

文章编号: 1000-7423(2011)-04-0285-04

【论著】

## 西藏墨脱县不同海拔地区按蚊构成调查

武松<sup>1</sup>, 汤林华<sup>2</sup>, 周水森<sup>2</sup>, 黄芳<sup>2</sup>, 许国君<sup>3</sup>, 王多全<sup>2</sup>, 蒋伟康<sup>2</sup>, 卓玛央金<sup>4</sup>

**【摘要】** 目的 探讨西藏墨脱县不同海拔自然村按蚊种类和构成。方法 2010 年 7 月 14 日~8 月 17 日, 选择 4 种不同高度海拔的 6 个自然村作为调查点, 在高海拔的甘德乡甘德村(海拔 1 966 m), 中高海拔的达木乡达木村(海拔 1 408 m)与珠村(海拔 1 510 m), 中海拔的墨脱镇墨脱村(海拔 1 178 m), 低海拔的背崩乡地东村(海拔 853 m)和背崩村(海拔 831 m), 采用人诱、牛诱和灯诱等方法捕获成蚊, 成蚊经形态学鉴定后处死, 干燥保存带回实验室, 多斑按蚊复合体采用多重 PCR 方法进行具体种型鉴定。结果 共捕获按蚊 5 410 只, 其中高海拔区捕获按蚊 2 只, 1 只为大型按蚊贝氏亚种, 另 1 只形态损伤无法鉴别, 但形态学上可排除多斑按蚊复合体; 中高海拔区捕获伪威氏按蚊 541 只(36.9%), 威氏按蚊 906 只(61.7%), 带足按蚊 21 只(1.4%); 中海拔区捕获伪威氏按蚊 260 只(76.3%), 威氏按蚊 2 只(0.6%), 带足按蚊 79 只(23.2%); 低海拔区捕获伪威氏按蚊 3 265 只(90.7%), 威氏按蚊 19 只(0.5%), 带足按蚊 315 (8.8%)。中高、中和低海拔区通宵灯诱蚊虫密度分别为, 伪威氏按蚊 25.7、28.3 和 62.8 只/夜, 威氏按蚊 41.5、0.2 和 0.2 只/夜, 带足按蚊 1.4、11.3 和 3.6 只/夜。结论 西藏墨脱县按蚊主要由伪威氏按蚊、威氏按蚊和带足按蚊构成; 中高海拔地区威氏按蚊比例高于伪威氏按蚊; 中、低海拔地区多斑按蚊复合体以伪威氏按蚊为主。

**【关键词】** 西藏; 墨脱县; 伪威氏按蚊; 威氏按蚊; 按蚊构成

中图分类号: R384.111 文献标识码: A

### Investigation on *Anopheles* Species and Their Composition in Villages at Different Altitudes of Motuo County, Tibet Autonomous Region

WU Song<sup>1</sup>, TANG Lin-hua<sup>2</sup>, ZHOU Shui-sen<sup>2</sup>, HUANG Fang<sup>2</sup>, XU Guo-jun<sup>3</sup>,  
WANG Duo-quan<sup>2</sup>, JIANG Wei-kang<sup>2</sup>, ZHUOMA Yang-jin<sup>4</sup>

(1 School of Integrated Traditional and Western Medicine, Anhui College of Chinese Traditional Medicine, Hefei 230038, China; 2 National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention; WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China; 3 Sichuan Center for Disease Control and Prevention, Chengdu 610081, China; 4 Linzhi Prefecture Center for Disease Control and Prevention, Linzhi 860100, China)

**【Abstract】** **Objective** To study the anopheline species and composition in villages at different altitudes, Muotuo County. **Methods** Six villages with different altitudes were selected as the investigation spots, i.e. Gande, Zhucun, Damu, Motuo, Didong and Beibeng with an altitude 1 966 m, 1 510 m, 1 408 m, 1 178 m, 853 m and 831 m, respectively. Human-baited net traps, cow-baited traps and light traps were set up to collect adult mosquitoes. The trapped mosquitoes were counted and identified according to morphological criteria. Following the classification, the mosquitoes were killed by chloroform and dried on silica-gel, and transported to the laboratory where they were stored at -20 °C. Species of *Anopheles maculatus* complex were identified with multiple PCR method. **Results** 5 410 anopheline mosquitoes were collected. Two mosquitoes were captured in high altitude village, one was *Anopheles gigas bailieyi*, while the other was damaged and unable to identify. There were 541 (36.9%) *An. pseudowillmori*, 906 *An. willmori* (61.7%) and 21 *An. peditaeniatus* (1.4%) collected in semi-high altitude villages; 260 (76.3%) *An. pseudowillmori*, 2 *An. willmori* (0.6%) and 79 *An. peditaeniatus* (23.2%) trapped in middle altitude village; and 3 265 (90.7%) *An. pseudowillmori*, 19 *An. willmori* (0.5%) and 315 *An. peditaeniatus* (8.8%) trapped in low altitude villages. **Conclusion** *An.*

基金项目: 卫生行业科研专项 (No. 200802021); 安徽省自然科学基金 (No. 10040606Q38); 安徽省优秀青年教师基金 (No. 2009SQRZ119)

作者单位: 1 安徽中医学院中西医结合临床学院, 合肥 230038; 2 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心, 上海 200025; 3 四川省疾病预防控制中心, 成都 610081; 4 西藏自治区林芝地区疾病预防控制中心, 林芝 860100

\* 通讯作者, E-mail: ipdthl@public3.net.cn

*pseudowillmori*, *An. willmori* and *An. peditaeniatus* make the main anopheline composition. The proportion of *An. willmori* is higher than *An. pseudowillmori* in semi-high altitude villages, while *An. pseudowillmori* take the absolute predominance in middle and low altitude villages.

**【Key words】** Tibet; Motuo County; *Anopheles pseudowillmori*; *Anopheles willmori*; Anopheline composition

Supported by Science Fund of Health System (No. 200802021); Natural Science Fund of Anhui Province (No. 10040606Q38); Science Fund for the Excellent Youth Scholars of Anhui Province (No. 2009SQRZ119)

\* Corresponding author, E-mail: ipdth@public3.net.cn

林芝地区是西藏自治区惟一有疟疾流行的地区<sup>[1]</sup>, 在其下辖的 7 个县 (林芝、墨脱、米林、工布江达、察隅、波密和朗县) 中, 墨脱县疟疾病例占林芝地区的 99% 以上<sup>[2]</sup>, 因此该县的疟疾疫情几乎代表着西藏自治区的疟疾形势。近年来, 该县的疟疾疫情略显回升, 局部有暴发。2006 和 2007 年卫生部派疟疾专家组对该地区进行疟疾流行病学调查, 但对该县的媒介调查均仅限于中、低海拔地区<sup>[3]</sup>。为进一步了解墨脱县的媒介状况, 以便为该地区制定科学疟疾防控方案提供依据, 本研究于 2010 年 7~8 月对该县不同海拔地区的自然村进行媒介按蚊调查, 报告如下。

## 调查对象与方法

### 1 一般情况

通过墨脱县卫生局、疾病预防控制中心和统计局等相关部门收集既往疟疾疫情、人口、社会经济、地理和气象等资料。

### 2 调查点的选择

根据墨脱县不同乡镇分布的不同海拔高度, 按照高、中高、中和低海拔选择 4 个乡的 6 个自然村进行媒介调查, 即高海拔的甘德乡甘德村 (海拔 1 966 m, N: 29°29.474, E: 95°25.292); 中高海拔达木乡达木村 (海拔 1 408 m, N: 29°49.627, E: 95°46.227) 和珠村 (海拔 1 510 m, N: 29°31.120, E: 95°25.464); 中海拔墨脱镇墨脱村 (海拔 1 178 m, N: 29°19.285, E: 95°19.862); 低海拔背崩乡地东村 (海拔 853 m, N: 29°21.905, E: 95°09.829) 和背崩村 (海拔 831 m, N: 29°24.563, E: 95°17.444)。

### 3 调查方法

将珠村和背崩村作为重点调查村, 其余村为一般调查村。重点调查村实施 1 月 3 旬, 每旬连续 3 夜室内和室外人帐通宵诱捕, 同时选择人房和牛房进行诱蚊灯通宵室外诱捕; 一般村仅进行 1 次连续 3 夜的半通宵室内和室外人帐诱捕, 同时进行不同场所的诱蚊灯室外通宵诱捕。所有捕获蚊种按照捕获

方法、地点和时间进行标记, 按文献[4]方法麻醉蚊种后进行形态学鉴定、计数后处死, 装入预先打孔的 1.5 ml 离心管, 再放入装有干燥剂的自封袋, 带回实验室后-20℃冻存备用。因为形态学鉴定仅至多斑按蚊复合体水平, 所以多斑按蚊复合体的具体种型鉴定采用分子生物学方法, 其他蚊种通过形态学直接鉴定种型。

## 4 多斑按蚊复合体种型鉴定

4.1 基因组提取 采用简易快速 DNA 提取法<sup>[5]</sup>, 即将 1~2 个蚊腿置于 1.5 ml 离心管, 加入 35 μl 裂解液 [10 mmol/L pH 8.0 Tris HCL, 1 mmol/L 乙二胺四乙酸 (EDTA), 1% Nonidet P-40, 100 μg/ml 蛋白酶 K], 匀浆, 加入 35 μl 灭菌双蒸水, 煮沸 5 min, 13 000×g 离心 2 min, 取上清, 置-20℃备用。

4.2 分子种型鉴定 分子鉴定参照马雅军等<sup>[6-8]</sup>建立的我国多斑按蚊 5 成员种的分子鉴别方法。该多重 PCR 方法根据 rDNA-ITS2 序列设计 1 条共用的正向引物和 5 种特异引物 (引物由上海赛百盛基因技术有限公司合成, 表 1)。PCR 反应条件为: 94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 35 个循环; 72℃ 5 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定并拍照。

## 结 果

### 1 一般情况

墨脱县位于西藏自治区的林芝地区南部, 地处雅鲁藏布江峡谷亚热带湿润气候区, 位于北纬 21°36'~29°50', 东经 93°42'~96°36', 年均降水量约 2 330 mm, 是全地区降水强度最大的县, 年均气温 16℃, 无霜期在 320 d 以上, 年平均最高气温在 8 月, 达 27.9℃。全县辖 7 乡 1 镇共 46 个行政村, 主要民族为门巴族和珞巴族。全县 2009 年总人口数 11 567 人。村民主要种植水稻和玉米。

墨脱县自 1986~2010 年累计报告疟疾病例 2 802 例, 占林芝地区报告病例数的 99.7%。近年来, 墨脱县疫情处于活跃状态, 病例呈现逐渐增多并存在向周

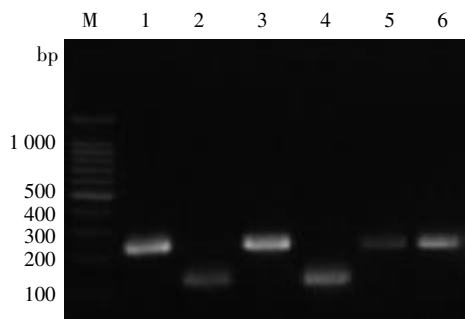
**表 1 多斑按蚊复合体 PCR 鉴别引物**  
**Table 1 Specific primers in diagnostic PCR assay for *An. maculatus* complex**

引物名称 Primer name	引物(5'-3') Primers
共用正向引物 5.8S	5'-GAACTGCAGGACACATGAACACCG-3'
伪威氏按蚊 <i>An. pseudowillmori</i>	5'-GTCAGTCTGGTATCGGCATAT-3'
多斑按蚊 <i>An. maculatus</i>	5'-AGCGCCAGGGCCACTAGC-3'
威氏按蚊 <i>An. willmori</i>	5'-CCATAGTGTACCACCATTCG-3'
达罗毗按蚊 <i>An. dravidicus</i>	5'-TAGCGCCGGTGTTTAATACA-3'
塞沃按蚊 <i>An. sawadwongporni</i>	5'-AAGCGCGAATCGATGATTT-3'

边蔓延的趋势，暴发点时常出现。2002-2010 年墨脱县疟疾发病共 524 例，主要分布于墨脱镇 (320 例)、德兴乡 (114 例) 和背崩乡 (43 例)。

## 2 多斑按蚊复合体种型鉴定

捕获的蚊种中，经形态学鉴定为多斑按蚊复合体的有 4 993 只，均进行多重 PCR 鉴定具体种型，发现分别为伪威氏按蚊和威氏按蚊 (图 1)。



M: DNA 标志物 (100 bp); 1、3、5、6: 威氏按蚊; 2、4: 伪威氏按蚊。  
 M: DNA marker (100 bp); 1, 3, 5, 6: *An. willmori*; 2, 4: *An. pseudowillmori*.

**图 1 多斑按蚊复合体成员种 PCR 鉴定**

**Fig. 1 PCR result on DNA from *Anopheles maculatus* complex**

## 3 不同海拔地区按蚊的构成

调查期间共捕获按蚊 5 410 只，其中高海拔区捕获按蚊 2 只，1 为大型按蚊贝氏亚种，1 只形态破损无法鉴别，但形态学上可排除为多斑按蚊复合体；中高海拔区按蚊构成以威氏按蚊比例最高，其次为伪威氏按蚊和带足按蚊，中海拔与低海拔区按蚊构成以伪威氏按蚊为主，其次依次为带足按蚊和威氏按蚊 (表 2)。其中带足按蚊为形态学鉴定，伪威氏按蚊和威氏按蚊为 PCR 鉴定结果。

**表 2 不同海拔按蚊构成/%**  
**Table 2 Anopheline composition at different altitudes/%**

海拔 Altitude	按蚊数 Number	不同按蚊的数量和比例/% Number and percentage of Anopheline/%		
		伪威氏按蚊 <i>An. pseudowillmori</i>	威氏按蚊 <i>An. willmori</i>	带足按蚊 <i>An. peditaeniatus</i>
		中高海拔 Semi-high	1 468	541 (36.9)
中海拔 Middle	341	260 (76.3)	2 (0.6)	79 (23.2)
低海拔 Low	3 599	3 265 (90.7)	19 (0.5)	315 (8.8)
合计 Total	5 408	4 066 (75.2)	927 (17.1)	415 (7.7)

注：高海拔捕获按蚊 2 只，1 只为大型按蚊贝氏亚种。  
 Note: Two mosquitoes were captured in high altitude village with one *An. gigas bailieyi*.

## 4 不同海拔按蚊密度比较

因不同海拔区分别由不同的调查小组完成，计算以人诱方式捕蚊的按蚊密度可能存在偏性，因此采用各调查小组共同的诱蚊灯通宵室外诱捕进行按蚊密度分析，发现伪威氏按蚊密度在低海拔地区最高，有随着海拔增高逐渐下降的趋势；威氏按蚊在中高海拔地区密度最高，中低海拔差别不大；带足按蚊以中海拔地区密度最高 (表 3)。

**表 3 不同海拔自然村通宵灯诱按蚊密度**  
**Table 3 Anopheline density in villages at different altitudes**

海拔 Altitude	次数 No. light traps	伪威氏按蚊 <i>An. pseudowillmori</i>		威氏按蚊 <i>An. willmori</i>		带足按蚊 <i>An. peditaeniatus</i>	
		只数 No.	密度/只·夜 <sup>-1</sup> Density (No./per night)	只数 No.	密度/只·夜 <sup>-1</sup> Density (No./per night)	只数 No.	密度/只·夜 <sup>-1</sup> Density (No./per night)
		中高海拔 Semi-high	15	385	25.7	623	41.5
中海拔 Middle	6	170	28.3	1	0.2	68	11.3
低海拔 Low	9	565	62.8	2	0.2	32	3.6

## 讨 论

自 20 世纪 60 年代以来,西藏自治区即有疟疾病例报告,发病数居虫媒传染病的首位<sup>[9]</sup>。本次调查按照海拔高度,选择了高海拔(1 900 m 以上)、中高海拔(1 400 m~1 600 m)、中海拔(1 000 m~1 200 m)和低海拔(1 000 m 以下)等 4 个海拔梯度进行调查,能够较好地代表该县的媒介状况。

调查发现高海拔区媒介密度很低,未能发现多斑按蚊复合体,说明其分布范围主要在中高海拔及以下区域。笔者曾采用巢式 PCR 方法在伪威氏按蚊唾液腺中检测出间日疟子孢子 SSurDNA 基因,发现伪威氏按蚊为该地区传疟媒介的分子证据<sup>[10]</sup>。如果伪威氏按蚊确实就是该地区的传疟媒介,就媒介与密度而言,高海拔地区理应排除存在本地疟疾传播的可能。

中高海拔地区威氏按蚊构成比例大于伪威氏按蚊为本次调查的重要发现,也是目前国内对该地区研究的初次报道。中低海拔地区调查结果与张再兴等<sup>[11]</sup>研究结果一致,基本可以说明中低海拔自然村多斑按蚊复合体以伪威氏按蚊占绝对优势。然而本课题组 2007 和 2010 年在墨脱县媒介调查的研究结果与 2009 年的媒介调查结果<sup>[12]</sup>有所不同,该文献报道按蚊构成为多斑按蚊、带足按蚊和伪威氏按蚊。本调查结果为伪威氏按蚊、威氏按蚊和带足按蚊,两调查结果在按蚊种类及其构成比例上均有一定的差异,其原因有待进一步调查证实。

综合分析,西藏林芝地区墨脱县疟疾流行区的按蚊构成相对简单,主要包括多斑按蚊复合体和带足按蚊,其中多斑按蚊复合体在海拔 1 900 m 以上区域未能发现;海拔 1 400 m~1 600 m 左右多斑按蚊复合体包括伪威氏按蚊和威氏按蚊,其中威氏按蚊比例高于伪威氏按蚊;海拔 1 200 m 以下区域多斑按蚊复合体以伪威氏按蚊占绝对优势。结合既往疟疾疫情及实验室证据,伪威氏按蚊应为该地区的主要传疟媒介按蚊。由于本次调查时间较短,所得按蚊构成与密度仅代表该时段的情况。

**志谢** 本现场调查工作得到西藏林芝地区卫生局、林芝地区疾病预防控制中心和墨脱县政府、卫生局与疾病预防控制中心的大力协助与支持,一并感谢!

## 参 考 文 献

[1] Hu YH, Hu SL, Li CC. Analysis of malaria epidemic in Linzhi District, Tibet Autonomous Region, 1986-2004 [J]. Chin J

Schisto Control 2006, 18(2): 124. (in Chinese)  
(胡永红, 胡松林, 李成才. 1986-2004 年西藏林芝地区疟疾疫情分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2006, 18(2): 124.)

[2] Wu GW, Luo S, Wang HJ, et al. Analysis of epidemiological characteristics of malaria in Motuo, Tibet in 1976-2005 [J]. J Bethune Milit Med Coll, 2007, 5(6): 355-356. (in Chinese)  
(吴贵旺, 洛桑, 王洪举, 等. 1976-2005 年西藏墨脱县疟疾流行特征分析[J]. 白求恩医学院学报, 2007, 12(5): 355-356.)

[3] Pan JY, Wu S, Wang XZ, et al. Investigation on malaria transmission vectors in Motuo County, Tibet Autonomous Region [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(4): 281-285. (in Chinese)  
(潘嘉云, 武松, 王学忠, 等. 西藏林芝地区墨脱县传疟媒介调查研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(4): 281-285.)

[4] Lu BL. Fauna Sinica, Insecta Vol. 9, Diptera: Culicidae II [M]. Beijing: Science Press, 1997: 88-106. (in Chinese)  
(陆宝麟. 中国动物志昆虫纲第九卷双翅目蚊科(下卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 88-106.)

[5] Kambhampati S, Black WC, Rai KS. Random amplified polymorphic DNA of mosquito species and population (Diptera: Culicidae): techniques, statistical analysis, and applications [J]. Med Entomology, 1992, 29(6): 939-945.

[6] Ma YJ, Qu FY, Dong XS, et al. Molecular identification of *Anopheles maculatus* complex from China [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2002, 20(6): 321-324. (in Chinese)  
(马雅军, 瞿逢伊, 董学书, 等. 我国多斑按蚊复合体成员种的分子鉴别研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 20(6): 321-324.)

[7] Wu S, Pan JY, Wang XZ, et al. Species identification of *Anopheles maculatus* complex in malaria endemic area Motuo County, Tibet [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(4): 286-289. (in Chinese)  
(武松, 潘嘉云, 王学忠, 等. 西藏墨脱县疟疾流行区多斑按蚊复合体种型鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(4): 286-289.)

[8] Ma YJ, Qu FY, Xu JN, et al. Sequence differences of ribosomal DNA second internal transcribed spacer between *Anopheles sinensis* and *Anopheles anthropophagus* (Diptera: Culicidae) [J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 1998, 19(3): 234-236. (in Chinese)  
(马雅军, 瞿逢伊, 徐建农, 等. 中华按蚊和嗜人按蚊 rDNA 内转录间隔 2 区序列差异[J]. 第二军医大学学报, 1998, 19(3): 234-236.)

[9] Yuzheng LC, Laba ZM. Dynamic analysis of acute infectious diseases from 1960 to 1998, Tibet [J]. Chin J Epidemiol, 2000, 21(2): 105. (in Chinese)  
(玉珍拉措, 拉巴卓玛. 西藏自治区 1960-1998 年急性传染病动态分析[J]. 中华流行病学杂志, 2000, 21(2): 105.)

[10] Wu S, Pan JY, Wang XZ, et al. *Anopheles pseudowillmori* is the predominant malaria vector in Motuo County, Xizang Autonomous Region [J]. Malaria Journal, 2009, 8: 46.

[11] Zhang ZX, Zhou HN, Zhao XT, et al. Epidemiological survey on malaria situation in Motuo County of Tibet, China [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 10(26): 343-348. (in Chinese)  
(张再兴, 周红宁, 赵晓涛, 等. 西藏林芝地区墨脱县疟疾流行情况调查 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 10(26): 343-348.)

[12] Guo YH, Liu Qy, Yin ZD, et al. Preliminary investigation of vector mosquitoes in Nyingtri, Tibet [J]. Chin J Vector Biol Control, 2010, 21(4): 300-302. (in Chinese)  
(郭玉红, 刘起勇, 尹遵栋, 等. 西藏林芝地区蚊媒初步调查研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2010, 21(4): 300-302.)

(收稿日期: 2010-03-05 编辑: 杨频, 高石)