

# 蚊虫人工感染乙型肝炎病毒的实验观察

王福菊\* 丁正荣\* 陈琨琳\* 杨进业\* 邓洁清\*\* 邵惠训#

关于野外捕获和实验感染的蚊虫,乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的携带情况已有报道[1,2];我们从野外捕获的蚊虫,体内也检出HBsAg,并与血液在蚊体内的存在相关[3],可见蚊虫传播乙型肝炎病毒,可能属于机械性传播;Smith[4]认为,乙型肝炎病毒在某些蚊体内可复制,成为乙型肝炎的生物学宿主。因此,蚊虫传播乙型肝炎的机制有待探讨。

为了进一步观察乙型肝炎病毒在蚊体内携带情况,我们以致乏库蚊(*Culex fatigans*)人工感染表面抗原(HBsAg)阳性血清,观察HBsAg在蚊体内的携带规律,并对其卵块、排泄物及第二代幼虫、蛹、成蚊进行了HBsAg检测。

## 材料和方法

### 一、材料:

1.致乏库蚊:由广西壮族自治区寄生虫病防治研究所医学昆虫科供应,为实验室饲养、新孵化的蚊虫。

2.HBsAg阳性血液:为肝功能异常、HBsAg经SPRIA法检测为阳性、RPHA滴度为1:4096的乙型肝炎病人血清(亚型为A<sub>dr,e</sub>抗原阳性),与等量去纤维蛋白兔血混合。

3.阴性血液:为经SPRIA和RPHA检测的HBsAg、抗-HBs阴性健康输血员血清,与等量去纤维蛋白兔血混合。

4.ELISA试剂:由本站按Wilson和Nakane法[5]制备。

5.固相放射免疫试剂:由原子能研究所供给。

6.HBsAg、抗-HBs诊断血球、抗-HBs、纯抗体:由北京生物制品研究所供应。

7.胎盘膜:取自正常分娩人胎盘。

二、方法:将刚孵化7~10天的蚊虫分为3组。I组喂一次阳性血;II组多次饲喂阳性血;III组喂阴性血以作对照。三组均饲养于温度28℃、湿度60~80%的恒温室中,喂以10%葡萄糖水。感染前先使蚊虫处于饥饿状态,通过胎盘膜喂血。喂血前各组取两批(10只/批)作感染前对照。

I组:一次喂阳性血后,喂10%葡萄糖水。感染后逐日采集蚊虫(去掉雄蚊),每批10只,加0.01M pH7.2 PBS 1毫升,研碎置-10℃冻存,待检。

II组:每隔5天喂阳性血一次,共喂3次,每日收集20只雌蚊,将头、胸部及腹部分离,同类合并,各加PBS 1毫升。处理方法同I组。

III组:喂阴性血作对照,处理方法同I组。

在感染期间,我们还收集阳性组、阴性组所产的卵块各两份(10块/份),加PBS 0.5毫升;另收集幼虫两份(200只/份)、蛹两份(200只/份)及羽化的成蚊两份(50只/份),各份分别加PBS 2毫升。对感染后3天内及1~34天的排泄物,各加PBS 0.5毫升,冻存待测。

所有标本均用RPHA、ELISA、SPRIA三种方法检测HBsAg。HBsAg阳性标本均作阻断试验,确证为阳性,并对部分阳、阴性标本进一步用免疫电镜检测,结果另有报道。

## 结 果

蚊虫一次吸血后,绝大部分雌蚊都能饱食,每只吸血2~3微升,一批10只约20微升,每批加PBS 1毫升,蚊体内血液稀释为1:

\* 广西壮族自治区卫生防疫站

\*\* 南宁市卫生防疫站

# 北京市卫生防疫站

50左右。

在I组所收集36天的标本中,阳性组吸血后1~3天内经RPHA、ELISA和SPRIA法均检出HBsAg,第4天仅SPRIA法为阳性。可由RPHA的滴度1:16~1:64及SPRIA的P/N值看出。蚊虫吸血后,随时间延长,HBsAg的滴度逐渐下降,第4天后消失。

为观察蚊虫吸血后HBsAg在其体内的分布,将多次吸血后的蚊虫分头、胸及腹部检测。发现每次吸血后3天内腹部为阳性,SPRIA法检测至第4天头、胸及腹部皆阳性,5~36天均未检出。

第III组(对照组)标本均未检出HBsAg。

蚊虫吸入阳性血后,所产的卵块及孵化的幼虫、蛹和第二代的雌、雄蚊及其排泄物,亦均未查出HBsAg。

### 讨 论

广西地处亚热带,人群HBsAg阳性率为13.4%,显著高于国内平均水平(8.8%)。南宁市居民人口稠密,人群HBsAg携带率为10.3%。蚊虫密度高,尤以致乏库蚊占优势,用RPHA及ELISA法检出自然界捕获的吸血蚊虫,HBsAg阳性率分别为4.1%和10.3%<sup>[3]</sup>;未吸血及怀孕蚊虫则为阴性。认为吸血蚊虫在乙型肝炎的传播中可能起机械传播作用。Zuckerman给埃及伊蚊喂HBsAg阳性血,发现抗原消失与胃血消化平行。Tin Khin Maung等给埃及伊蚊吸乙型肝炎患者血后,用免疫扩散法可测出2天HBsAg阳性,电泳法可检测阳性至第7天。蚊虫排泄物中未测出HBsAg<sup>[2]</sup>。

本文结果也发现,在72~96小时蚊胃血消化以后,抗原也消失。RPHA法可测出吸血后2天HBsAg阳性;ELISA法可测到2~3天;SPRIA法可测到3~4天。吸阳性血蚊虫的排泄物、卵、幼虫、蛹、羽化的雌、雄成

蚊均未测出HBsAg,排泄物阴性,可能因检测测量过少的缘故。

我们在南宁市采集的蚊虫和国外报道的结果一致。进一步由人工感染证实,HBsAg的检出与血液存在有关,乙型肝炎病毒似不能在蚊体内复制或持续存在;未发现通过卵、幼虫、蛹及第二代雌、雄成蚊传代。可见吸血蚊虫只起机械性传播作用,而不是媒介宿主。

### 摘 要

本文介绍1982年用实验室饲养的致乏库蚊进行人工感染HBsAg阳性血。逐日采蚊用RPHA、ELISA、SPRIA三种方法检测,发现蚊虫携带HBsAg与蚊胃血消化有关。蚊虫吸血后1~4天内可检出HBsAg,血液消化后HBsAg也消失。HBsAg阳性蚊的排泄物、卵、幼虫、蛹及第一代雌、雄蚊均未检出HBsAg。说明吸血蚊的传播乙型肝炎病毒的作用,可能是通过机械性传播,而蚊虫不是媒介宿主。

### ABSTRACT

Mosquitoes of the species *Culex fatigans* were fed artificially on blood containing HBsAg. ELISA, SPRIA and RPHA were used for detecting HBsAg daily. It was found that HBsAg was detected for up to 1-4 days after feeding and disappeared in parallel with blood meal digestion. HBsAg was not detected in the excrete of adults, eggs, larvae, pupae and the first generation of female and male mosquitoes. There was no evidence of replication of HBsAg. It was suggested that the transmissible role of HBV by mosquitoes may be a mode of mechanic.

### 参 考 文 献

1. Prince AM: Am J Trop Med Hyg, 19: 872, 1970.
2. Tin KM et al: Lancet, 2: 258, 1973.
3. 丁正荣等: 中华流行病学杂志, 3(3): 167, 1982.
4. Smith JA et al: Nature (Lond), 237: 231, 1972.
5. Wilson NB et al: Immunofluorescence and Related Staining Techniques Proceeding of the 6th International Conference, P.215, Elsevier/North-Holland and Biomeolical Press, Holland, 1978.