

# 我国不同地理株白纹伊蚊对登革病毒的易感性

中山医科大学寄生虫学教研室

张升 何桂铭

**提要** 本文用棉球病毒悬液法感染白纹伊蚊,比较了我国9个不同地理株白纹伊蚊对经口感染登革病毒 I、II 和 IV 型的易感性。实验结果表明,我国不同地理株白纹伊蚊对经口感染登革病毒的易感性有差别。海口株对三个血清型登革病毒均较易感,北京株和成都株分别对登革病毒 I 型和 II 型较易感,各地理株白纹伊蚊对登革病毒 II 型的易感性普遍较高。本文还用蚊胸内病毒接种技术,比较了我国9个不同地理株白纹伊蚊对胸内接种感染登革病毒 I、II 和 IV 型的易感性,结果胸内接种各型登革病毒的易感性未见明显差异,提示经口感染易感性的差别是中肠屏障的作用。本文所采用的蚊脑涂片间接免疫荧光技术检测蚊脑内登革病毒抗原的方法,蚊脑组织在玻片上分布较均匀,可避免蚊头外骨骼对脑组织的遮盖,似比蚊头压片法易于观察结果,有利于提高检出率。

**关键词** 白纹伊蚊 易感性 登革病毒 地理株

1978年以来我国广东和广西先后出现了登革热流行,近两年仍有流行发生。埃及伊蚊和白纹伊蚊是传播登革热的主要媒介。在我国白纹伊蚊分布广泛<sup>[1]</sup>,在大多数地区白纹伊蚊是登革热传播的唯一或主要媒介。蚊媒对登革病毒的易感性是影响登革热流行和扩散的因素之一。本文观察了我国9个不同地理株白纹伊蚊对经口和胸内接种感染登革病毒 I、II 和 IV 型的易感性。

## 材料和方法

一、蚊株的来源及饲养:广州株白纹伊蚊系在广州市区捕获幼虫,并在本实验室已驯化三十代,其它不同地理株白纹伊蚊分别由北京医学院、河南医学院、湖北省寄研所、安徽医学院、上海第二医学院、四川省寄研所、广州军区军事医学研究所(郴州)和海南寄研所惠赠蚊卵,在本实验室驯化后使用。恒温实验室的温度控制在 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,相对湿度75~85%,每天光照14小时。幼虫饲养在容量为1000毫升的搪瓷盆内,保持幼虫不过分拥挤,每天饲以充足的3:7兔肝酵母粉。不同蚊株分批在同一日龄下感染病毒。经口和胸内接种感染后的成

蚊均饲以10%蔗糖溶液。

二、登革病毒的来源及保存:登革病毒 I 型(Hawaii株)由广东省流行病研究所惠赠,登革病毒 II 型(New Guinea C株)和登革病毒 IV 型(H241株)均由本校微生物学与免疫学教研室惠赠,在本实验室经乳鼠颅内连续传代二次后,第二次收获的发病鼠脑以灭活小牛血清研磨成10%(W/V)悬液,3000转/分离心15分钟,取上清(含病毒血清)分装于安瓿中,封口后贮存于液氮中备用。

三、登革病毒经口感染蚊虫:以洗涤后的兔红细胞加等体积灭活小牛血清的混合液,将从液氮中取出的小牛血清病毒悬液稀释到所需滴度,用纱布包裹棉花成一小球,蘸饱稀释好的兔红细胞牛血清病毒混合液,悬挂于蚊笼内,供饥饿24小时的蚊虫吸食30~45分钟,然后用吸蚊管将饱餐雌蚊吸到另一蚊笼内,27℃下饲养21~23天后,做蚊脑涂片间接免疫荧光检查,以脑神经细胞浆出现特异性荧光为阳性,无特异性荧光为阴性,计算阳性率。

四、登革病毒胸内接种感染蚊虫:蚊虫胸内接种按陈日光和胡定金(1982)<sup>[2]</sup>改良的Rosen和Gubler(1974)<sup>[10]</sup>方法进行。从液氮中

取出的牛血清病毒悬液定为 $10^{-1}$ 稀释度,再用含10%灭活小牛血清的Eagle氏液(pH7.4)连续十倍稀释,每稀释度接种雌性成蚊20只,每蚊接种 $0.25\mu\text{l}$ , $27^{\circ}\text{C}$ 下饲养14~16天后,每稀释度随机吸取6只蚊做蚊脑涂片间接免疫荧光检查,阳性判断标准同上,按Reed和Muench(1938)<sup>[9]</sup>方法计算胸内接种的50%蚊虫感染剂量( $\text{MID}_{50}$ )。

五、蚊脑涂片间接免疫荧光检测登革病毒抗原:参照Kuberski和Rosen(1977)<sup>[8]</sup>方法稍加改进。待检蚊置冰箱 $-12^{\circ}\text{C}$ 下使其冻僵后,在解剖镜下用双面刀片从颈部将蚊头切下摆在载玻片上,再用解剖针将蚊脑从颈部切口压出,并顺势将蚊脑均匀涂布在载玻片上,将蚊头外骨骼整块剔除。每涂完一个蚊脑,将解剖针在酒精灯上烧至红,冷却后再用。蚊脑涂片风扇吹干,冷丙酮固定。鼠抗各型登革病毒免疫腹水按Tesh(1979)<sup>[11]</sup>方法制备。兔抗鼠IgG荧光标记抗体为北京生物制品研究所出品。使用Leitz多功能荧光显微镜落射光源观察结果。

### 结果与讨论

蚊媒对虫媒病毒的易感性是决定蚊媒传播病毒的媒介能量(vector competence)的因素之一。Gubler和Rosen(1976)<sup>[4]</sup>及Gubler等(1979)<sup>[6]</sup>对世界上13个不同地理株白纹伊蚊和埃及伊蚊经口感染登革病毒的易感性进行了研究,证明不同地理株白纹伊蚊和埃及伊蚊对登革病毒的易感性存在差异。本实验比较了我国9个不同地理株白纹伊蚊对经口感染登革病毒I、II和IV型的易感性(表1)。

从表1可见,经口感染登革病毒I型的白纹伊蚊中,北京、海口和合肥株的感染率分别达到了14.3%、10.5%和10.0%,而成都、汉口和郑州株的感染率仅分别为2.4%、3.1%和3.8%,感染率之间呈显著差异( $P < 0.05$ )。感染登革病毒II型的成都、海口和郑州株感染率分别达到23.5%、21.1%和18.6%,而北京

表1 不同地理株白纹伊蚊经口感染登革病毒易感性的比较

蚊株	登革病毒 I 型 $10^{5.9}$ *		登革病毒 II 型 $10^{6.7}$		登革病毒 IV 型 $10^{5.9}$	
	实验蚊数	感染率 (%)	实验蚊数	感染率 (%)	实验蚊数	感染率 (%)
海口	38	10.5	62	21.1	54	11.1
广州	62	8.1	57	10.5	50	8.0
郴州	60	5.0	63	11.1	55	5.5
汉口	32	3.1	80	13.8	52	9.6
成都	85	2.4	51	23.5	56	5.4
上海	40	7.5	16	12.5	49	8.2
合肥	40	10.0	**	**	48	12.5
郑州	53	3.8	59	18.6	36	5.6
北京	70	14.3	42	9.5	36	8.3

\*蚊吸入病毒悬液滴度( $\text{MID}_{50}/\text{ml}$ ); \*\*: 未测

和广州株的感染率为9.5%和10.5%,差别亦有显著意义( $P < 0.05$ )。经口感染登革病毒IV型直观看合肥和海口株感染率较高,成都、郴州和郑州株感染率较低,但统计学处理未显示出差异( $P > 0.05$ )。从上述结果可见我国9个不同地理株白纹伊蚊对登革病毒I型和II型经口感染的易感性存在差异,且海口株对登革病毒I、II和IV型的易感性均较高。另外,北京株对登革病毒I型较易感,而对登革病毒II型较不易感;成都株对登革病毒II型较易感,而对登革病毒I型较不易感。这种某一地理株蚊媒对一个型别登革病毒较易感,而对另一型别登革病毒较不易感的结果,在流行病学上是否有某型登革病毒在某地较另一型易于流行的可能性尚待探讨。Gubler(1978)<sup>[5]</sup>也曾有类似的结果,他在比较不同地理株埃及伊蚊对登革病毒易感性时发现,曼谷株埃及伊蚊对登革病毒I、III和IV型易感性较低,对登革病毒II型易感性较高,而实际上登革病毒II型正是数年来曼谷登革热流行中最常分离到的病毒。

本实验各地理株白纹伊蚊经口感染的三个型别登革病毒悬液的滴度是相似的( $10^{5.9} \sim 10^{6.7} \text{MID}_{50}/\text{ml}$ ),从结果来看,各地理株

白纹伊蚊经口感染登革病毒 I 型的感染率范围在 2.4~14.3%，登革病毒 II 型感染率范围在 9.5~23.5%，登革病毒 IV 型感染率范围在 5.4~12.5%，总的看来各地理株白纹伊蚊对三个血清型登革病毒的易感性也有不同，各蚊株对登革病毒 II 型普遍较易感，而对登革病毒 I 型和 IV 型的易感性普遍较低（标准化率显著性测验  $P < 0.01$ ）。

本实验还比较了我国不同地理株白纹伊蚊对胸内接种感染登革病毒的易感性（表 2）。

表 2 不同地理株白纹伊蚊胸内接种感染登革病毒易感性的比较 [MID<sub>50</sub> (Log<sub>10</sub>)]

蚊株	登革病毒 I 型	登革病毒 II 型	登革病毒 IV 型
	106.9*	107.0	106.9
海口	-3.3	-3.3	-3.5
广州	-3.3	-3.4	-3.3
郴州	-2.8	-2.9	-3.3
汉口	-3.1	-3.6	-4.2
成都	-2.6	-3.4	-3.6
上海	-3.5	-3.7	-3.8
合肥	-3.7	-3.9	-3.2
郑州	-3.4	-3.7	-3.9
北京	-3.5	-3.2	-3.3

\*接种病毒悬液滴度 (MID<sub>50</sub>/ml)

从表 2 结果可见，不同地理株白纹伊蚊对胸内接种登革病毒 I 型的 MID<sub>50</sub> 范围在  $10^{-2.6} \sim 10^{-3.7}$ ，登革病毒 II 型在  $10^{-2.9} \sim 10^{-3.9}$ ，登革病毒 IV 型在  $10^{-3.2} \sim 10^{-4.2}$ ，可见我国这 9 个不同地理株白纹伊蚊对胸内接种感染登革病毒 I、II 和 IV 型的易感性是基本相同的，即使是在本实验中经口感染率相差数倍的蚊株其胸内接种感染的易感性也未见明显差异，这可能是因胸内接种感染病毒绕过了中肠屏障<sup>[3, 7]</sup>，病毒直接进入了蚊虫血腔，而后无论是在经口感染易感性高或低的白纹伊蚊体内复制，引起脑神经系统感染的过程都是一样的。

本实验用蚊脑涂片法间接免疫荧光检测蚊脑内的登革病毒抗原，比起 Kuberski 和 Rosen

(1977)<sup>[8]</sup>介绍的蚊头压片法，本法能整块地去除蚊头外骨骼使其不残留在玻片上，且涂片薄，较少有组织成堆，荧光镜检时易于发现阳性细胞，有利于提高检出率。

Studies on the Susceptibility among Geographic Strains of *Aedes albopictus* in China to Infection with Dengue Viruses Zhang Sheng, He Guiming., Department of Parasitology, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou

The comparative susceptibility to dengue serotype 1, 2 and 4 viruses infection of 9 geographic strains of *Aedes albopictus* was studied by means of experimental feeding the mosquitoes on pledgets soaked with virus-erythrocyte suspension and intrathoracic inoculation with dengue viruses. Variation in susceptibility for both dengue serotypes 1 and 2 was found among the geographic strains by feeding, but no significant difference among those by intrathoracic inoculation. It was evident that a "gut barrier" was involved. Thresholds of oral infection were not the same for dengue serotypes 1, 2 and 4. In terms of infection rate, Haikou strain was more susceptible to all three serotypes of viruses; Beijing and Chengdu strains were more susceptible to serotypes 1 and 2, respectively. All the geographic strains were more susceptible to dengue serotype 2 comparing with other two serotypes.

The mosquito head squash method for demonstrating dengue virus antigen by indirect fluorescent antibody technique was modified by mosquito brain tissue smear. This would be more accurate in detecting the dengue virus antigen in the brain tissue

Key words *Aedes albopictus* Susceptibility Dengue virus Geographic strain

### 参 考 文 献

1. 陆宝麟. 蚊虫综合防治. 科学出版社 1984; 170.
2. 陈日光, 胡定金. 几种虫媒病毒胸内感染白纹伊蚊的敏感性与繁殖动态观察. 中华微生物学与免疫学杂志 1982; 2 (1): 33.

3. Chamberlain RW, Sudia WD. Mechanism of transmission of viruses by mosquitoes. *Ann Rev Entomol* 1961; 6: 371.
4. Gubler DJ, Rosen L. Variations among geographic strains of *Aedes albopictus* in susceptibility to infection with dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg* 1976; 25(2): 318.
5. Gubler DJ. Factors influencing the distribution and spread of epidemic dengue hemorrhagic fever. *Asian J Infect Dis* 1978; 2: 128.
6. Gubler DJ, et al. Variation in susceptibility to oral infection with dengue viruses among geographic strains of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28(6): 1045.
7. Hardy JL, et al. Intrinsic factors affecting vector competence of mosquitoes for arboviruses. *Ann Rev Entomol* 1983; 28: 229.
8. Kuberski TT, Rosen L. A simple technique for the detection of dengue antigen in mosquitoes by immunofluorescence. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 26(3): 533.
9. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am J Hyg* 1938; 27: 493.
10. Rosen L, Gubler DJ. The use of mosquitoes to detect and propagate dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg* 1974; 23: 1153.
11. Tesh RB. A method for the isolation and identification of dengue viruses, using mosquito cell cultures. *Am J Trop Med Hyg* 1979; 28(6): 1053.

(本文有关病毒学方法承蒙郭辉玉教授指导,特此致谢)

## 冠心病、心肌梗塞发病与死亡原因趋向分析

吉林医学院心血管病研究室 马隆恩 王博文 牟玉祥 刘同库 王玉杰 纪文新 徐丽华

吉林省监测区从1984年开展 MONICA 方案以来,自1984~1987年主要监测心血管病,现对冠心病发病与死亡原因进行动态分析:

### 资料与分析

一、监测区的基本情况及人口构成:监测区由三级监测网组成:1.监测点:城市居委会、厂矿和农村的乡村卫生所(有职工、家属及乡村的自然人口)。由指定的负责医生报告监测人群中发病及死亡人数;2.监测中心医院、厂矿或地段医院,由指定医生负责登记、核实、填写WHO规定的登记表上报协调中心(心血管病研究室);3.协调中心:负责全部监测设计的实施、指导及汇总研究等工作。从1984~1987年共监测了2 321 287人,其中男性1 186 554人,女性1 134 733人,每年平均监测人数580 321。

二、冠心病(CHD)死亡专率:1984~1987年心血管病共死亡2 403例,死亡专率103.5/10万。其中冠心病死亡581例,占心血管病死亡的24.2%,死亡专率依次为20.2/10万(142例)、20/10万(81例)、28.5/10万(128例)、30.1/10万(230例),冠心病总死亡专率为25/10万(581例)。低于重庆市冠心病死亡率31.4/10万。

三、冠心病(CHD)猝死专率:冠心病猝死均在

25岁以上,1984~1987年冠心病猝死者248例,冠心病猝死总死亡专率为19/10万,各年分别为20/10万、17/10万、22/10万、16/10万。各年度间变化不大,1987年猝死有所减少,与我们大力举办心肺复苏培训班与开展宣传防治知识有关。猝死发病至死亡时间多为1~24小时。冠心病猝死主要发生在45岁以上各年龄组中,25~74岁年龄组人群猝死专率16/10万,55岁以上年龄组以41/10万递增,75岁组猝死专率达高峰183/10万。

四、急性心肌梗塞(AMI)发病率、死亡率和病死率:1984~1987年共发生AMI 229例,总发病率为10/10万,死亡158例,死亡专率为7/10万;病死率为68.9%,与首钢居民区AMI平均年死亡率6.9/10万相近。按WHO规定25~74岁年龄组登记:四年共发生AMI 211例,发病专率为16/10万,死亡142例平均年死亡率11/10万,病死率为67.2%;各年发病率依次为6/10万、15/10万、21/10万、18/10万,死亡率为5/10万、13/10万、19/10万、6.4/10万,病死率为82.9%、85.3%、89.5%、35.4%,1984~1986年发病率、死亡率和病死率有逐年增加的趋势,到1987年有所下降这与本监测区开展心血管病防治及CCU监护病房普遍建立有关。