

# 山西省运城市 2012 年蚊媒病毒的分离鉴定

郑雅匀 曹玉玺 付士红 程璟侠 赵俊英 代培芳 孔祥盛 梁国栋

**【摘要】** 目的 了解山西省运城市蚊虫及蚊媒病毒的种类和分布。方法 2012 年 8 月在山西省运城市临猗县和永济市采集蚊虫标本,经鉴定分类和分批研磨后,利用细胞(C6/36 和 BHK21)培养方法分离病毒,对阳性分离物使用蚊媒病毒种属特异引物进行 RT-PCR 扩增鉴定。结果 采集 4 属 7 种 10 455 只蚊虫,临猗县和永济市优势蚊种分别为淡色库蚊(91.96%)和三带喙库蚊(72.85%)。经鉴定分析,从标本中分离到 15 株基因 I 型乙型脑炎病毒(JEV)、4 株库蚊黄病毒(CxFV)、3 株淡色库蚊核壳病毒(CppDENV)和 1 株盖塔病毒(GETV)。结论 首次从山西省分离 GETV 和 CxFV;三带喙库蚊仍是运城市优势蚊种,目前当地自然循环的 JEV 仍以基因 I 型为主。

**【关键词】** 蚊媒病毒;乙型脑炎病毒;盖塔病毒;库蚊黄病毒

**Isolation and identification of mosquito-borne arboviruses in Yuncheng city, Shanxi province, 2012** Zheng Yayun<sup>1</sup>, Cao Yuxi<sup>1</sup>, Fu Shihong<sup>1</sup>, Cheng Jingxia<sup>2</sup>, Zhao Junying<sup>2</sup>, Dai Peifang<sup>2</sup>, Kong Xiangsheng<sup>2</sup>, Liang Guodong<sup>1</sup>. 1 State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100052, China; 2 Shanxi Provincial Center for Disease Control and Prevention

Corresponding author: Liang Guodong, Email: gdliang@hotmail.com  
This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 81290342) and National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2011CB504702).

**【Abstract】** **Objective** To investigate the species and distribution of mosquitoes and mosquito-borne arboviruses in Yuncheng city of Shanxi province, China. **Methods** Mosquito samples were collected in 19 collection sites from Linyi county and Yongji city in Yuncheng city, in August, 2012. After identification and classification, all the specimens were homogenized and centrifuged to acquire supernatant before being inoculated to both C6/36 and BHK21 cells for viral isolation. Positive isolates were identified with arbovirus species-specific primers under RT-PCR, for further sequencing and phylogenetic analysis. **Results** A total of 10 455 mosquitoes of 7 species in 4 genera were collected. The predominant mosquito species in Linyi county was *Culex pipens pallens* (91.96%, 3 911/4 253), but the one in Yongji city was *Culex tritaeniorhynchus* (72.85%, 4 518/6 202). A total of 23 strains of viruses were isolated from the mosquito pools. 15 strains from *Culex tritaeniorhynchus* and *Culex pipens pallens* were identified as genotype I Japanese encephalitis virus (JEV). Four strains from *Culex pipens pallens* were identified as *Culex flavivirus* (CxFV). Three strains from *Culex pipens pallens* were identified as *Culex pipiens pallens densovirus* (CppDENV). One strain from *Armigeres subalbatus* and *Aedes albopictus* was identified as Getah virus (GETV). **Conclusion** Four kinds of arboviruses were isolated from the mosquito pools, including GETV and CxFV, which were isolated and documented in Shanxi province for the first time. In the city of Yuncheng, *Culex tritaeniorhynchus* had been the predominant species and major vector for transmitting JEV. Genotype I JEV remained the major JEV circulating in the local natural environment.

**【Key words】** Mosquito-borne arboviruses; Japanese encephalitis virus; Getah virus; *Culex flavivirus*

2006 年 7—8 月在山西省运城市发生流行性乙型脑炎(乙脑)流行,86%患者为成年人且死亡率很高<sup>[1]</sup>。随即有研究者连续两年在当地开展蚊媒病毒

调查工作,但并未分离出乙脑的病原——乙脑病毒(JEV)<sup>[2-3]</sup>。本研究于 2012 年夏季再次对山西省运城市开展蚊媒病毒调查研究,结合多种捕蚊工具采集标本,以期了解当地主要蚊媒病毒种类及遗传特性,为当地疾病监测提供依据。

## 材料与方法

1. 标本采集:2012 年 8 月 7—12 日在山西省运城市临猗县和永济市选择果园、猪场、鱼塘等场地,

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.04.016

基金项目:国家自然科学基金(81290342);国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2011CB504702)

作者单位:100052 北京,中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所传染病预防控制国家重点实验室(郑雅匀、曹玉玺、付士红、梁国栋);山西省疾病预防控制中心(程璟侠、赵俊英、代培芳、孔祥盛)

通信作者:梁国栋, Email:gdliang@hotmail.com

采用光催化诱蚊器、CO<sub>2</sub>蚊虫诱捕器、诱蚊诱卵器等工具捕捉蚊虫。于每日17:00至次日06:00开启诱蚊器,仅收集留取活蚊,将蚊虫置于-20℃冰箱30 min,然后在冰排上剔去雄蚊、鉴定蚊种,50~100只同属的蚊虫为单位装入1支冻存管。编号记录后装入液氮中保存待检。

2. 标本处理及病毒分离:将冻存的蚊虫标本倒入预冷塑料研磨管中,每管加入1.5 ml研磨液[每100 ml研磨液中包含MEM液96 ml,青霉素和链霉素(PS)2 ml,1%谷氨酰胺(G)1 ml,7.5%碳酸氢钠约1 ml],使用组织振荡仪充分研磨至匀浆状,以4℃18 000 g离心30 min,取上清液接种于生长达到70%~80%单层的C6/36和BHK-21细胞,并分别于28℃和37℃的CO<sub>2</sub>孵箱中培养。逐日观察细胞病变(CPE),当细胞病变达卅(约80%)时收获,以-20℃反复冻融3次使细胞充分裂解释放病毒,离心后取上清再次接种细胞,连续盲传3代,有病变者继续传代至出现规律病变,无病变者舍弃。

3. 病毒分离物的分子生物学鉴定:使用德国Qiagen公司的Viral RNA Mini Kit提取病毒总RNA,按试剂盒说明书进行操作。使用美国Invitrogen公司“SuperScript™ III First-Strand Synthesis System for RT-PCR”试剂盒及随机引物Oligo(dT<sub>20</sub>)反转录获得cDNA。使用宝生物工程(大连)有限公司的GoTaq Green Master Mix及蚊媒病毒种属特异引物进行PCR扩增(表1)。扩增产物以1%琼脂糖凝胶进行电泳,对阳性PCR产物进行回收,连接pGEM-T easy载体(美国Promega公司)测定序列。

4. 病毒分离物的基因序列进化分析:使用DNAMAN软件进行测序片段的拼接和校正;采用Clustal X2.09软件完成核苷酸序列同源性分析及比对;核苷酸差异度分析经由DNASar软件包中的MegAlign软件完成;应用Mega v5.1软件选择邻接法构建系统进化树,自展数值为1 000。

### 结 果

1. 蚊虫分布:在山西省运城城市临猗县和永济市的19个标本采集点共捕捉蚊虫4属7

种10 455只。从总量看,淡色库蚊(47.02%,4 917/10 455)和三带喙库蚊(46.43%,4 854/10 455)构成比重相当,其他种类蚊虫仅占6.49%。临猗县以淡色库蚊为绝对优势蚊种(91.96%,3 911/4 253),永济市的主要蚊种为三带喙库蚊(72.85%,4 518/6 202)。

2. 病毒分离:将蚊虫标本分190批处理,分别接种C6/36和BHK-21细胞培养分离病毒,经连续3代(每代培养6 d)感染细胞,获得8批标本在C6/36细胞导致规律CPE(包括聚集、融合、脱落),其中1株分离物能导致BHK-21细胞发生剧烈病变,标本第二代接种后培养3 d即显示细胞迅速缩小、边缘不整齐,4 d全部细胞脱落。另有15批标本第三代仅导致C6/36细胞轻微CPE(培养至6 d仍无脱落,仅个别细胞圆肿),将此培养物转接BHK-21细胞后一代即导致剧烈病变,主要表现为第3天起细胞不规则缩小,5 d可达到细胞完全脱落。

3. 病毒的分子生物学鉴定:对于发生细胞CPE的23株阳性分离物,首先使用蚊媒病毒种属特异引物进行RT-PCR扩增鉴定。其中19株属于黄病毒属成员:包括15株导致C6/36细胞轻微病变的JEV(12-LY039、12-YJ016、12-YJ017、12-YJ021、12-YJ022、12-YJ023、12-YJ030、12-YJ033、12-YJ038、12-YJ044、12-YJ054、12-YJ075、12-YJ078、12-YJ082、12-YJ084),以及4株仅引起

表1 蚊媒病毒引物信息

引物名称	扩增区段	序列(5'~3')	产物长度 (bp)	参考文献
Flavivirus				[4]
FU1	NS5	TACAACATGATGGGAAAGAGAGAGAA	310	
cFD2		GTGTCCAGCCGGCGGTGCATCAGC		
Banna virus				[5]
BAV 12-854-S	12 <sup>th</sup> segment	AAATTGATAGYGYTTGCGTAAGAG	850	
BAV 12-B2-R		GTTCTAAATTGGATACGGCGTGC		
CppDNV <sup>a</sup>				[6]
DNV 3F	NS1-NS2	TGTCCTTTCTCTGGTATTCTTC	903	
DNV 3R		CATACTACACATTCGTCTCCAC		
JEV <sup>a</sup>	E gene			[7]
JE-955F		TGYTGGTCGCTCCGGCTTA	1 581	
JE-2536R		AAGATGCCACTTCCACAYCTC		
GETV <sup>a</sup>	E2			[8]
E2F		GTAACAATAGTGCACGCCACC	1 400	
E2R <sub>1</sub>		GGCAGCAGCAAAGCAGTTTC		
CxFV <sup>a</sup>	E gene			[9]
CxFV-2F		AACGGACTTCTTGAGTTTCGC	1 200	
CxFV-2R		GCCTTGGTGTAGACAAAGTATC		
CxFV-3F		GCAAGGTTGGAGAATGGC		
CxFV-3R		GACCTTGAAGTGAATACCC		
CxFV-4F		GTCTAAAGCAAACCACATTC		
CxFV-4R		CGGTCCGTAAGTTCCTTCTAAT		

注:<sup>a</sup>兼并引物信息M:C/A;W:A/T;Y:C/T;K:G/T;R:G/A;V:G/A/C;D:T/A/G

C6/36 细胞典型病变的库蚊黄病毒 (CxFV) (12-LY005、12-LY015、12-LY035、12-YJ018); 3 株引起 C6/36 细胞病变的分离物为淡色库蚊浓核病毒 (CppDNV) (12-LY002, 12-LY003, 12-LY006); 1 株同时导致 C6/36 和 BHK-21 细胞典型病变的分离物为盖塔病毒 (GETV) (12-YJ020)。所有毒株的背景信息见表 2。

进一步对 15 株 JEV 进行 E 基因片段 (JE-955F, JE-2536R) 特异扩增, 可获得 1 500 bp 大小的目标产物; 4 株 CxFV 的 E 基因特异引物 (CxFV-2F, CxFV-2R; CxFV-3F, CxFV-3R; CxFV-4F, CxFV-4R) 扩增均可获得 1 200 bp 大小的目标产物。

4. 病毒分离株的系统进化分析: 将 PCR 阳性产物序列提交至 GenBank 进行比对, 并下载相关序列构建数据集, 使用邻接法构建系统进化树。

JEV: 将新分离的 15 株 JEV 株与不同国家、地区的 JEV 毒株 E 基因序列进行系统进化分析及基因分型, 毒株来源涵盖不同宿主、分离年代和基因型别。结果显示, JEV 包含 5 个基因型别, 2012 年山西省 JEV 新分离株均分布于基因 I 型 (图 1)。15 株新分离 JEV 高度同源, 并与山西省 2009 年猪源分离株 SX09S-01 遗传关系最近, 位于同一进化簇中。其他与山西省新分离 JEV 亲缘关系较接近的毒株包括辽宁 (XJ69)、江西 (JX61) 和上海的 JEV 分离株 (SH53、

SH17M-07) (图 1)。与目前在我国使用的减毒活疫苗株 SA14-14-2 序列相比, 山西省新分离 JEV 的核苷酸同源性为 87.9% ~ 88.1%, 氨基酸同源性达到 97.2% ~ 100.0%; 同为基因 I 型, 15 株新分离 JEV 与 2009 年山西省分离株 SX09S-01 和分离自患者脑脊液的 GZ56 的 E 基因氨基酸同源性最高, 均达 100.0%。基因序列已提交 GenBank 注册, 序列号: KP216584 ~ KP216598。

CxFV: 分别拼接新分离 CxFV 的 3 段 E 基因核酸序列, 获得 4 株病毒全长 E 基因序列信息 (GenBank 序列号: KP216580 ~ KP216583)。系统进化分析结果中所有 CxFV 株分布在 2 个基因型别中, 本研究获得的毒株与其他来自中国大陆地区的分离株位于同一分支, 与 2006 年山东分离株 SDDM06-11 进化关系最近, 并且与美国、日本株位于同一个基因型别 (GEN I) 中 (图 2)。山西省 CxFV 新分离株之间高度同源, 其中 12-LY005、12-LY015 和 12-LY035 的 E 基因核苷酸、氨基酸同源性均为 100.0%, 与 12-YJ018 的同源性分别为 99.9% 和 99.8%。山西省新分离株与 SDDM06-11 核苷酸和氨基酸同源性最高, 分别为 99.3% 和 97.3%。

盖塔病毒 (GETV): 将 12-YJ020 的 E2 基因序列 (GenBank 序列号: KP216576) 与其他 18 株国内外 GETV 及其他甲病毒属成员 (Ross River Virus) 进行系统进化及同源性分析, 结果显示, 12-YJ020 与上海分离株 SH0516 和 SH0515 的核酸亲缘关系及同源性最高, 均为 99.3%, 与甘肃分离株 GS10-2 同源性为 99.1%。SH0516、SH0515 和 GS10-2 与 12-YJ020 的氨基酸同源性分别为 99.5%、99.5% 和 99.2% (图 3)。

CppDNV: 基于 NS1 和 NS2 基因序列的进化分析结果显示 (图 4), 山西省新分离 CppDNV 的 3 个毒株 (GenBank 序列号: KP216577 ~ KP216579) 核苷酸同源性为 100.0%, 与我国其他地方 CppDNV 分离株同属于短颈浓核病毒属 (Brevdensovirus), 亲缘关系最近、同源性也很高, 为 99.8% ~ 100.0%, 其中与 CppDNVJZ16、CppDNVGZWN1、CppDNVGZWN 和 XJ058 核酸同源性达 100.0%。

表 2 蚊媒病毒分离株背景信息

地区	分离地	来源	媒介蚊种	株名	病毒	单管蚊虫数量	
临猗县	临晋镇泉杜村	苹果园	淡色库蚊	12-LY002	CppDNV	100	
	临晋镇泉杜村	苹果园	淡色库蚊	12-LY003	CppDNV	100	
	临晋镇泉杜村	苹果园	淡色库蚊	12-LY005	CxFV	100	
	临晋镇泉杜村	苹果园	淡色库蚊	12-LY006	CppDNV	100	
	临晋镇坑西村	猪场	淡色库蚊	12-LY015	CxFV	21	
	临晋镇泉杜村	苹果园	淡色库蚊	12-LY035	CxFV	48	
	阎家庄工贸区南王庄村	猪场	淡色库蚊	12-LY039	JEV	28	
	永济市	张营镇舜帝村	猪场	三带喙库蚊	12-YJ016	JEV	100
		张营镇舜帝村	猪场	三带喙库蚊	12-YJ017	JEV	100
栲栳镇栲栳村		猪场	淡色库蚊	12-YJ018	CxFV	60	
栲栳镇栲栳村		猪场	杂蚊	12-YJ020	GETV	13	
张营镇舜帝村		猪场	三带喙库蚊	12-YJ021	JEV	100	
张营镇舜帝村		猪场	三带喙库蚊	12-YJ022	JEV	67	
张营镇舜帝村		猪场	淡色库蚊	12-YJ023	JEV	24	
栲栳镇大鸳鸯村		鱼塘	三带喙库蚊	12-YJ030	JEV	13	
张营镇舜帝村		猪场	三带喙库蚊	12-YJ033	JEV	12	
张营镇黄龙村		猪场	淡色库蚊	12-YJ038	JEV	28	
张营镇黄龙村		猪场	三带喙库蚊	12-YJ044	JEV	85	
张营镇舜帝村		猪场	三带喙库蚊	12-YJ054	JEV	90	
张营镇舜帝村		猪场	三带喙库蚊	12-YJ075	JEV	80	
张营镇舜帝村		猪场	三带喙库蚊	12-YJ078	JEV	100	
张营镇舜帝村		猪场	三带喙库蚊	12-YJ082	JEV	75	
张营镇舜帝村	猪场	三带喙库蚊	12-YJ084	JEV	100		

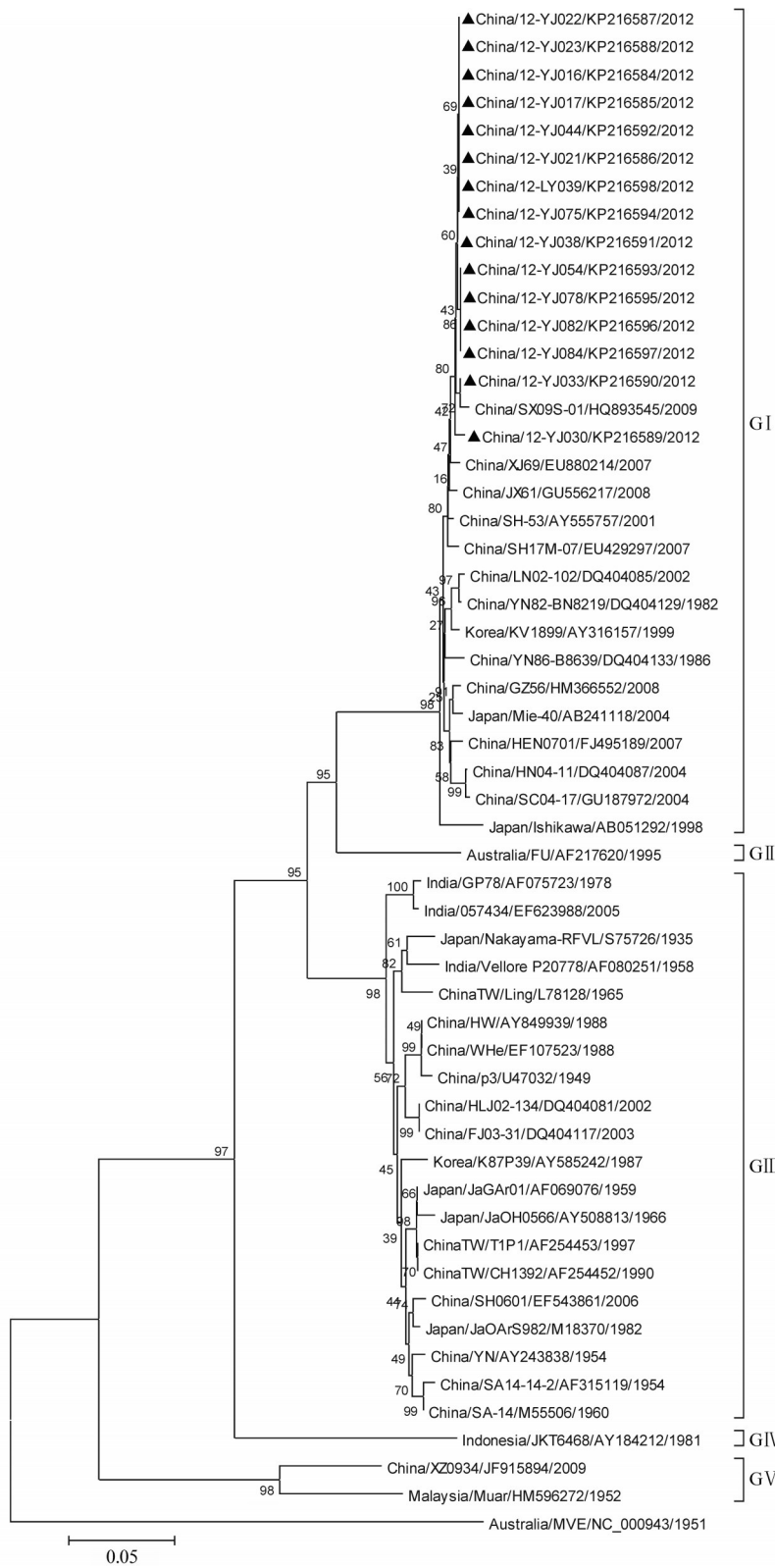


图 1 JEV 的 E 基因系统进化分析

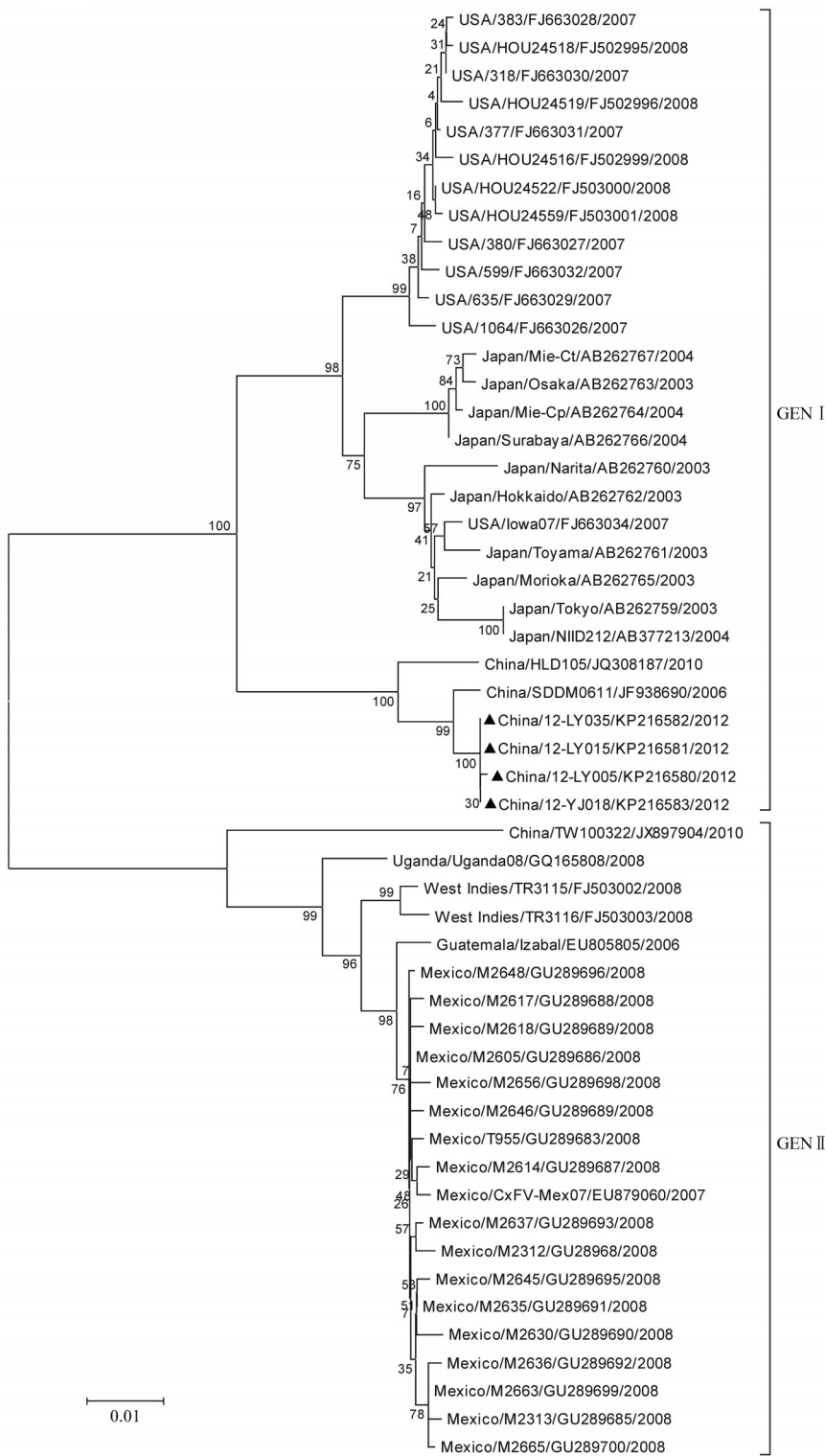
讨论

已证实 3 种蚊媒病毒及相关疾病在中国存在与流行,包括 JEV、登革热病毒(Dengue virus, DENV)<sup>[10]</sup>

以及 Tahyna 病毒(Tahyna virus, TAHV)<sup>[11]</sup>。其中 JEV 所致的乙脑在中国造成较大疾病负担<sup>[12]</sup>。中国 > 90% 乙脑病例发生在 < 15 岁儿童,该病可通过及时接种乙脑疫苗预防<sup>[13]</sup>,但山西省 2006 年发生成年人乙脑流行<sup>[1]</sup>,仅 7—8 月累计报告病例 66 例,病死率为 28.8%, 94.74% 死亡病例分布在年龄 > 50 岁组<sup>[1, 14]</sup>。JEV 通过“蚊虫—猪—蚊虫”循环实现其在自然界中的保存和传播<sup>[12]</sup>,但在当年及随后开展的运城市多种生境蚊媒病毒调查工作中,并未分离到 JEV<sup>[2-3]</sup>。

本研究于 2012 年夏季再次在山西省运城市进行蚊媒病毒监测,共获得包括 JEV 在内的 4 种、23 株病毒分离物。其中,GETV 广泛分布于东南亚及澳大利亚北部等太平洋沿岸地区<sup>[15]</sup>,能够在猪、马等多种动物中引发自限性疾病<sup>[10]</sup>,在我国已先后从河北、云南、甘肃等省分离到<sup>[8, 16]</sup>,本研究分离的 12-YJ020 为首次在山西省分离报道 GETV,该毒株与上海(SH0515、SH0516)、甘肃(GS10-2)分离株的 E2 基因亲缘关系最为接近,鉴于 E2 编码蛋白是病毒与宿主细胞受体相互作用、诱导产生中和抗体的最重要表面蛋白,提示山西省新分离 GETV 与以上毒株在致病性方面表现更为相似。Wang 等<sup>[9]</sup>于 2006 年从山东省首次分离到 1 株昆虫特异性病毒 CxFV (编号 SDDM06-11),该种病毒仅能在 C6/36 细胞扩增导致病变,不能在哺乳动物细胞中扩增。本研究首次从山西省分离到 4 株 CxFV,同样仅能在 C6/36 细胞中导致 CPE,较典型特征表现为细胞融合,系统进化分析显示,山西省分离株与 SDDM06-11 同源性最高,提示 CxFV 在我国已经呈现扩展分布趋势,且毒株变异度较小。2007 年付士红等<sup>[3]</sup>从山西省南部蚊虫中分离到 4 株 CppDENV,本次仍能分离到该种病毒,提示 CppDENV 在山西省南部地区自然界中稳定存在。E 基因编码蛋白决定着 JEV 毒力及抗原性,比较 2012

2007 年付士红等<sup>[3]</sup>从山西省南部蚊虫中分离到 4 株 CppDENV,本次仍能分离到该种病毒,提示 CppDENV 在山西省南部地区自然界中稳定存在。E 基因编码蛋白决定着 JEV 毒力及抗原性,比较 2012



注: ▲本研究分离的 CxFeV

图 2 山西省首次分离 CxFeV 的 E 基因系统进化分析

年山西省运城市的 JEV 毒株,发现均为基因 I 型 JEV,且新分离株与疫苗株的 E 基因关键位点未见异常突变,提示分离株毒力并未降低而神经侵入力同样较弱,可以说明当地自然界中存在乙脑的病原体,并且基因 I 型 JEV 已成为当地优势毒种。

代培芳等<sup>[17]</sup>于 2006 和 2007 年对山西省运城市进行媒介蚊虫调查,临猗县 2006 年 9 月捕获的三带喙库蚊和淡色库蚊分别占 59.4% 和 38.7%, 2007 年 8 月分别为 77.7% 和 22.1%。2012 年 8 月,除蚊虫总量减少外,淡色库蚊已取代三带喙库蚊成为当地绝对优势蚊种(91.96%),媒介的大幅改变可能导致其携带相应病毒的种类和数量变化。从临猗县蚊虫分离的 7 株病毒中仅 1 株为 JEV(12-LY039),但该毒株分离自淡色库蚊,且标本来源于既往有乙脑病例的农户家的猪舍,提示当地仍然存在可致病 JEV。本研究中永济市蚊虫相对较多,三带喙库蚊和淡色库蚊分别占 72.9% 和 16.2%,相对于 2007 年同期数据亦有改变(三带喙库蚊 57.6%,淡色库蚊 40.0%)<sup>[17]</sup>,所分离毒株中 JEV 占 87.5%(14/16)。三带喙库蚊对 JEV 高度易感<sup>[18]</sup>,本研究中携带 JEV 的媒介以三带喙库蚊为主,也包含淡色库蚊,且分离到 JEV 毒株的标本均来自猪场,提示相关地方仍需严格做好对猪场等环境的防蚊灭蚊及卫生管理工作,防患于未然。

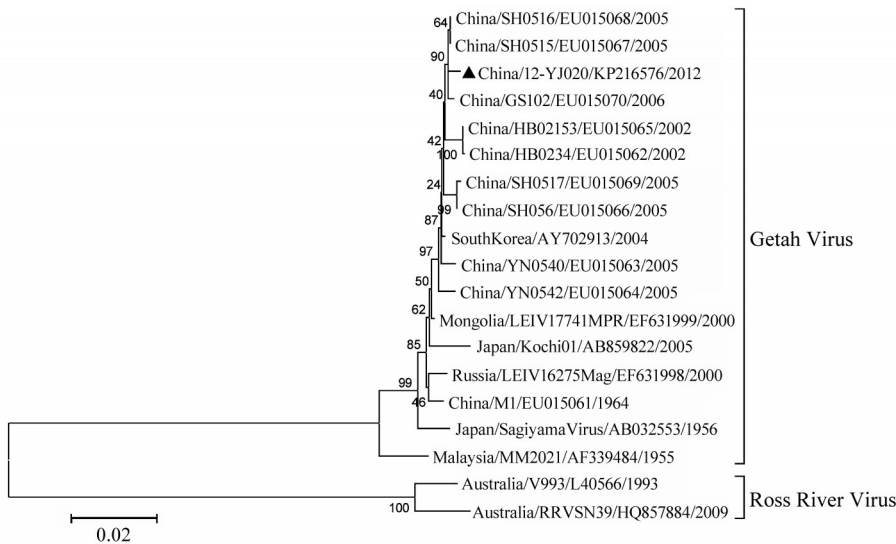
[感谢运城市疾病预防控制中心(CDC)、临猗县 CDC 及永济市 CDC 对本项目的支持]

### 参 考 文 献

[1] Wang LH, Fu SH, Wang HY, et al. Japanese encephalitis outbreak, Yuncheng, China, 2006 [J]. Emerg Infect Dis, 2007, 13(7): 1123-1125.

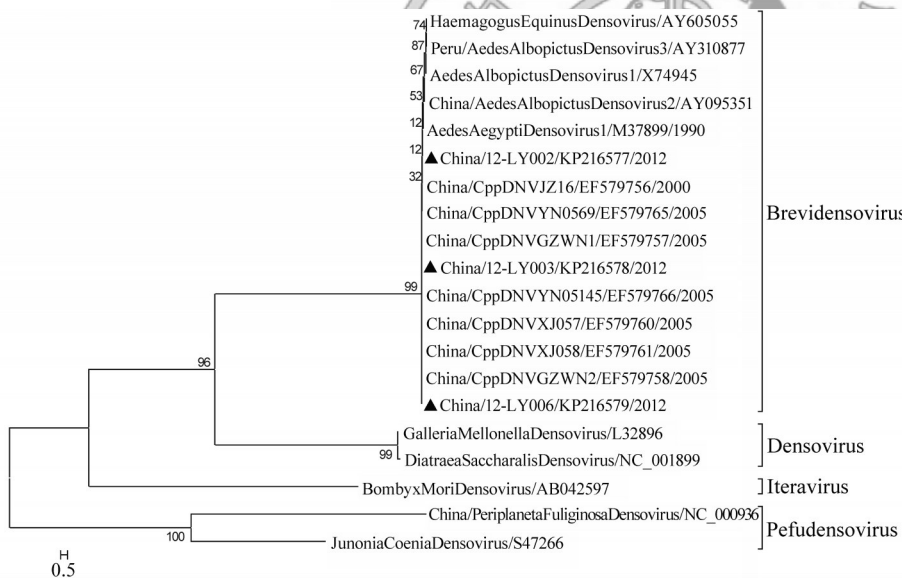
[2] Li MH, Meng WS, Fu SH, et al. Arbovirus investigation in some regions of Shanxi province in 2007 [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2009, 23(1): 32-34. (in Chinese)  
李铭华, 孟维珊, 付士红, 等. 2007 年山西省部分地区虫媒病毒调查 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2009, 23(1): 32-34.

[3] Fu SH, Li MH, Meng WS, et al. Isolation and identification of Arbovirus in southern part of Shanxi province, 2006 [J]. Dis



注: ▲ 本研究分离的 GETV

图3 山西省首次分离GETV的E2基因系统进化分析



注: ▲ 本研究分离的 CppDENV

图4 CppDENV分离株系统进化分析

Surveill, 2010, 25(2): 95-98. (in Chinese)  
 付士红, 李铭华, 孟维珊, 等. 2006年山西省南部地区虫媒病毒分离鉴定[J]. 疾病监测, 2010, 25(2): 95-98.  
 [4] Kuno G. Universal diagnostic RT-PCR protocol for arboviruses[J]. J Virol Methods, 1998, 72(1): 27-41.  
 [5] Billoir F, Attoui H, Simon S, et al. Molecular diagnosis of group B coltivirus infections[J]. J Virol Methods, 1999, 81(1/2): 39-45.  
 [6] Zhai YG, Lyu XJ, Sun XH, et al. Isolation and characterization of the full coding sequence of a novel densovirus from the mosquito *Culex pipiens pallens*[J]. J Gen Virol, 2008, 89(Pt 1): 195-199.  
 [7] Wang HY, Li YX, Liang XF, et al. Japanese encephalitis in mainland China[J]. Jpn J Infect Dis, 2009, 62(5): 331-336.  
 [8] Zhai YG, Wang HY, Sun XH, et al. Complete sequence characterization of isolates of Getah virus (genus Alphavirus, family Togaviridae) from China[J]. J Gen Virol, 2008, 89(Pt 6): 1446-1456.  
 [9] Wang HY, Wang HY, Fu SH, et al. Isolation and identification of a distinct strain of *Culex flavivirus* from mosquitoes collected

in Mainland China [J]. Virol J, 2012, 9(1): 73.  
 [10] Liang GD. Newly isolated arboviruses and their vectors in mainland China [J]. Chin J Vector Biol Control, 2010, 21(3): 181-183. (in Chinese)  
 梁国栋. 我国新分离虫媒病毒及其传播媒介[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2010, 21(3): 181-183.  
 [11] Li WJ, Wang JL, Li MH, et al. Mosquitoes and mosquito-borne arboviruses in Qinghai-Tibet Plateau-focused on the Qinghai area, China [J]. Am J Trop Med Hyg, 2010, 82(4): 705-711.  
 [12] Zheng YY, Li MH, Wang HY, et al. Japanese encephalitis and Japanese encephalitis virus in mainland China [J]. Rev Med Virol, 2012, 22(5): 301-322.  
 [13] Zheng JS, Zhou YQ, Wang HQ, et al. The role of the China Experts Advisory Committee on Immunization Program [J]. Vaccine, 2010, 28 Suppl 1: S84-87.  
 [14] Yin ZD, Liang XF, Li YX, et al. Investigation and analysis on the Japanese B encephalitis epidemic in Yuncheng prefecture, Shanxi province, 2006 [J]. Chin J Vaccin Immunol, 2007, 13(3): 270-273. (in Chinese)  
 尹遵栋, 梁晓峰, 李艺星, 等. 运城市2006年流行性乙型脑炎疫情调查分析[J]. 中国计划免疫, 2007, 13(3): 270-273.  
 [15] Bryant JE, Crabtree MB, Nam VS, et al. Isolation of arboviruses from mosquitoes collected in northern Vietnam [J]. Am J Trop Med Hyg, 2005, 73(2): 470-473.  
 [16] Wang HQ, Liu WB, Yang DR, et al. Isolation and identification of arboviruses in Hebei province [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2006, 20(1): 52-55. (in Chinese)

王焕琴, 刘卫兵, 杨冬荣, 等. 河北省虫媒病毒分离鉴定[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2006, 20(1): 52-55.  
 [17] Dai PF, Zhao JY, Kong XS, et al. A survey on Japanese encephalitis mosquito vectors in some regions of Shanxi province [J]. Chin J Vector Biol Control, 2010, 21(1): 51-53. (in Chinese)  
 代培芳, 赵俊英, 孔祥盛, 等. 山西省部分地区流行性乙型脑炎媒介蚊虫调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2010, 21(1): 51-53.  
 [18] Deng SZ, Zhang HL, Li JM, et al. The maintenance, spread and vectors for Japanese encephalitis virus in nature [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2008, 22(2): 140-142. (in Chinese)  
 邓淑珍, 张海林, 李金梅, 等. 流行性乙型脑炎病毒在自然界的保存与扩散及传播媒介[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2008, 22(2): 140-142.

(收稿日期: 2014-10-29)

(本文编辑: 万玉立)