

· 论著 ·

温度对白纹伊蚊传播登革 2 型病毒易感性影响的研究

肖方震, 张仪, 何似, 施文琦, 谢汉国, 邓艳琴, 周晓农, 严延生

【摘要】 目的 研究不同温度下白纹伊蚊对登革病毒的易感性差异。**方法** 登革 2 型病毒人工经口感染白纹伊蚊, 冻麻挑出吸饱血的雌蚊放入新的蚊笼, 分别置于 18℃、21℃、26℃、31℃、33℃ 和 36℃ 的人工气候箱中饲养, 经外潜伏期后, 解剖蚊虫, 间接免疫荧光法分别检测蚊虫的头部、唾液腺和胸腹部内的登革 2 型病毒抗原, 并计算蚊虫的播散感染率。**结果** 18℃ 白纹伊蚊感染率最低, 胸腹部感染率为 8%, 头部和唾液腺未检出。31℃ 胸腹部感染率最高为 82%, 头部和唾液腺感染率 33℃ 时最高。36℃ 各部位感染率均较 33℃ 下降。18℃ 的播散感染率最低为 0, 36℃ 播散感染率最高, 达到了 100%。**结论** 白纹伊蚊感染率随温度的升高, 呈现先升后降趋势。18℃ 可能是白纹伊蚊传播登革病毒的最低温度。播散感染率随温度的升高逐渐升高。

【关键词】 伊蚊属; 登革热病毒; 温度

Effect of different temperature on the susceptibility of *Aedes albopictus* for transmission of dengue 2 virus XIAO Fang-zhen*, ZHANG Yi, HE Si, SHI Wen-qi, XIE Han-guo, DENG Yan-qin, ZHOU Xiao-nong, YAN Yan-sheng. * Fujian Center for Disease Control and Prevention, Fuzhou 350001, China

Corresponding author: ZHOU Xiao-nong, Email: Xiaonongzhou1962 @ gmail. com; YAN Yan-sheng, Email: yysh@ fjcdc. com. cn

【Abstract】 Objective To investigate the effect of different temperature on the susceptibility of *Aedes albopictus* for transmission of dengue 2 virus. **Methods** Mosquitoes were orally infected with dengue virus type 2 suspension, then fully blood-engorged mosquitoes were separated and transferred to new cartons and sustained at 18, 21, 26, 31, 33℃ and 36℃ with 10% sucrose. Immunofluorescence assays were used to detect antigen of dengue virus type 2 in the head, salivary gland and thorax-abdomen, and calculated the disseminated infection rate of mosquitoes. **Results** For mosquitoes held at 18℃, the infection rate of thorax-abdomen was 8%, infection in head and salivary gland were not detected until 25d. Maximum infection rate of thorax-abdomen was attained at 31℃, the highest infection rate of head and salivary gland existed at 33℃, however, the infection rate of mosquitoes at 36℃ was significantly decreased compared with that at 33℃. The lowest disseminated infection rate was zero at 18℃, while the highest disseminated infection rate was 100% at 36℃. **Conclusion** As the temperature went up, the infection rate showed a tendency of ascending first and descending later. Dengue virus might not be transmitted by *Aedes albopictus* when temperature was below 18℃. The disseminated infection rate increased gradually with the increase of temperature.

【Key words】 *Aedes*; Dengue virus; Temperature

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2012.03.008

基金项目: 基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目 (No. 2007BAC03A02); 国家科技重大专项项目 (2008ZX10004-011); 福建省社会发展重点项目 (2010Y0010); 福建省卫生厅青年科研项目 (2011-2-26)

作者单位: 350001 福州, 福建省疾病预防控制中心 (肖方震、何似、谢汉国、邓艳琴、严延生); 中国疾病预防控制中心寄生虫病防治研究所 (张仪、施文琦、周晓农)

通信作者: 周晓农, Email: Xiaonongzhou1962 @ gmail. com; 严延生, Email: yysh@ fjcdc. com. cn

登革热 (Dengue fever, DF) 是由登革病毒引起、分布最广、发病人数最多的急性虫媒病毒性疾病。每年约 25 亿人受到登革热的威胁, 患者约 5000 万^[1]。以往登革热主要流行于热带和亚热带地区, 近年来随着气候变暖, 登革热疫情上升并逐步蔓延至非流行地区。白纹伊蚊作为登革热的主要传播媒介之一, 在一些地区甚至替代了埃及伊蚊, 成为登革热最主要的传播媒介^[2]。白纹伊蚊分布范围扩大了增加了登革热流行的风险。蚊虫易感性受众多因素

影响,其中温度是最重要影响因素之一。温度不仅影响蚊虫的分布、成蚊寿命、生殖力、对宿主叮咬率,而且影响病毒在蚊虫体内复制^[3,4]。目前登革热的易感性研究多集中于埃及伊蚊,而对于白纹伊蚊的研究仍有限。了解温度变化对白纹伊蚊易感性的影响在疾病监测和暴发预测时很有意义。本研究通过研究不同温度对 2 型登革病毒在白纹伊蚊体内复制和繁殖的影响,探讨不同温度下白纹伊蚊对登革病毒易感性的差异。

1 材料与方法

1.1 实验蚊种 蚊卵由中国疾病预防控制中心寄生虫病防治研究所赠送。在温度(27±0.5)℃,相对湿度:70%±5%,光照时间 L:D=12:12。幼虫饲以猪肝粉和酵母粉(1:3),成蚊饲以 10% 葡萄糖水。

1.2 病毒悬液制备 DEN-2 病毒(New Guinea C 株)由本中心病毒科提供。33℃、5% CO₂ 培养箱培养,细胞病变至 +++~++++ 时收获病毒,反复冻融,离心吸取上清。取 2~4 日龄小白鼠的乳鼠,颅内接种病毒上清 0.02 ml/只,腹腔接种 0.03 ml/只。每日观察乳鼠的症状,4 天后如果乳鼠出现典型的神经症状,将其解剖取出鼠脑。间接免疫荧光方法确定感染的鼠脑加入 3% 1640 营养液研磨制备成 10% 的鼠脑病毒悬液。反复冻融,离心,吸取上清。测定 TCID₅₀,病毒滴度为 10^{7.9}。

1.3 DEN-2 型病毒人工感染白纹伊蚊 新鲜豚鼠血、10% 葡萄糖注射液、10% 鼠脑病毒悬液等比例混和,用高压灭菌海绵浸透,置于平皿中,放入蚊笼。供饥饿 24 h 4~6 日龄的白纹伊蚊吸食 30 min。冻麻将吸饱血的雌蚊随机挑出分别放入干净的蚊笼。蚊笼放入智能编程人工气候箱。温度分别为(18±0.5)℃、(21±0.5)℃、(26±0.5)℃、(31±0.5)℃、(33±0.5)℃和(36±0.5)℃,相对湿度为 75%±5%,光照时间 L:D=12:12。同时设置阴性对照(吸食新鲜豚鼠血、10% 葡萄糖注射液、10% 正常鼠脑悬液等比例混合液),放置于(26±0.5)℃。白纹伊蚊饲养 14 d 以上。

1.4 间接免疫荧光法检测白纹伊蚊病毒感染情况

白纹伊蚊冻死后,取蚊虫的头部、唾液腺以及胸腹部,用盖玻片轻压,涂匀,自然风干。4℃ 的丙酮固定 12 min。风干后加 1:100 的小鼠抗 DEN-2 病毒单抗(chemicon),置于湿盒,放入 37℃ 孵育 30 min,PBS(上海生工)冲洗,双蒸水震荡,吹干。加 1:100 的

FITC-羊抗鼠 IgG(Gaithersburg)置于湿盒,放入 37℃ 孵育 30 min,PBS 冲洗,双蒸水震荡洗涤,吹干。滴 9:1 甘油,荧光显微镜(OLYMPUS)观察结果。

2 结果

2.1 白纹伊蚊各部位感染情况 由于低温条件下白纹伊蚊的外潜伏期较长,因此 18℃ 和 21℃ 条件下饲养的白纹伊蚊延长至 25 d 收集。收集后解剖白纹伊蚊,头部、胸腹部和唾液腺分别做间接免疫荧光,各部位感染 DEN-2 病毒情况,见表 1。

表 1 不同温度下白纹伊蚊头部、唾液腺和胸腹部感染 DEN-2 病毒情况

Tab. 1 Dengue virus type 2 in head, salivary gland and thorax-abdomen of *Aedes albopictus* at different temperatures

部 位 Site	温度(℃) Temperature					
	18*	21*	26	31	33	36
头 部 Head	0/25	9/32	10/19	12/17	26/36	7/17
唾液腺 Salivary gland	0/25	10/32	10/19	12/17	26/36	8/17
胸腹部 Thorax-abdomen	2/25	15/32	13/19	14/17	29/36	8/17

注:* 感染后 25 d 收集

Note: *Collected 25 days after infection

2.2 感染率 白纹伊蚊胸腹部登革病毒抗原检测阳性表示白纹伊蚊感染上登革病毒,胸腹部病毒检测阳性数/检测的蚊子数为胸腹部感染率即蚊虫感染率^[5]。

从图 1 可以看出经过一定的外潜伏期,18℃ 白纹伊蚊的胸腹部中可以检测出登革病毒,感染率为

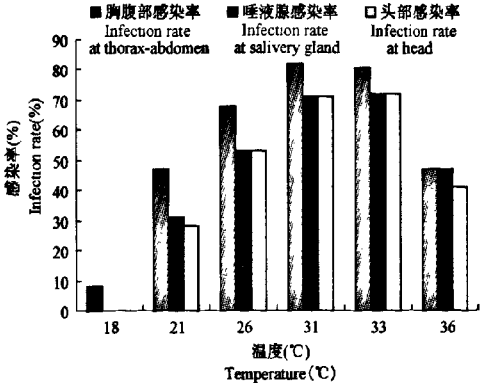


图 1 不同温度白纹伊蚊头部、唾液腺和胸腹部感染率
Fig. 1 The infection rate of head, salivary gland and thorax-abdomen of *Aedes albopictus* at different temperatures

8%, 头部和唾液腺中均未检测出登革病毒。18~31℃ 随着温度的升高, 头部、胸腹部的感染率均升高, 31℃ 胸腹部感染率最高为 82%, 头部和唾液腺感染率为 71%。33℃ 各部位感染率与 31℃ 基本相当, 胸腹部感染率略低, 头部和唾液腺感染率略高。36℃ 感染率较 33℃ 明显下降。同一温度头部感染率和唾液腺感染率基本相当, 见图 1。

2.3 播散感染率 唾液腺病毒抗原阳性率/蚊虫感染率为播散感染率 (DIR, disseminated infection rate)^[6]。18℃~36℃ 区间的随着温度的升高, 播散感染率逐渐升高。18℃ 的播散感染率为 0, 36℃ 播散感染率最高达到了 100%, 见图 2。

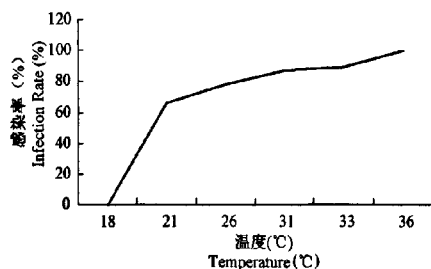


图 2 不同温度白纹伊蚊的播散感染率

Fig. 2 The disseminated infection rate of *Aedes albopictus* at different temperatures

3 讨论

本研究通过检测不同温度下的感染率和播散感染率来了解温度对蚊虫易感性的影响。研究发现置于 18℃ 饲养的白纹伊蚊胸腹部中能够检出登革病毒, 表明该温度下病毒能够感染白纹伊蚊, 但感染率低, 感染率仅为 8%。登革病毒只有通过唾液腺等屏障后到达唾液腺, 并通过叮咬人才能传播登革病毒。即使在人工经口感染 25 d 后, 在蚊虫的唾液腺和头部仍未能检出登革病毒, 说明病毒不能到达唾液腺, 认为该温度下白纹伊蚊并不传播登革病毒。推测该温度可能是白纹伊蚊传播登革病毒的最低温度。这对登革热流行时制定防控措施具有重要的意义。21℃ 经过一定的外潜伏期, 病毒在唾液腺中检出, 表明病毒到达唾液腺并大量繁殖, 蚊虫具有传播

病毒的能力。随着温度的升高蚊虫感染率和传播率逐渐升高。31℃ 胸腹部感染率达到最高。而到 36℃ 时感染率较 33℃ 明显下降, 可能与过高温度并不适合病毒的繁殖有关。有研究表明 >37℃ 条件下, 温度对蚊虫感染率起相反作用, 感染率出现下降^[7]。Kramer 等^[8]在用环跗库蚊感染西部马脑炎病毒时出现高温下持续一个星期病毒传播率明显下降。而在 Watts 等以埃及伊蚊吸食感染登革病毒的恒河猴, 发现埃及伊蚊在 35℃ 感染率最高, 病毒复制并未受到高温的影响^[9]。不同的地理株的蚊种、蚊虫饲养条件、病毒毒株以及在细胞中感染和传代、病毒的感染方式、感染滴度、血餐中使用的抗凝剂等各种不同因素都可能影响实验的结果。因此我们在评价不同媒介感染实验结果时, 各种因素均要考虑。

4 参考文献

- [1] WHO. Dengue and dengue haemorrhagic fever. Factsheet No. 117, revised, 2008, Geneva, World Health Organization, 2008 (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>).
- [2] Benedict MQ, Levine RS, Hawley WA, et al. Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. Vector Borne Zoonotic Dis, 2007, 7: 76-85.
- [3] Currie BJ. Environmental change, global warming and infectious diseases in Northern Australia. Environ Health, 2001, 1: 35-44.
- [4] Hales S, de Wet N, Maindonald J, et al. Potential effect of population and climate changes on global distribution of dengue fever: an empirical model. Lancet, 2002, 360: 830-834.
- [5] Knox TB, Kay BH, Hall RA, et al. Enhanced vector competence of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from the Torres Strait compared with mainland Australia for dengue 2 and 4 viruses. J Med Entomol, 2003, 40: 950-956.
- [6] Richards SL, Mores CN, Lord CC, et al. Impact of Extrinsic Incubation Temperature and Virus Exposure on Vector Competence of *Culex pipiens quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) for West Nile Virus. Vector Borne Zoonotic Dis, 2007, 7: 629-636.
- [7] Hurlbut HS. The effect of environmental temperature upon the transmission of St. Louis encephalitis virus by *Culex pipiens quinquefasciatus*. J Med Entomol, 1973, 10: 1-12.
- [8] Kramer LD, Hardy JL, Preaser SB. Effect of temperature of extrinsic incubation on the vector competence of *Culex tarsalis* for western equine encephalomyelitis virus. Am J Trop Med Hyg. 1983, 32: 1130-1139.
- [9] Watts D M, Burke D S, Harrison B A, et al. Effect of temperature on the vector efficiency of *Aedes aegypti* for dengue 2 virus. Am J Trop Med Hyg, 1987, 36: 143-152.

(收稿日期: 2012-02-15)