

从海南岛白纹伊蚊体内分出登革Ⅲ型病毒

海南地区卫生防疫站 陈文洲 周立文 林春燕 王家豪 赵志国
 卫生部药品生物制品检定所 李雪东 纪元吉 崔五全 俞永新

1980年海南岛登革热流行首先发生在以埃及伊蚊为主的沿海地区,当时仅从埃及伊蚊分离得了Ⅲ型登革病毒^[1],但后来疾病逐渐蔓延至埃及伊蚊与白纹伊蚊混杂存在以及白纹伊蚊为主的地区,1981年我们自登革热患者病家及病家周围捕获的埃及伊蚊7批(50只)分离得病毒5株;白纹伊蚊4批(18只)分离得病毒3株,现将自白纹伊蚊分离病毒的结果报道如下。

材料和方法

一、标本的采集和病毒分离:根据白纹伊蚊白天在人房屋外活动的习性,在紧靠病家屋外的竹林、香蕉树、厕所或室内客厅处捕获的白纹伊蚊,饲养至胃内血液全部消化,冰冻致死,分类,将雌蚊以75%酒精及Hank's液漂洗,按每只蚊0.1毫升加入含10倍抗生素的细胞维持液,离心沉淀后,置4°C作用4小时以上,接种C6/36白纹伊蚊细胞纯系(简称C6/36细胞)微量培养板,于36°C培养,逐日观察细胞病变,盲传三代仍未出现细胞病变者则判为阴性。

二、病毒鉴定:

1.补体结合试验:将分离得的病毒,混合接种C6/36细胞培养瓶,置28~33°C培养,待细胞出现++~+++细胞病变时,收获细胞培养液,即为补体结合抗原,将其1:4稀释,与不同稀释度之登革1~4型病毒标准株免疫腹水及乙型脑炎病毒(SA14株)免疫腹水进行补体结合试验,并将抗原自1:4始,连续两倍稀释,与两单位之上述五种病毒免疫腹水作补体结合试验。

2.中和试验:用C6/36细胞,于微量培养板进行^[2]。

结 果

一、病毒分离:自澄迈县太平公社、定安县岭口公社捕获的白纹伊蚊18只,分成4批分离病毒,结果有3批分离得病毒。新分3株病毒表现的细胞病变为融合和空泡。

二、病毒鉴定:

1.补体结合试验:结果见表1、2。

表1 固定抗原浓度与不同稀释度免疫腹水补体结合试验结果

抗 原	免 疫 腹 水				
	登革 I 型	登革 II 型	登革 III 型	登革 IV 型	乙型 脑炎
登革 I 型	128	32	32	16	<4
登革 II 型	64	128	32	32	4
登革 III 型	16	8	64	4	<4
登革 IV 型	32	32	64	128	4
乙型脑炎	4	32	8	16	≥256
81-41	32	16	128	16	4
81-42	32	16	128	32	4
81-211	32	64	128	64	4

表2 两单位免疫腹水与不同稀释度抗原补体结合试验结果

抗 原	免 疫 腹 水				
	登革 I 型	登革 II 型	登革 III 型	登革 IV 型	乙型 脑炎
登革 I 型	32	<4	<4	<4	<4
登革 II 型	<4	32	4	<4	<4
登革 III 型	<4	<4	64	<4	<4
登革 IV 型	4	<4	8	32	<4
乙型脑炎	<4	<4	<4	<4	32
81-41	<4	<4	8	<4	<4
81-42	<4	<4	4	<4	<4
81-211	<4	<4	16	<4	<4

表2、3可以看出,无论是采用固定抗原稀释免疫腹水,还是固定免疫腹水稀释抗原,

其补体结合滴度，均以对3型登革病毒为高，表明其为3型登革病毒。

2. 中和试验：结果见表3。

表3 细胞中和试验结果

病 毒	免 疫 腹 水			
	登革 I 型	登革 II 型	登革 III 型	登革 IV 型
登革 I 型	*3802	38	38	380
登革 II 型	178	1000	2	0
登革 III 型	10	5	316	0
登革 IV 型	3	10	3	3162
81-41	10	5	68	0
81-42	5	10	2138	5
81-211	10	10	54950	148

* 中和指数，50以上为阳性

表4结果IV型登革病毒免疫腹水对81-211株病毒呈现交叉反应，但滴度远较III型登革病毒免疫腹水为低。中和试验结果证实它们均属3型登革病毒。

讨 论

六十年代前，仅从流行病学分析，推测白纹伊蚊可能为登革热的传播媒介，直到1960年Rudnick和Chan在新加坡登革出血热流行时，首次从白纹伊蚊分离得2型登革病毒^[3]，才从病毒学上予以证实，以后多次从白纹伊蚊分离得登革病毒^[4~6]。1978年广东省佛山地区登革热流行时，根据流行病学分析，推测其传播媒介可能为白纹伊蚊。1979年用免疫荧光及放射免疫技术检测自1978年登革热流行区捕获的白纹伊蚊头压片中4型登革病毒抗原，阳性率分别为38.1%和47.6%，对其媒介作用提供了病毒学佐证^[7]，但未分离到病毒。1980年海南岛登革热流行自仅有埃及伊蚊的地区逐渐蔓延至埃及伊蚊和白纹伊蚊混杂存在或仅有白纹伊蚊的地区。1981年我们在病家和病家周围捕获4批白纹伊蚊，结果分离得3株病毒，其分离率不仅远较国外报导者为高^[5~7]，亦高于同时捕获的埃

及伊蚊。我们认为这主要是因为现在的C6/36细胞对登革病毒的敏感性远较乳鼠为高，且蚊系捕自急性期病人住房内与住房周围所致。1980年陵水县陵城镇发生一例传入病例，20多天后陆续出现了30例继发病人，他们在一个月内均未去过外地，该镇经过3次调查未发现埃及伊蚊，而以白纹伊蚊为主，故白纹伊蚊极可能是该镇的传播媒介^[8]。本实验结果从病原学上证实了流行病学的推测。不论是在两种伊蚊混杂存在的地区，还是仅有白纹伊蚊存在地区，它均可能在登革热流行中起着传播媒介的作用。白纹伊蚊在我国分布远较埃及伊蚊为广。因而其在我国传播登革热的重要性不亚于埃及伊蚊。事实上，1945年汉口、1978年佛山地区登革热的流行均系白纹伊蚊引起^[7,9]，对此蚊应予以足够重视。

小 结

1981年海南岛登革热流行时，于患者住房内及住房周围捕捉白纹伊蚊，接种C6/36白纹伊蚊细胞纯系，自4批(18只)白纹伊蚊标本中分离得3株病毒，经补体结合试验和中和试验鉴定为III型登革病毒，此为我国首次从白纹伊蚊中分离得III型登革病毒。

(本项工作得到澄迈县、定安县卫生防疫站的大力支持，特此致谢)

参 考 文 献

1. 李雪东等：中华微生物学和免疫学杂志，1(1)：7, 1981。
2. 卫生部药品生物制品检定所编：全国登革热病毒学习班讲议，1981。
3. Rudnick A et al: Science, 149: 638, 1965.
4. Russell PK et al: Am J Trop Med Hyg, 18: 580, 1969.
5. Chan YC et al: Bull WHO, 44: 651, 1971.
6. Gould DJ et al: Am J Trop Med Hyg, 17: 609, 1968.
7. 李雪东等：中华微生物学和免疫学杂志，1(5)：317, 1981。
8. 文平等：白纹伊蚊作为登革热传播媒介的流行病学调查(未发表资料)。
9. 陆宝麟：国外军事医学资料(第五分册)，4：37, 1974。