中国媒介生物学及控制杂志 2009, 20(2) 108-110 DOI: ISSN: 1003-4692 CN: 13-1142/R

论著

用PCR技术测定按蚊人血指数的研究

刘耀宝， 曹俊， 周华云， 李菊林， 朱国鼎， 王伟明， 顾亚萍， 朱韩武， 高琪

江苏省血吸虫寄生虫病防治研究所/卫生部寄生虫病预防与控制技术重点实验室/江苏省寄生虫分子生物学重点实验室/江苏省寄生虫病学重点学科（ 江苏 无锡 214064）

摘要：

【摘要】 目的 建立一种能替代传统免疫学方法用于按蚊人血指数测定的分子生物学检测技术。方法 根据人核糖体DNA序列设计1对特异性引物，建立聚合酶链反应（PCR）鉴定按蚊胃内人血的方法。同时，对猪血、牛血、羊血、小鼠血以及未吸血按蚊中提取的DNA进行检测，验证该检测方法的特异性，并对吸饲人血后不同时间（1、6、12、18、24、27、30、33、36、40、44、48 h）的按蚊进行检测，测试该方法的检测敏感性。 结果 该方法可从人血提取的DNA中扩增得到519 bp大小的特异性条带，对其他动物血样及未吸血按蚊中所提取的DNA均未能扩增出特异性条带；所有吸人血24 h内的中华按蚊均能扩增出特异性条带，在吸人血后27、30、33、36 h的各5只中华按蚊中，分别有4、4、2、1只能扩出特异性条带，吸血40 h后的中华按蚊均不能扩增出特异性条带。Logistic回归分析表明，吸血后24～40 h，PCR检测阳性按蚊数与吸血后的时间呈负相关关系（P＜0.01）。结论 本研究所建立的PCR方法可准确鉴定吸血24 h内的中华按蚊胃内的人血液来源，可替代传统免疫学方法用于按蚊人血指数的测定。

关键词： 聚合酶链反应 中华按蚊 血源鉴定 人血指数 媒介调查

Assay of human blood index of Anopheline mosquito by polymerase chain reaction

LIU Yao-Bao, CAO Jun, ZHOU Hua-Yun, LI Ju-Lin, ZHU Guo-Ding, WANG Wei-Ming, GU Ya-Ping, ZHU Han-Wu, GAO Qi

Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, Wuxi, Jiangsu 214064, China

Abstract:

【Abstract】 Objective To develop a molecular technology to assay human blood index of Anopheline mosquito which could substitute for the traditional immunological method. Methods A pair of specific primer were designed according to the sequence of human rDNA, and the human blood in Anopheline mosquito was identified by polymerase chain reaction （PCR）. Meanwhile, the DNA extracted from the blood of pig, cattle, goat, mouse and the mosquito without bloodsucking were detected to verify the specificity of the method. And the DNA extracted from the mosquitoes after its bloodsucking for different time （such as 1 h, 6 h, 12 h, 18 h, 24 h, 27 h, 30 h, 33 h, 36 h, 40 h, 44 h, 48 h） were detected to determine the sensitivity of the method. Results The specific PCR product （519 bp） was amplified from the DNA extracted from human blood. No specific PCR product was found either from the blood of other animals or from the mosquitoes without bloodsucking. The specific bands were produced from all the mosquitoes within bloodsucking for 24 h. After bloodsucking for 27 h, 30 h, 33 h and 36 h, only 4, 4, 2, 1 mosquito could produce specific bands in the total of 5 tested mosquitoes, respectively. No specific PCR product was amplified after feeding for 40 h. Logistic regression analysis indicated there was a negative correlation between the bloodsucking time and the quantity of positive mosquitoes detected by PCR after bloodsucking for 24-40 h （P＜0.01）. Conclusion The PCR method developed in this study could identify human blood in Anopheles sinensis within bloodsucking for 24 h accurately， which could replace the traditional immunological method.

Keywords: Polymerase chain reaction Anopheles sinensis Blood meal identification Human blood index Vector survey

收稿日期 2008-12-15 修回日期 网络版发布日期

DOI:

基金项目:

第五轮中国全球基金疟疾项目硕士研究生培养专项基金；江苏省血地寄科研课题（X200733）

通讯作者: 高琪，Email：gaoqi54@hotmail.com

作者简介: 刘耀宝（1981-），男，硕士研究生，从事疟疾媒介生物学与控制研究。

作者Email: yaobao0721@163.com

参考文献：

［1］ Dye C, Hasibeder G. Population dynamics of mosquito?borne disease：effects of flies which bite some people more frequently than others［J］. Trans Royal Soc Trop Med Hyg，1986， 80： 69-77.

［2］ 黄文洲，罗曼珍，蒋伟康，等. 琼脂双向扩散法鉴定蚊胃血血源的研究［J］. 寄生虫学与寄生虫病杂志，1984， 2（1）：39-41.

［3］ 高白荷，王丕玉. 对流免疫电泳法鉴定蚊胃血血源的研究［J］. 医学动物防制，2000，16 （4）：208-210.

［4］ Beier JC, Perkins PV, Wirtz RA, et al. Bloodmeal identification by direct enzymelinked immunosorbent assay （ELISA）, tested on Anopheles （Diptera： Culicidae） in Kenya［J］. J Med Entomol，1988，25： 9-16.

［5］ Savage HM， Duncan JF， Roberts DR， et al. A dipstick ELISA for rapid detection of human blood meals in mosquitoes［J］. J Am Mosq Control Assoc，1991，7：16-23.

［6］ 朱国鼎，高琪，周华云，等.发作期与间歇期间日疟原虫在不同按蚊体内发育差异的研究［J］. 中国血吸虫病防治杂志，2007，19（4）：274-277.

［7］ Mohanty A， Kar P， Mishra K, et al. Multiplex PCR assay for the detection of Anopheles fluviatilis species complex， human host preference， and Plasmodium falciparum sporozoite presence， using a unique mosquito processing method［J］. Am J Trop Med Hyg，2007，76（5）：837-843.

［8］ Ngo KA, Kramer LD. Identification of mosquito bloodmeals using polymerase chain reaction （PCR） with Order?Specific primers［J］. J Med Entomol，2003，40（2）：215-222.

［9］ Chang MC, Teng HJ, Chen CF, et al. The resting sites and blood-meal sources of Anopheles minimus in Taiwan ［J］. Malar J，2008，7：105.

［10］ Collins FH， Paskewitz SM. A review of the use of ribosomal DNA to differentiate among cryptic Anopheles species［J］. Insect Mol Biol，1996， 5：1-9.

［11］ Mukabana WR, Takken W, Seda P, et al. Extent of digestion affects the success of amplifying human DNA from blood meals of Anopheles gambiae （Diptera： Culicidae） ［J］. Bull Entomol Res，2002，92：233-239.

［12］ Oshaghi MA, Chavshin AR, Vatandoost H, et al. Effects of post?ingestion and physical conditions on PCR amplification of host blood meal DNA in mosquitoes［J］. Exp Parasitol， 2006，112（4）：232-236.

［13］ Waters AP, McCutchan TF. Rapid， sensitive diagnosis of malaria based on ribosomal RNA［J］. Lancet，1989，1（8651）：1343-1346.

本刊中的类似文章

1．李菊林1，周华云1，曹俊1，朱国鼎1，王伟民1，仲崇义2，洪沛3，袁守国4，李学兵5.江苏省部分地区中华按蚊对溴氰菊酯和氟氯氰菊酯的敏感性调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2009,20(5): 438-439

2．傅桂明1，孙继民1，杨章女1，杨天赐1，斯国静2，庞卫龙3，龚震宇1，刘起勇4.分子生物学技术检测鼠形动物巴尔通体[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2009,20(5): 454-456

3．张晓梅1，宋绍霞1，翟文济1，王梅1，李小娟1，王志强1，李德新2，张全福2.山东省汉坦病毒分子流行病学研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2009,20(5): 457-460

4．姜理平，孟真，陆群英，罗芸，叶菊莲，张政.浙江省钩端螺旋体FlaB-PCR检测方法的建立与应用[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2009,20(5): 460-463

文章评论

反馈人		邮箱地址	
反馈标题		验证码	0811