

DOI:10.13350/j.cjpb.220224

• “一带一路”专题研究 •

# 中越边境部分地区蚊虫种类及重要虫媒传染病带毒率调查\*

吴艳琴<sup>1</sup>,周友华<sup>1</sup>,周红宁<sup>1,2</sup>,唐烨榕<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 昆明医科大学公共卫生学院,云南昆明 650500;2. 云南省虫媒传染病防控研究重点实验室,云南省虫媒传染病防控关键技术创新团队(培育),云南省寄生虫病防治所)

**【摘要】** **目的** 调查中越边境地区文山州富宁县蚊虫种类构成及其带毒率,为当地制定有效虫媒传染病防控措施提供依据。 **方法** 选择中越边境地区富宁县3个村作为调查点,采用灯诱法通宵诱捕蚊虫,对所捕蚊虫进行分类、计数,并采用RT-PCR方法检测重要虫媒传染病感染情况。 **结果** 共捕获蚊虫2亚科4属10种6145只,其中中华按蚊(2409只,39.20%)、骚扰阿蚊(2094只,34.08%)和三带喙库蚊(1519只,24.72%)属当地优势蚊种。经黄病毒属、甲病毒属、布尼亚病毒属通用引物及乙型脑炎病毒和版纳病毒特异性引物基因扩增及凝胶电泳检测,仅布尼亚病毒属阳性率3.26%(3/92),其余均为阴性。 **结论** 中越边境地区富宁县蚊虫种类丰富,中华按蚊、骚扰阿蚊和三代喙库蚊属当地优势蚊种,存在疟疾、乙型脑炎等重要虫媒传染病感染风险,当地相关部门应加强虫媒传染病监测。

**【关键词】** 蚊虫种类组成;优势蚊虫种类;虫媒病毒;中越边境地区

**【中图分类号】** R384.1

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2022)02-0236-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Feb;17(2):236-239.]

## Investigation of mosquito species composition and their carrying virus rates of important mosquito borne diseases in the part of border areas of China-Vietnam

WU Yan-qin<sup>1</sup>, ZHOU You-hua<sup>1</sup>, ZHOU Hong-ning<sup>1,2</sup>, TANG Ye-rong<sup>1,2</sup> (1. College of Public Health, Kunming Medical University, Kunming 650500, China; 2. Yunnan Provincial Key Laboratory of Vector-borne Diseases Control and Research & Yunnan Innovative Team of Key Techniques for Vector Borne Disease Control and Prevention (Developing) of Yunnan Institute of Parasitic Diseases)

**【Abstract】** **Objective** To study mosquito species composition and their carrying virus rates of important mosquito borne diseases in Funing County of Wenshan Prefecture in the border area of China-Vietnam, providing evidences for effective prevention and control measures of mosquito borne diseases. **Methods** Mosquitoes were collected by Light traps overnight in three villages of Funing County, the border area of China-Vietnam, and mosquito species were classified and counted; their infected viruses of important mosquito borne diseases were detected by RT-PCR. **Results** A total of 6145 individual mosquitoes were collected from 10 species of 4 genera in 2 subfamilies, of those *Anopheles sinensis* (2409, 39.20%), *Armigeres subalbatus* (2094, 34.08%) and *Culex tritaeniorhynchus* (1519, 24.72%) belonged to the dominant species. The positive rate of *Bunia virus* was 3.26% (3/92) and the rest were negative after amplification with General primers of flavivirus, alphavirus, Bunyavirus and specific primers of *Japanese encephalitis virus* and *Banna virus*.

**Conclusion** There were abundant mosquito species in Funing County in China-Vietnam border area, in which *Anopheles sinensis*, *Armigeres subarmigeres* and *Culex tritorhynchus* were local dominant mosquito species, and the results showed that Malaria, Japanese encephalitis and other important insect-borne diseases were at the higher risk in this area, and it was suggested that local authorities should strengthen the surveillance of mosquito-borne diseases.

**【Key words】** mosquito species composition; dominant mosquito species; arboviruses; the border area of China-Vietnam

\*\*\*疟原虫,黄病毒属(*Flavivirus*)的乙型脑炎病毒(Japanese encephalitis virus, JEV)、登革病毒(Dengue virus, DENV)、寨卡病毒(Zika Virus, ZIKV),甲病毒属(*Alphacoronavirus*)的基孔肯亚病毒(*Chikungunya virus*, CHIKV),呼肠孤病毒属(*Reoviridae*)的版纳病毒(*Banna virus*, BAV)和布尼亚病毒属(*Bunyavirus*)的巴泰病毒(*Batai virus*, BATV)所引起的重要虫媒传

\* **【基金项目】** 云南省重点研发计划项目(No. 202103AQ100001);国家自然科学基金项目(No. U1602223);云南省科技重大专项(No. 2017ZF007);澜湄合作专项基金项目(No. 2020399)。

\*\* **【通讯作者】** 唐烨榕, E-mail: tangyerong123@163.com

**【作者简介】** 吴艳琴(1994-),女,云南昭通人,在读硕士研究生,主要从事虫媒传染病防治研究。E-mail:823755238@qq.com

染病严重危害人类健康,而蚊虫是上述重要虫媒传染病的传播媒介,如中华按蚊(*Anopheles sinensis*)、微小按蚊(*Anopheles minimus*)、三带喙库蚊(*Culex tritaeniorhynchus*)、白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)和埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)等<sup>[1-6]</sup>。疟疾、登革热、基孔肯尼亚热和寨卡等蚊媒传染病在云南边境地区时有发生,开展云南边境地区蚊媒及其重要虫媒传染病感染情况的调查,对当地蚊媒传染病的防控具有重要意义<sup>[7-10]</sup>。

富宁县位于云南南部(东经 105.63°,北纬 23.62°),且与上述重要虫媒传染病流行严重的越南相邻,属典型的亚热带季风气候,适宜蚊虫孳生繁衍,历史上属于云南疟疾和乙型脑炎流行较为严重地区<sup>[11-14]</sup>。为了解富宁县蚊虫种类组成及其重要虫媒病病毒性传染病带毒情况,2021年8月作者对该地区进行了调查。

## 材料及方法

### 1 现场调查点选择

现场调查点选择在富宁县里达镇瓦蚌村(人口数 302 人,东经 105.55°,北纬 23.56°),板仑乡谷里村(人口数 182 人,东经 105.74°,北纬 23.61°)和板仑乡瓦窑村(人口数 1 711 人,东经 105.69°,北纬 23.60°)。上述调查点周围植被主要为灌木丛,周围环境有河流、小溪、稻田等,居民饲养牛、猪、鸡等牲畜较为常见。

### 2 蚊虫采集

在上述调查点各选择 2 户居民,在所选居民庭院和猪圈内,采用诱蚊灯(型号:MYFS-HJY-1,东莞厚积电子科技有限公司),连续 3 晚通宵捕蚊(晚上 20:00 至次日晨 07:00)。所捕获蚊虫带回实验室冰冻至死后,进行分类、计数和分装(60-70 只/管),并置于液氮罐中保存。

### 3 虫媒病毒检测

**3.1 蚊虫处理** 蚊虫标本加入研磨液(1 ml/管)进行研磨,随后 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min,取上清液于-80 °C 保存备用。研磨液为 1640 培养基(Gibco 公司)+10%双抗(Biological industries 公司)。

**3.2 标本 RNA 提取** 使用核酸提取试剂盒(磁珠法)(西安天隆公司)进行标本 RNA 提取,得到的 RNA 于-80 °C 保存备用。

**3.3 逆转录** 使用 Hifair<sup>®</sup> 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(YEASEN 公司)进行逆转录。反应体系为:10 μl Mix+10 μl RNA 模板。反应条件:25 °C 5 min,42 °C 30 min,85 °C 5 min。

**3.4 PCR 扩增** PCR 扩增体系(25 μl):2×Go TaqR Green Master Mix(Promega 公司)12.5 μl,cDNA 模板 2 μl,正向和反向引物各 1 μl,ddH<sub>2</sub>O 8.5 μl。检测所用引物及反应条件来自于文献<sup>[15-17]</sup>(表 1)。

**3.5 电泳** PCR 扩增结束后,使用 1.5%的琼脂糖凝胶和 1%的 TAE 电泳液对 PCR 产物进行电泳,随后使用凝胶电泳成像系统观察有无目的条带。

表 1 重要传染性虫媒病毒属及种特异性引物信息

Table 1 Genus and species-specific primers of important infectious arboviruses

引物名称 Primer	序列(5'~3') Primer sequence	扩增长度(bp) Amplified fragment length	反应条件 Reaction conditions
黄病毒属(通用引物)	GCTGATGACACCGCCGGCTGGGACAC AGCATGTCTTCCGTGGTCATCCA YAGAGCDTTTTTCGAYSTRGCHW	850	
甲病毒属(通用引物)	ACATRAANKGNGTNGTRTCRAANC- GATACCTGAGTTGGAGTTTCATGAT-	434	94°C 3min; 94°C 30s, 55°C 30s, 72°C 30s, 35 个循环; 72°C 10min
布尼亚病毒属(通用引物)	GTCGC TGTTCCCTGTTGCCAGGAAAAT AAGATGCCACTTCCACAYCTC	251	
乙脑病毒(特异性引物)	AAGATGCCACTTCCACAYCTC	1663	94°C 3min; 94°C 30s, 55°C 30s, 72°C 50s, 35 个循环 72°C 10min
版纳病毒(特异性引物)	AAATTGATAGYGYTTGCGTAAGAG GTTCTAAATTGGATACGGCGTGC	845	94°C 3min; 94°C 30s, 55°C 40s, 72°C 60s, 35 个循环; 72°C 7min

## 结果

### 1 蚊虫种类组成

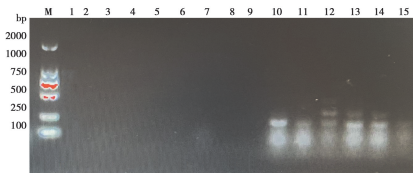
共采集蚊虫 2 亚科 4 属 10 种 6 145 只,其中中华按蚊(2 409 只,39.20%)、骚扰阿蚊(2 094,34.08%)和三带喙库蚊(1 519 只,24.72%)属当地优势蚊虫种类(表 2)。

### 2 蚊虫带毒率

92 份蚊虫样本经黄病毒属、甲病毒属、布尼亚病毒属、乙型脑炎病毒和版纳病毒检测后,仅 3 份三带喙库蚊样本在布尼亚病毒属引物扩增后出现阳性,阳性率为 3.26%(3/92),其余样本均为阴性(图 1)。

表 2 中越边境地区富宁县蚊虫种类构成  
Table 2 Composition of mosquito species in Funing County in the border area of China-Vietnam

蚊类 Species	谷里村(板仑乡) Guli(Banlun)		瓦窑村(里达镇) Wayao(Lida)		瓦蚌村(里达镇) Wabeng(Lida)		总计 Total	
	数量 Quantity (只)	构成比 percentage (%)	数量 Quantity (只)	构成比 percentage (%)	数量 Quantity (只)	构成比 percentage (%)	数量 Quantity (只)	构成比 percentage (%)
中华按蚊 <i>Anopheles sinensis</i>	1 251	51.93	1 023	42.47	135	5.60	2 409	39.20
迷走按蚊 <i>Anopheles vagus</i>	11	52.38	6	28.57	4	19.05	21	0.34
微小按蚊 <i>Anopheles minimus</i>	3	50.00	3	50.00	0	0.00	6	0.10
骚扰阿蚊 <i>Armigeres subalbatus</i>	1 032	49.28	163	7.78	899	42.93	2 094	34.08
黄色阿蚊 <i>Armigeres flavus</i>	3	50.00	3	50.00	0	0.00	6	0.10
三带喙库蚊 <i>Culex tritaeniorhynchus</i>	1 006	66.23	371	24.42	142	9.35	1 519	24.72
致倦库蚊 <i>Culex pipiens quinquefasciatus</i>	30	45.45	18	27.27	18	27.27	66	1.07
棕头库蚊 <i>Culex fuscocephala</i>	7	50.00	1	7.14	6	42.86	14	0.23
伪杂鳞库蚊 <i>Culex pseudovishnui</i> Colless	2	33.33	2	33.33	2	33.33	6	0.10
刺扰伊蚊 <i>Aedimorphus vexans</i>	3	75.00	0	0.00	1	25.00	4	0.07
合计 Total	3 348	54.48	1 590	25.87	1 207	19.64	6 145	100.00



M DNA 标记物 1 阴性对照 2-9,11-12,15 阴性样本 10、13、14 阳性样本

图 1 布尼亚病毒 PCR 扩增电泳结果

M DNA marker 1 Negative control 2-9,11-12,15 Negative samples 10,13,14 Positive samples

Fig. 1 Electrophoretogram of PCR amplification of Bunyavirus gene

## 讨论

本次在调查点共捕获蚊虫 2 亚科 4 属 10 种 6 145 只,其中以中华按蚊、骚扰阿蚊和三带喙库蚊为当地的优势蚊种,与 2015 年陈俊利等<sup>[18]</sup>和 2017 年高玉峰等<sup>[19]</sup>在中越边境地区河口县蚊虫种类调查结果基本相似;与 2011 年曹晓梅等<sup>[20]</sup>在中越边境地区东兴市的蚊虫种类调查结果也基本相似。上述调查结果提示,中越边境地区蚊虫种类较为丰富,其中存在大量的疟疾、乙型脑炎及其登革热等重要虫媒传染病媒介种类。

云南省是我国虫媒病毒种类最多的省份,已从蚊虫体内分离到黄病毒属乙型脑炎病毒和登革病毒,甲病毒属基孔肯亚病毒和盖塔病毒(Getah virus, GETV),呼肠孤病毒属版纳病毒,布尼亚病毒属巴泰病毒和阿卡斑病毒(Akabanne virus, AKV)等多种蚊媒病毒<sup>[21-24]</sup>。但本研究对富宁县采集的蚊虫标本携带虫媒病毒检测发现,仅 3 份三带喙库蚊样本呈现布尼亚病毒属病毒阳性,与 2007 年周涛等<sup>[25]</sup>在文山州的蚊媒带毒率调查结果,仅在库蚊中发现版纳病毒和浓核病毒,发现病毒种类较少的调查结果相似<sup>[17]</sup>;也与 1998 年陶三菊等<sup>[23]</sup>在滇西南澜沧县和思茅市的菲律

宾按蚊(*Anopheles philippinensis*)体内检测出布尼亚病毒属的巴泰病毒和 2015 年冯云等<sup>[24]</sup>在芒市和瑞丽市的三带喙库蚊和迷糊按蚊体内检测出布尼亚病毒属的阿卡斑病毒的结果相似。富宁县位于中越边境旅游贸易频繁的地区,有虫媒病毒传播的风险,建议对富宁县蚊虫携带布尼亚病毒属的病毒种类及病原学特征开展进一步研究,为当地虫媒病毒病的预防控制提供病原学依据<sup>[25]</sup>。

此外,鉴于富宁县历史上属于疟疾、乙型脑炎的重度流行区,并与疟疾、登革热、乙型脑炎等重要虫媒传染病流行严重的越南接壤,结合本次调查中发现该地区中华按蚊、三带喙库蚊和骚扰阿蚊为当地优势蚊种,且以往调查发现该地区白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)种群密度较高<sup>[19]</sup>,当地疟疾、乙型脑炎和登革热等重要虫媒传染病流行的风险较高,建议当地相关部门应加强上述重要蚊媒传染病的监测工作。

## 【参考文献】

- [1] Wang HY, Wu SQ, Jiang L, et al. Establishment and optimization of a liquid bead array for the simultaneous detection of ten insect-borne pathogens[J]. Parasit Vectors, 2018, 11(1):442.
- [2] Baud D, Musso D, Vouga M, et al. Zika virus: A new threat to human reproduction[J]. Am J Reprod Immunol, 2017, 77(2): 10.
- [3] Nyaruaba R, Mwaliko C, Mwau M, et al. Arboviruses in the East African Community partner states; a review of medically important mosquito-borne Arboviruses[J]. Pathog Global Health, 2019, 113(5):1-20.
- [4] Caraballo H, King K. Emergency department management of mosquito-borne illness: malaria, dengue, and West Nile virus[J]. Emerg Med Pract, 2014, 16(5):1-23.
- [5] 张海林, 梁国栋. 中国虫媒病毒和虫媒病毒病[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2012(05):377-380.
- [6] 田杰, 郭晓芳. 蚊传呼肠孤病毒研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2021, 37(8):10.

- [7] 米善军. 多维视角:云南省疟疾研究综述[J]. 保山学院学报, 2018, 37(04):10-19.
- [8] 李曼,周红宁. 云南登革病毒研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(9):4.
- [9] 田杰. 云南省瑞丽市不明原因发热病例七种蚊媒病毒分子流行病学调查[D]. 昆明医科大学, 2021.
- [10] Yin XX, Hu TS, Zhang HL, et al. Emergent chikungunya fever and vertical transmission in Yunnan Province, China, 2019[J]. Arch Virol, 2021;166(5):1455-1462.
- [11] 李华宪,陈国伟,杨沅川,等. 云南省 2001-2010 年疟疾流行现状与趋势[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2013(2):5.
- [12] 朱秋艳. 云南省流行性乙型脑炎发病危险因素及防控现状调查[D]. 昆明医科大学, 2017.
- [13] Kuwata R, Nga PT, Yen NT, et al. Surveillance of Japanese encephalitis virus infection in mosquitoes in Vietnam from 2006 to 2008[J]. Am J Trop Med Hyg, 2013, 88(4):681-688.
- [14] Manh CD, Beebe NW, Van VN, et al. Vectors and malaria transmission in deforested, rural communities in north-central Vietnam[J]. Malar J, 2010, 9 (1):259.
- [15] Sun X, Fu S, Gong Z, et al. Distribution of arboviruses and mosquitoes in northwestern Yunnan Province, China[J]. Vector-Borne Zoonotic Dis, 2009, 9(6):623.
- [16] Wang J, Zhang H, Sun X, et al. Distribution of mosquitoes and mosquito-borne arboviruses in Yunnan Province near the China-Myanmar-Laos border[J]. Am J Trop Med Hyg, 2011, 84(5):738-746.
- [17] 王剑,郭晓芳,鲍建忠,等. 云南楚雄 2014 年蚊媒及其病毒感染调查[J]. 中国人兽共患病学报, 2016, 32(6):8.
- [18] 陈俊利,孙肖红,张琼华,等. 云南河口-越南老街口岸地区蚊媒调查[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2015(2):4.
- [19] 高玉峰,程晓兰,丁晔,等. 中国西南边境地区蚊类携带病原体调查[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2020, 43(2):4.
- [20] 曹晓梅,方志强,李颖,等. “一带一路”广西云南重点口岸蚊类监测分析[J]. 中华卫生杀虫药械, 2021, 27(01):21-25.
- [21] Zhai YG, Wang HY, Sun XH, et al. Complete sequence characterization of isolates of Getah virus (genus Alphavirus, family Togaviridae) from China[J]. J Gen Virol, 2008, 89(6):1446-1456.
- [22] 张海林,陶三菊,杨冬荣,等. 云南首次分离到辛德毕斯(Sindbis), 巴泰(Batai)和 Coiti 病毒[J]. 中国人兽共患病学报, 2005, 21(7):548-551, 557.
- [23] 陶三菊,张海林,杨冬荣,等. 云南省澜沧江下游地区虫媒病毒的调查研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2003(04):24-28, 2.
- [24] 冯云,何彪,付士红,等. 云南蚊虫中阿卡斑病毒的分离和鉴定[J]. 病毒学报, 2015, 31(1):7.
- [25] 周涛,张海林,李铭华,等. 云南省文山中越边境地区虫媒病毒调查[J]. 中华预防医学杂志, 2009, 43(12):5.

【收稿日期】 2021-10-13 【修回日期】 2021-12-22

(上接 235 页)

- [5] Xu Y, Teng F, Huang S, et al. Changes of saliva microbiota in nasopharyngeal carcinoma patients under chemo radiation therapy [J]. Arch Oral Biol, 2014, 59(2):176-186.
- [6] 刘坤,王冀川,王捷,等. 鼻咽癌放疗后咽部菌群的变化[J]. 肿瘤预防与治疗, 2008, 21(4):415-417.
- [7] 陈幼华,罗晋卿,陶健萍,等. 鼻咽癌患者放疗期间口咽细菌动态变化及耐药性分析[J]. 中国全科医学, 2012, 15(50):1613-1616.
- [8] Aguiar GP, Jham BC, Magalhaes, et al. A review of the biological and clinical aspects of radiation caries [J]. Contemp Dent Pract, 2009, 10(4):83-89.
- [9] Lalla RV, Latortue MC, Hong CH, et al. A systematic review of oral fungal infections in patients receiving cancer therapy[J]. Support Care Cancer, 2010, 18(8):985-992.
- [10] 陈奕霞,彭颂国,田丽贞,等. 鼻咽癌患者肿瘤周围分泌物细菌培养及耐药性分析[J]. 国际检验医学志, 2014(1):100-101.
- [11] Guerrero-Preston R, Godoy-Vitorino F, Jedlicka A, et al. 16S rRNA amplicon sequencing identifies microbiota associated with oral cancer human papilloma virus infection and surgical treatment[J]. Oncotarget, 2016, 7(32):51320-51334.
- [12] Shao ZY, Tang SZ, Yan C, et al. Effects of intensity-modulated radiotherapy on human oral microflora[J]. J Radiat Res, 2011, 52(6):834-839.
- [13] 江青山,肖建华,刘安元,等. 16S rDNA 技术在鼻咽癌患者和正常人咽部细菌组成中的比较研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2009(2):86-90, 96.
- [14] 于湛,邓晓琴,邹杨,等. 鼻咽癌患者鼻咽冲洗液菌群检测及结果分析[J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(2):137-140.

【收稿日期】 2021-12-08 【修回日期】 2022-02-12