项目:** 国家自然科学基金 (No. NSFC81971511, No. NSFC31572319); 江苏省第五期“333 工程”科研项目 (No. BRA2017216); 江苏省重点研发计划 (No. BE2018627); 无锡市卫计委重大课题 (No. Z201701)

**作者单位:** 1 蚌埠医学院附属泰兴市人民医院, 泰州 225400; 2 南京医科大学附属无锡市人民医院检验科, 无锡 214023

**作者简介:** 刘娜娜 (1991-), 硕士研究生, 医师, 从事尘螨与过敏性疾病研究。E-mail: 876636493@qq.com

\* 通讯作者, 黄路圣, E-mail: huanglusheng@sina.cn

**网络出版时间:** 2020-09-10 11:25

**网络出版路径:** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1248.R.20200908.1618.002.html>

见的空气过敏原对我国 4 个地区 17 个城市的 6 304 例哮喘和鼻炎患者进行皮肤点刺试验结果显示, 粉尘螨阳性率为 59.0%, 屋尘螨阳性率为 57.6%, 热带无爪螨 (*Blomia tropicalis*) 阳性率为 40.7%<sup>[3]</sup>。在儿童中, 尘螨引起的过敏性哮喘占哮喘患者总数的 80%; 在成年人中, 约 50% 的哮喘患者对尘螨过敏<sup>[4]</sup>。尘螨过敏原按其发现的先后顺序依次分为第 1 组分、第 2 组分……截止 2019 年 8 月, WHO 和国际免疫学会联合会 (IUIS) 授权的过敏原命名委员会网站 (<http://www.allergen.org/>) 已公布了麦食螨过敏原 39 个组分, 其中第 1、2 组分 (Der p 1、Der f 1 和 Der p 2、Der f 2) 是主要组分。随着大数据时代的到来, 利用高通量技术研究过敏原成为可能。本文通过对尘螨基因组、转录组、蛋白质组与微生物组的研究进展进行综述, 在各种螨同源搜索的基础上, 鉴定出尘螨过敏原新的组分, 为进一步开发组分分辨诊断试剂、免疫治疗新型制剂等奠定基础。

## 1 高通量组学在尘螨过敏原组学研究中的应用

Yagami 等<sup>[5]</sup>通过应用蛋白质组学技术对乳胶中的潜在过敏原进行识别验证, 证实了运用蛋白质组学的方法研究过敏原是一种快速全面分析潜在过敏原的有效方法, 并首次将过敏原和蛋白质两个单词进行整合, 产生了过敏原组学的概念。过敏原组学通过双向凝胶电泳 (two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE) 分离过敏原粗提浸液, 然后用患者血清进行免疫印迹, 鉴定出 IgE 结合蛋白点, 再经质谱分析鉴定, 数据库比对, 一次可以鉴定出多个过敏原组分。

过敏原组学具有通量高、覆盖面广和快速灵敏等特点, 成为快速、有效、全面分析 IgE 相互作用蛋白的关键技术。过敏原组学首先从致敏物质中提取蛋白质, 然后进行 2-DE 分离。利用固定化的 pH 梯度凝胶, 根据蛋白的等电点, 首先用电聚焦分离蛋白。根据蛋白质的相对分子质量 ( $M_r$ ), 通过 SDS-PAGE 将其分离。这种双向扩散的蛋白质随后被转移到膜上, 并与患有过敏性疾病患者的血清发生反应。然后, 特异性地与 IgE 抗体相互作用的抗原被检测出来。参照免疫印迹的结果, 免疫球蛋白相互作用的斑点可以从染色或荧光染色的 2-DE 中提取出来。

在蛋白质组学分析中, 蛋白质的鉴定是通过质谱 (mass spectrometric, MS) 方法完成的。用胰蛋白酶消化蛋白质并进行 MS 鉴定主要有两种方法:

一是肽质量指纹图谱, 二是肽序列分析。肽质量指纹图谱通常采用基质辅助激光解吸-飞行时间质谱仪分析, 而肽序列分析采用串联质谱 (MS/MS mass spectrometry/mass spectrometry)。蛋白质组学研究中蛋白质分离的标准方法为 2-DE。

## 2 高通量组学技术在尘螨基因组研究中的应用

### 2.1 全基因组

基因组测序通常使用 PacBio Sequel、Illumina HiSeq 2000 及 Thermo Ion Torrent 等测序技术。基于 Illumina 数据的 Phusion 或 SOAP de novo 组装及基于 PacBio 数据的主基因组组装等技术在尘螨研究取得较多进展。Chan 等<sup>[6]</sup>对粉尘螨基因组进行高通量测序和从头组装, 获得的粉尘螨基因组大小为 53.5 Mb, 包含 516 个核基因支架和 14.3 kb 的线粒体基因组。用核心真核基因定位方法 (core eukaryotic genes mapping approach, CEGMA) 估算, 该基因组的完整性为 97.58%<sup>[7]</sup>。Randall 等<sup>[8]</sup>对屋尘螨进行 PacBio 和 Illumina 全基因组测序, 重新组装获得的屋尘螨基因组大小为 52.5 Mb, 包含 834 个重叠群, N50 长 376 kb。依据 N50 测量结果, 用 CEGMA 评估该基因组的完整性为 97.7% (2 686/2 748)<sup>[9]</sup>。该基因组还确认了 19 个已经公布的过敏原序列, 获得 12 个与粉尘螨过敏原同源序列。通过与粉尘螨全基因组比较, 发现 12 条未报道的过敏原基因序列, 即第 16、22 和 24~34 组分。比较基因组学分析显示, 大多数过敏原基因在真螨目各螨种中的同源性较高。Rider 等<sup>[10]</sup>通过基因大小评估工具 Kmer Genie 对梅氏嗜霉螨基因组大小进行估算, 获得梅氏嗜霉螨的基因组大小为 59 Mb, N50 为 480 nt。该基因组可预测 15 000 个蛋白。Waldron 等<sup>[11]</sup>通过 dipSPAdes 1.0 重新组装获得的屋尘螨基因组, 大小约为 70.76 Mb, 包括 322 个支架, N50 长 450 436 bp, L50 为 33 个支架, GC 含量为 30.93%。通过从头开始基因预测法定位了 39 种已知的螨过敏原的全长基因序列, 包括螨类过敏原组分 1~11、13~16、18 和 20~33<sup>[6,12]</sup>。Liu 等<sup>[13]</sup>通过重新组装获得屋尘螨的基因组, 大小为 66.8 Mb, 包含 1 390 个重叠群、634 个支架, N50 长 194 kb, N50 长 80 kb。而用第三代测序组装工具 Canu 对屋尘螨基因组进行组装获得的屋尘螨基因组大小为 68.0~72.5 Mb<sup>[14]</sup>。因此, Liu 等<sup>[13]</sup>组装的屋尘螨基因组最多占 Canu 方法组装屋尘螨基因组的 98.2%。使用普通通用的单拷贝直系同源测试对 Liu 等<sup>[13]</sup>组装的屋尘螨基因组的完整性进行评估, 结果表明,

该基因组包含了 90.4% 单拷贝同源基因, 其中 949 个单拷贝同源基因是完整的。该基因组还解析了 Der p 1~36 组分。因此, 基因组学研究将使研究人员能够更好地对螨虫暴露的总体情况进行分类, 有助于更好地理解可耐受蛋白和致敏蛋白。各种螨的基因组数据结果见表 1。

## 2.2 转录组

转录组主要通过 RNA 测序和从头组装进行分析。转录组测序数据使用 Trinity 进行拼接, 拼接后的转录本使用 GeneMark-ES 和 GlimmerHMM 对注释进行细化。Cui 等<sup>[15]</sup>以腐食酪螨 (*Tyrophagus putrescentiae*) 转录组预测的蛋白为数据库, 从蛋白质组学数据中获得所有匹配的肽段, 然后对肽段和蛋白进行鉴定, 发现了 3 种新过敏原, 分别为 Tyrp28、Tyr p 35、Tyr p 36 (WHO/IUIS 官网命名)。Bordas-Le 等<sup>[16]</sup>使用 454 测序技术和 Illumina 测序技术对粉尘螨和屋尘螨 mRNA 进行测序、从头组装, 分别得到 161 429 和 156 174 个重叠群; 通过对屋尘螨 mRNA 和粉尘螨 mRNA 进行编码序列预测, 分别获得 143 369 和 37 585 条编码序列; 对获得的编码序列进行翻译、注释后分别得到 79 890 和 21 696 个基因; 通过该粉尘螨和屋尘螨转录组数据预测获得 2 种新的过敏原, 由 IUIS 命名为 Der f 36 和 Der p 36。Zhou 等<sup>[17]</sup>通过对热带无爪螨进行 RNA 测序、从头组装, 获得转录组的总长度为 62 406 675 bp, 包含 68 658 个转录本。根据转录组分析中的功能注释预测、RT-PCR 验证发现 3 个水通道蛋白亚群, 分别为水通道蛋白、水甘油通道蛋白和超水通道蛋白。转录组学方法如 RNA 测序可以揭示信使 RNA 分子的全部补体, 而 RNA 测序数据的重新组装可以使基因研究不需要基因组序列<sup>[18]</sup>。转录组学方法的使用为推进对尘螨基因组的深入分析提供了可能。

## 3 高通量组学技术在尘螨蛋白质组研究中的应用

国内也有运用蛋白质组学技术研究寄生虫的文献<sup>[19-20]</sup>。目前蛋白质组学技术在尘螨研究中应用,

主要通过 SDS-PAGE、免疫印迹、液相质谱法 (liquid chromatography, LC)、MS、2-DE 等技术来实现。An 等<sup>[21]</sup>采用 2-DE 和免疫印迹相结合的方法, 从粉尘螨提取物中分离出 17 种过敏原, 分属 12 个不同的组, 其中 8 个是首次报道的粉尘螨过敏原, 分别是 Der f 20、Der f 8、Der f 25~30。其中, Der f 25、Der f 28、Der f 29 和 Der f 30 与尘螨过敏患者的血清 IgE 结合率分别为 75.6% (31/41)、68.3% (28/41)、85.6% (35/41) 和 63.4% (26/41)。Choopong 等<sup>[22]</sup>通过 SDS-PAGE、LC-MS/MS 并结合数据库检索, 从粉尘螨体提取物鉴定出 105 个蛋白, 分属 7 个功能不同的组, 即过敏原、结构成分、酶、酶抑制剂、受体蛋白、转运蛋白和结合或者调节细胞信号蛋白; 而通过 2DE-免疫印迹检测出 63 个能与粉尘螨过敏患者血清结合的蛋白, 其中 3 个与 IgE 结合率 > 50% [Der f 10 (75%)、乌头酸水合酶 (70%) 和未知蛋白 (55%)], 被认为是过敏原主要组分。Bordas-Le 等<sup>[16]</sup>通过 LC-MS/MS 从粉尘螨和屋尘螨的虫体中分别鉴定出 326 和 201 个蛋白质, 从其粪便提取物中分别鉴定出 80 和 77 个蛋白质; 根据序列相似性一次性鉴定出 13 个未报道过屋尘螨过敏原, 且屋尘螨和粉尘螨均含有  $M_r$  为 23 000 的 IgE 结合蛋白 (由官方命名为 Der f 36 和 Der p 36)。蛋白质组学研究技术对尘螨所致疾病的早期诊断、预后判断和疾病的进展监测至关重要。

## 4 高通量组学技术在尘螨与微生物组关系研究中的应用

Chan 等<sup>[6]</sup>通过对粉尘螨基因组高通量测序、与微生物数据库的比对, 分离出 100 多个生物物种的 112 000 微生物基因序列。71 000 条基因序列来自肠杆菌属, 主要是阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 和肠杆菌 (*E. hormaechei*), 共占 63.4%; 其次为葡萄球菌 (*Staphylococcus*) 和埃希菌 (*Escherichia*), 分别占 17.8% 和 4.9%; 最少为巴尔通

表1 各种螨的基因组数据

种名	拉丁文	基因组大小/Mb	支架 N50	支架	预测蛋白数	基因组 NCBI 登录号	参考文献
粉尘螨	<i>Dermatophagoides farina</i>	53.5	187 kb	515	16 376	GCA_000767015.1	[6]
屋尘螨	<i>D. pteronyssinus</i>	52.5	376 kb	834	19 368	-	[8]
梅氏嗜霉螨	<i>Euroglyphus maynei</i>	59	480 nt	-	15 000	-	[10]
屋尘螨	<i>D. pteronyssinus</i>	70.76	450 kb	332	-	GCA_001901225.2	[11]
屋尘螨	<i>D. pteronyssinus</i>	66.8	80 kb	634	-	GCA_003076615.1	[13]

注: - 无数据



体属 (*Bartonella*), 占 1.7%。Chan 等<sup>[6]</sup>还通过免疫组化实验证明肠杆菌在粉尘螨肠道中大量存在。

16S rRNA 测序是研究尘螨微生物菌落的重要手段。Kim 等<sup>[23]</sup>采用 PCR 扩增粉尘螨定殖菌 16S rRNA 的 V3~V4 区域, 利用 Illumina MiSeq 平台进行下一代测序 (next-generation sequencing, NGS), 测序后通过 3 种不同的生物学方法对微生物组数据进行分析, 发现粉尘螨中的微生物主要是肠球菌 (*Enterococcus*) 和巴尔通体属。已确定粉尘螨和屋尘螨中都存在胞内共生菌 *cardinium*<sup>[24-25]</sup>。*cardinium* 是一类近几年才被关注和发现的共生菌, 属于拟杆菌门的一个独立分支, 同沃尔巴克氏体一样可以通过细胞质遗传。关于 *cardinium* 共生的基因组分析表明, *cardinium* 与宿主之间存在营养上的相互作用, 如生物素的生物合成<sup>[26-27]</sup>。Hubert 等<sup>[28]</sup>发现 *cardinium* 在粉尘螨微生物组中有大量的序列, 但在韩国的粉尘螨种群中无 *cardinium* 的报道<sup>[23]</sup>。在最近的一项研究中, 粉尘螨全基因组鸟枪测序显示, 粉尘螨微生物中最丰富的菌群是肠杆菌属<sup>[6]</sup>。而 Valerio 等<sup>[29]</sup>研究发现巴尔通体属是粉尘螨中最丰富的微生物。Erban 等<sup>[30]</sup>通过对腐食酪螨的 16S rRNA 的 V1~V3 区域进行扩增、测序、qPCR 定量, 发现腐食酪螨微生物菌落包括沃尔巴克氏体、*cardinium*、*solitalea* 类细菌和巴尔通氏类细菌 (*Blattabacterium-like*)。通过对尘螨微生物组菌群的研究, 知道尘螨的核心菌群, 为研究微生物在尘螨引起疾病中的作用奠定基础。

## 5 结 语

尘螨在世界上广泛分布, 对人类的生活和健康造成严重的影响。目前, 对尘螨过敏原及其所致的过敏性疾病的研究越来越多, 一些新的过敏原及其亚型正在等待被发现。基于对尘螨基因组、转录组、蛋白质组和微生物组研究, 不仅有助于发现新的过敏原, 还丰富了已知尘螨过敏原的亚型及其组分的鉴定, 为尘螨所致疾病的机制研究提供帮助, 为解决尘螨过敏性疾病的早期诊断、免疫治疗和预防提供资料。

**伦理批准和患者知情同意** 本文不涉及伦理批准和患者知情同意。

**出版授权** 作者同意以纸质版和网络版的形式同时出版。

**数据和材料的可及性** 本文中的所有参考文献如有需要, 可与刘娜娜联系。

**利益冲突** 作者声明无利益冲突。

**作者贡献** 刘娜娜负责文献收集和文章撰写, 崔玉宝、黄路圣、叶林华负责文章修改。

## 参 考 文 献

- [1] Banerjee S, Resch Y, Chen KW, et al. Der p 11 is a major allergen for house dust mite-allergic patients suffering from atopic dermatitis [J]. J Invest Dermatol, 2015, 135(1): 102-109.
- [2] He XM, Shao C, Wei QY. Progress in sensitized protein components and subcutaneous specific immunotherapy for dust mites[J]. Int J Pediatrics, 2019(3): 198-202. (in Chinese) (何雪梅, 邵婵, 魏庆宇. 尘螨致敏蛋白组份及其皮下特异性免疫治疗的研究进展[J]. 国际儿科学杂志, 2019, 46(3): 198-202.)
- [3] Li J, Sun B, Huang Y, et al. A multicentre study assessing the prevalence of sensitizations in patients with asthma and/or rhinitis in China[J]. Allergy, 2009, 64(7): 1083-1092.
- [4] Hui Y, Li L, Qian J, et al. Efficacy analysis of three-year subcutaneous SQ-standardized specific immunotherapy in house dust mite-allergic children with asthma [J]. Exp Ther Med, 2014, 7(3): 630-634.
- [5] Yagami T, Haishima Y, Tsuchiya T, et al. Proteomic analysis of putative latex allergens [J]. Int Arch Allergy Immunol, 2004, 135(1): 3-11.
- [6] Chan TF, Ji KM, Yim AK, et al. The draft genome, transcriptome, and microbiome of *Dermatophagoides farinae* reveal a broad spectrum of dust mite allergens[J]. J Allergy Clin Immunol, 2015, 135(2): 539-548.
- [7] Parra G, Bradnam K, Korf I. CEGMA: a pipeline to accurately annotate core genes in eukaryotic genomes[J]. Bioinformatics, 2007, 23(9): 1061-1067.
- [8] Randall TA, Mullikin JC, Mueller GA. The draft genome assembly of *Dermatophagoides pteronyssinus* supports identification of novel allergen isoforms in *Dermatophagoides* species [J]. Int Arch Allergy Immunol, 2018, 175(3): 136-146.
- [9] Miller JR, Koren S, Sutton G. Assembly algorithms for next-generation sequencing data[J]. Genomics, 2010, 95(6): 315-327.
- [10] Rider SD Jr, Morgan MS, Arlian LG. Allergen homologs in the *Euroglyphus maynei* draft genome [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183535.
- [11] Waldron R, McGowan J, Gordon N, et al. Draft genome sequence of *Dermatophagoides pteronyssinus*, the European house dust mite[J]. Genome Announc, 2017, 5(32): e00789-e00717.
- [12] Rider SD Jr, Morgan MS, Arlian LG. Draft genome of the *Scabies* mite[J]. Parasit Vectors, 2015, 8: 585.
- [13] Liu XY, Yang KY, Wang MQ, et al. High-quality assembly of *Dermatophagoides pteronyssinus* genome and transcriptome reveals a wide range of novel allergens [J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(6): 2268-2271.
- [14] Koren S, Walenz BP, Berlin K, et al. Canu: scalable and accurate long-read assembly via adaptive *k*-mer weighting and repeat separation[J]. Genome Res, 2017, 27(5): 722-736.
- [15] Cui Y, Yu L, Teng F, et al. Transcriptomic/proteomic identification of allergens in the mite *Tyrophagus putrescentiae* [J]. Allergy, 2016, 71(11): 1635-1639.
- [16] Bordas-Le Floch V, Le Mignon M, Bussi eres L, et al. A combined transcriptome and proteome analysis extends the allergome of house dust mite *Dermatophagoides* species [J]. PLoS One, 2017, 12(10): e0185830.
- [17] Zhou Y, Li L, Qian J, et al. Identification of three aquaporin subgroups from *Blomia tropicalis* by transcriptomics[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(6): 3551-3561.
- [18] Haas BJ, Papanicolaou A, Yassour M, et al. De novo tran-

- script sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis [J]. Nat Protoc, 2013, 8(8): 1494-1512.
- [19] Zhao QP, Jiang MS. Proteomics and its application in parasitology [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2006, 24 (2): 136-139. (in Chinese)  
(赵琴平, 蒋明森. 蛋白质组学及其在寄生虫学研究中的应用 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24(2): 136-139.)
- [20] He DG. Proteomics and its application in the research of parasitology [J]. Chin Trop Med, 2003, 3(4): 507-512. (in Chinese)  
(何东苟. 蛋白质组学研究及其在寄生虫学上的应用 [J]. 中国热带医学, 2003, 3(4): 507-512.)
- [21] An S, Chen LL, Long CB, *et al.* *Dermatophagoides farinae* allergens diversity identification by proteomics [J]. Mol Cell Proteomics, 2013, 12(7): 1818-1828.
- [22] Choopong J, Reamtong O, Sookrung N, *et al.* Proteome, allergenome, and novel allergens of house dust mite, *Dermatophagoides farinae* [J]. J Proteome Res, 2016, 15(2): 422-430.
- [23] Kim JY, Yi MH, Hwang Y, *et al.* 16S rRNA profiling of the *Dermatophagoides farinae* core microbiome: *Enterococcus* and *Bartonella* [J]. Clin Exp Allergy, 2018, 48(5): 607-610.
- [24] Hubert J, Kopecký J, Perotti MA, *et al.* Detection and identification of species-specific bacteria associated with synanthropic mites [J]. Microb Ecol, 2012, 63(4): 919-928.
- [25] Kopecky J, Perotti MA, Nesvorna M, *et al.* Cardinium endosymbionts are widespread in synanthropic mite species (Acari: Astigmata) [J]. J Invertebr Pathol, 2013, 112(1): 20-23.
- [26] Santos-Garcia D, Rollat-Farnier PA, Beitia F, *et al.* The genome of Cardinium cBtQ1 provides insights into genome reduction, symbiont motility, and its settlement in *Bemisia tabaci* [J]. Genome Biol Evol, 2014, 6(4): 1013-1030.
- [27] Penz T, Schmitz-Esser S, Kelly SE, *et al.* Comparative genomics suggests an independent origin of cytoplasmic incompatibility in cardinium hertigii [J]. PLoS Genet, 2012, 8(10): e1003012.
- [28] Hubert J, Nesvorna M, Kopecky J, *et al.* Population and culture age influence the microbiome profiles of house dust mites [J]. Microb Ecol, 2019, 77(4): 1048-1066.
- [29] Valerio CR, Murray P, Arlian LG, *et al.* Bacterial 16S ribosomal DNA in house dust mite cultures [J]. J Allergy Clin Immunol, 2005, 116(6): 1296-1300.
- [30] Erban T, Ledvinka O, Nesvorna M, *et al.* Experimental manipulation shows a greater influence of population than dietary perturbation on the microbiome of *Tyrophagus putrescentiae* [J]. Appl Environ Microbiol, 2017, 83(9): e00128-e00117.  
(收稿日期: 2020-02-28 编辑: 陈勤)
- 
- (上接第 641 页)
- genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* in Hungary [J]. Vet Parasitol, 2010, 174(3/4): 241-246.
- [50] Umhang G, Karamon J, Hormaz V, *et al.* A step forward in the understanding of the presence and expansion of *Echinococcus multilocularis* in eastern Europe using microsatellite EmsB genotyping in Poland [J]. Infect Genet Evol, 2017, 54:176-182.
- [51] Knapp J, Umhang G, Wahlstr MH, *et al.* Genetic diversity of *Echinococcus multilocularis* in red foxes from two Scandinavian countries: Denmark and Sweden [J]. Food Waterborne Parasitol, 2019, 14: e00045.
- [52] Knapp J, Staebler S, Bart JM, *et al.* *Echinococcus multilocularis* in Svalbard, Norway: microsatellite genotyping to investigate the origin of a highly focal contamination [J]. Infect Genet Evol, 2012, 12(6): 1270-1274.
- [53] Knapp J, Bart JM, Maillard S, *et al.* The genomic *Echinococcus* microsatellite EmsB sequences: from a molecular marker to the epidemiological tool [J]. Parasitology, 2010, 137 (3): 439-449.
- [54] Knapp J, Gottstein B, Bretagne S, *et al.* Genotyping *Echinococcus multilocularis* in human alveolar echinococcosis patients: an EmsB microsatellite analysis [J]. Pathogens, 2020, 9(4): E282.
- [55] Knapp J, Damy S, Brillaud J, *et al.* EWET: data collection and interface for the genetic analysis of *Echinococcus multilocularis* based on EmsB microsatellite [J]. PLoS One, 2017, 12(10): e0183849.
- [56] Hu HH, Wu WP. Factors affecting the endemic intensity of echinococcosis [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2010, 28(1): 58-61. (in Chinese)  
(胡欢欢, 伍卫平. 影响棘球蚴病流行程度的因素 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2010, 28(1): 58-61.)  
(收稿日期: 2020-01-09 编辑: 陈勤)