

· 现场调查 ·

云南省德宏州 2007 年和 2010 年蚊虫及蚊媒病毒调查

冯云 张海林 付士红 杨卫红 章域震 王丕玉 杨捷 刘永华 董朝良
李轼 张保森 尹正留 董兴齐 王环宇 梁国栋

【摘要】 目的 调查云南省德宏州蚊虫和蚊媒病毒分布特点。**方法** 2007 年和 2010 年的 7 月在德宏州 5 个县市利用诱蚊灯采集蚊虫标本,采用 C6/36 和 BHK-21 细胞分离病毒,RT-PCR 和序列分析方法鉴定病毒分离物。**结果** 共采集到 6 属 29 种 43 634 只蚊虫,其中三带喙库蚊构成比高达 78.69%,中华按蚊构成比为 14.77%,其他蚊种数量较少。从蚊虫中分离到 6 株病毒,经 RT-PCR 和进化分析表明,其中 3 株为基因 I 型流行性乙型脑炎病毒(JEV),均分离自三带喙库蚊;1 株盖塔病毒(GETV)分离自三带喙库蚊;2 株淡色库蚊浓核病毒(CppDNV)分别分离自三带喙库蚊和迷糊按蚊。**结论** 三带喙库蚊是德宏州优势蚊种和蚊媒病毒主要传播媒介,当地存在基因 I 型 JEV、GETV 和 CppDNV 的流行,并与以往云南省及我国其他地区的分离株有较近亲缘关系。

【关键词】 蚊虫; 流行性乙型脑炎病毒; 盖塔病毒; 淡色库蚊浓核病毒; 分子生物学特征

Investigation on mosquitoes and mosquito-borne viruses in Dehong prefecture, Yunnan province, 2007 and 2010 Feng Yun¹, Zhang Hailin¹, Fu Shihong², Yang Weihong¹, Zhang Yuzhen¹, Wang Piyu³, Yang Jie⁴, Liu Yonghua⁵, Dong Chaoliang⁴, Li Shi⁵, Zhang Baosen⁴, Yin Zhengliu⁵, Dong Xingqi¹, Wang Huanyu², Liang Guodong². 1 Yunnan Institute of Endemic Diseases Control and Prevention, Dali 671000, China; 2 State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention; 3 Yunnan Provincial Institute of Parasitic Diseases; 4 Dehong Prefecture Center for Disease Control and Prevention; 5 Ruili Center for Disease Control and Prevention

Corresponding authors: Zhang Hailin, Email: zhangHL715@163.com; Liang Guodong, Email: gdliang@hotmail.com

This work was supported by grants from the China-U.S. Collaborative Program on Emerging and Re-Emerging Infectious Diseases (No. U19-GH000004) and the National Natural Science Foundation of China (No. 30560142).

【Abstract】 Objective To investigate the distribution patterns of mosquitoes and mosquito-borne viruses in Dehong prefecture, Yunnan province, China. **Methods** Mosquito samples were collected using the mosquito traps from five counties of Dehong prefecture on July, 2007 and 2010. Mosquitoes were cell cultured for viral isolation, and positive isolates were identified using RT-PCR and sequence analysis. **Results** A total of 43 634 mosquitoes comprised of 29 species representing six genera were collected. *Culex tritaeniorhynchus* and *Anopheles sinensis* comprised 78.69% and 14.77% of the total. Six strains of viruses were isolated from the mosquito pools. RT-PCR and phylogenetic analysis revealed three strains from *Cx. tritaeniorhynchus*, identified as genotype I Japanese encephalitis virus (JEV). One strain was identified from *Cx. tritaeniorhynchus*, as Getah virus (GETV). Two strains isolated from *Cx. tritaeniorhynchus* and *Anopheles vagus* were identified as *Culex pipiens pallens* Densovirus (CppDNV). **Conclusion** *Cx. tritaeniorhynchus* had been the major species of mosquitoes and mainly transmitting vector of mosquito-borne viruses in Dehong prefecture. Genotype I JEV, GETV and CppDNV were the vectors causing transmission of mosquito-borne

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.05.013

基金项目:中美新发和再发传染病合作项目(U19-GH000004);国家自然科学基金(30560142)

作者单位:671000 大理,云南省地方病防治所 云南省病毒立克次体研究中心(冯云、张海林、杨卫红、章域震、董兴齐);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重点实验室(付士红、王环宇、梁国栋);云南省寄生虫病防治所(王丕玉);德宏州疾病预防控制中心(杨捷、董朝良、张保森);瑞丽市疾病预防控制中心(刘永华、李轼、尹正留)

通信作者:张海林, Email: zhangHL715@163.com; 梁国栋, Email: gdliang@hotmail.com

diseases in this area. Data from phylogenetic analysis showed that these newly discovered isolates seemed to have had close relationship with those viruses previously circulating in Yunnan and other provinces of China.

【Key words】 Mosquito; Japanese encephalitis virus; Getah virus; *Culex pipiens pallens* densovirus; Molecular biological characteristics

云南省德宏州与缅甸接壤,属南亚热带气候,雨量充沛,有利于蚊虫孳生和蚊媒病毒流行,不仅广泛分布流行性乙型脑炎(乙脑)且常有登革热等虫媒病毒病流行^[1-4]。为掌握德宏州蚊虫及蚊媒病毒分布特点,本研究开展蚊虫调查和病毒分离,为蚊媒病毒病的防控提供流行病学和病原学依据。

材料与方法

1. 蚊虫采集:2007年和2010年的7月在德宏州芒市、瑞丽市、梁河县、陇川县和盈江县选择圈养牛、猪等牲畜的农户,采用光催化诱蚊器采集蚊虫标本。每晚19:00将诱蚊器放置到畜圈旁,次日08:00取回。将捕获的蚊虫置-20℃冰箱冷冻30 min致死,在冰排上分类鉴定后装入2 ml冻存管,在液氮中备存。

2. 病毒分离:从液氮罐中取出蚊虫标本管冰浴带入P2实验室。在生物安全柜内将蚊虫标本倒入预冷的研磨器中,加入2 ml基础培养基(MEM)清洗蚊虫,吸出液体,再加入1 ml含5%双抗的MEM液,研磨至蚊虫组织碎片基本消失为止。将研磨液吸入1.5 ml离心管,4℃12 000 r/min离心20 min。准备若干已长成单层的C6/36细胞(28℃培养)和BHK-21细胞(37℃培养)的24孔细胞培养板,弃去培养液,加入150 μl研磨液,置相应温度的5%CO₂培养箱中孵育1 h后,弃去培养孔中的液体,每孔加入1 ml含2%小牛血清的细胞维持液,分别置28℃和37℃5%CO₂培养箱中连续培养观察7 d,当细胞病变(CPE)灶时收获,无病变者盲传3代,剔除最终无病变者。

3. 病毒鉴定:采用RT-PCR和序列分析法鉴定病毒。取阳性分离物上清液,用QIAamp Viral RNA Mini Kit(美国QIAGEN公司)按说明书提取病毒RNA,用Amersham Bioscience Ready-to-Go™ You First-Strand Beads(美国Amersham Pharmacia Biotech公司)制备cDNA。取2 μl cDNA做反应模板,用乙脑病毒(JEV)的E基因、盖塔病毒(Getah virus, GETV)的E2基因和浓核病毒(Densovirus, DNV)的NS1和NS2引物进行PCR扩增^[5-7](表1)。依次加入10×buffer 5 μl、2.5 mmol/L dNTPs 5 μl、上下游引物

各1.25 μl、ExTaq酶0.75 μl、去离子水31.75 μl,充分混匀,94℃预变性5 min,94℃30 s,55℃30 s,72℃60 s,35个循环,72℃延伸10 min,反应结束后,取2 μl产物进行1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增效果。

表1 本研究中用于病毒鉴定的引物信息

引物	扩增区段	序列信息	扩增大小(bp)
GETVE2F	E2	GTAACAATAGTGCACGCCACC	1 400
GETVE2R		GGCAGCAGCAAAGCAGGTTTC	
JE-955F	E	TGYTGGTCGCTCCGGCTTA	1 581
JE-2536R		AAGATGCCACTTCCACAYCTC	
DNV-3F	NS1和NS2	TGTCTCTTTCTCTTGGTATTTCTTC	903
DNV-3R		CATACTACACATTTCGTCTCCAC	

注:F代表正向引物;R代表反向引物;Y:C/T

4. 序列测定和分析:所有测序均在北京博迈德科技发展有限公司完成。使用DNASar软件中的SeqMan对序列片段进行拼接、编辑、校正。Clustal X(1.8)软件进行核苷酸序列比对,采用DNASar软件中MegAlin进行核苷酸和氨基酸同源性分析;采用Mega 3.1软件进行系统发生树分析。

结 果

1. 蚊虫分布:在德宏州共采集蚊虫6属29种43 634只,其中三带喙库蚊构成比最高(78.69%),中华按蚊其次(14.77%),其他27种蚊虫仅占6.54%(表2)。

2. 病毒分离:所有标本按采集地点和蚊种分类,共研磨277批43 634只,其中2007年梁河县和陇川县共146批(分别为71和75批)23 402只蚊虫,2010年芒市、瑞丽市和盈江县共131批(分别为55、37和39批)20 232只蚊虫。蚊虫研磨液接种BHK-21和C6/36细胞,经连续三代培养,共有6批标本出现规律的CPE。其中2007年的1株分离物(LH07012)于24 h后在BHK-21细胞上开始出现圆缩、破碎,3 d时较为典型;2010年的3株分离物(DHL10M38、DHL10M39、DHL10M62)在BHK-21细胞的病变表现为圆缩、脱落;另外2株分离物(DHL10M01、DHL10M106)仅在C6/36细胞出现聚集、脱落,而不能导致BHK-21细胞产生CPE。

3. 病毒分子生物学鉴定:用针对JEV、GETV

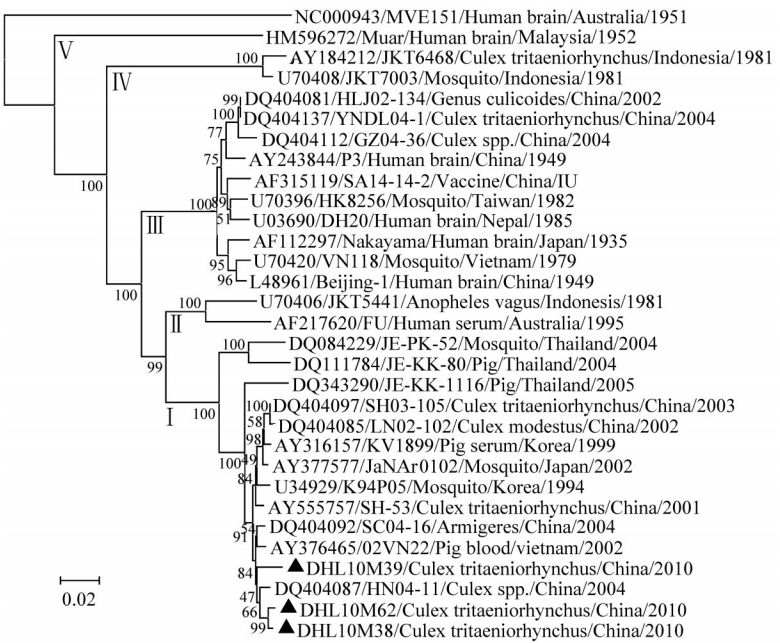
和 DNV 的特异性引物对 6 株阳性分离物进行 RT-PCR 扩增。结果 3 株为 JEV (DHL10M38、DHL10M39 和 DHL10M62), 均于 2010 年 7 月分离自芒市和盈江县三带喙库蚊; 1 株 GETV (LH07012) 于 2007 年 7 月分离自梁河县三带喙库蚊; 2 株淡色库蚊浓核病毒 (*Culex pipien pallens* Densovirus, CppDNV) (DHL10M01 和 DHL10M106) 于 2010 年 7 月分别分离自瑞丽市三带喙库蚊和迷糊按蚊。新分离的 JEV、GETV 和 CppDNV 与来自 GenBank 的国内外分离株进行核苷酸同源性和系统进化分析。

(1)JEV 分离株的 E 基因序列分析: 新分离的 JEV DHL10M38、DHL10M39 和 DHL10M62 株, 经 RT-PCR 扩增到 E 基因 1 500 bp 的核苷酸序列, 系统进化分析表明均属于基因 I 型, 与 2004 年和 2005 年泰国 3 个分离株的进化关系稍远, 而与我国其他省分离株以及日本、韩国分离株进化关系较近(图 1); 与我国正在使用的乙脑减毒活疫苗株 SA14-14-2 比较, 核苷酸同源性的为 87.3%~87.7%, 氨基酸同源性的为 96.8%~97.0%。与其他 I 型 JEV 相比, DHL10M039 株中 E83 基因位点的谷氨酸(E)被天冬氨酸(D)取代; DHL10M038 和 DHL10M062 株与 HN04-11 株(DQ404087)一样, 在 E123 基因位点的丝氨酸(S)被天冬酰胺(N)替换(图 2 中红色方框), 其余位点无差异。包膜糖蛋白是决定 JEV 毒力的重要成分, E 基因中的 8 个关键氨基酸基因位点中 E138 是影响 JEV 毒力的最重要位点, 新分离的 3 株 JEV 的这个基因位点的氨基酸与既往的基因 I 型 JEV 相同, 与 SA14-114-2 株(AF315119)的差异也与既往流行株相似(图 2 中蓝色方框)。

(2)GETV 分离株的 E2 基因序列分析: 本次从梁河县三带喙库蚊中分离到的 GETV LH07012 株, 经 RT-PCR

表 2 2007 年和 2010 年德宏州蚊虫采集结果

蚊 种	2007 年		2010 年			合计
	梁河	陇川	芒市	瑞丽	盈江	
三带喙库蚊 <i>Culex tritaeniorhynchus</i>	6 920	11 610	7 972	5 160	2675	34 337
环带库蚊 <i>Culex annulus</i>	226	327	—	9	33	595
伪杂鳞库蚊 <i>Culex pseudovishnui</i>	32	37	—	—	—	69
褐尾库蚊 <i>Culex fuscans</i>	4	1	—	3	—	8
二带喙库蚊 <i>Culex bitaeniorhynchus</i>	2	3	2	—	—	7
棕头库蚊 <i>Culex fuscocephala</i>	6	77	—	125	1	209
白胸库蚊 <i>Culex pallidothorax</i>	1	5	—	—	—	6
贪食库蚊 <i>Culex halifaxii</i>	—	—	2	—	—	2
致倦库蚊 <i>Culex quinquefasciatus</i>	59	9	—	42	9	119
白雪库蚊 <i>Culex gelidus</i>	—	2	—	30	—	32
霜背库蚊 <i>Culex whitmorei</i>	1	—	—	—	—	1
中华按蚊 <i>Anopheles sinensis</i>	2 900	657	1 757	1 079	50	6 443
环斑按蚊 <i>Anopheles annularis</i>	—	321	—	—	—	321
多斑按蚊 <i>Anopheles maculatus</i>	—	5	—	—	—	5
美彩按蚊 <i>Anopheles splendidus</i>	—	14	—	—	1	15
须喙按蚊 <i>Anopheles barbirostris</i>	—	—	—	17	—	17
棋斑按蚊 <i>Anopheles tessellatus</i>	8	70	9	27	24	138
迷糊按蚊 <i>Anopheles vagus</i>	1	13	9	132	23	178
微小按蚊 <i>Anopheles minimus</i>	2	8	14	—	1	25
赫坎按蚊 <i>Anopheles hyrcanus</i>	—	4	—	—	—	4
带足按蚊 <i>Anopheles peditaeniatus</i>	—	—	251	485	6	742
窄翅伊蚊 <i>Aedes lineatopennis</i>	—	—	—	16	4	20
侧白伊蚊 <i>Aedes albopictus</i>	—	—	4	—	—	4
白纹伊蚊 <i>Aedes albopictus</i>	—	—	1	1	—	2
刺扰伊蚊 <i>Aedes vexans</i>	—	1	—	234	4	239
骚扰阿蚊 <i>Armigeres subalbatus</i>	38	36	3	10	1	88
达勒姆阿蚊 <i>Armigeres durhami</i>	2	—	—	—	—	2
吕宋小蚊 <i>Mimomyia luzonensis</i>	—	—	—	2	—	2
常型曼蚊 <i>Mansonia uniformis</i>	—	—	—	4	—	4
合 计	10 202	13 200	10 024	7 376	2 832	43 634



注: ▲本次调查分离的 JEV

图 1 JEV 分离株 E 基因的系统进化分析

80 * 100 *

DQ111784/J : TGEAHNEKRAYSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DQ084229/J : TGEAHNEKRADSNYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DQ404085/L : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DQ404097/S : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

AY316157/K : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

AY377577/J : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

U34929/K94 : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

AY555757/S : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DHL10M038 : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DHL10M062 : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DQ404087/H : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DHL10M039 : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

AY376465/O : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DQ404092/S : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

DQ343290/J : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

AY243844/P : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

AF315119/S : TGEAHNEKRADSSYVCKQGFTDRGWGNGCGLFGKGSID : 114

120 * 140 *

DQ111784/J : TCAKFSCTSKATGKMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DQ084229/J : TCAKFSCTSKAVGRTIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DQ404085/L : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DQ404097/S : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

AY316157/K : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

AY377577/J : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

U34929/K94 : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSEKD : 152

AY555757/S : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DHL10M038 : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DHL10M062 : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DQ404087/H : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DHL10M039 : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

AY376465/O : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DQ404092/S : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

DQ343290/J : TCAKFSCTSKAIGRMIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

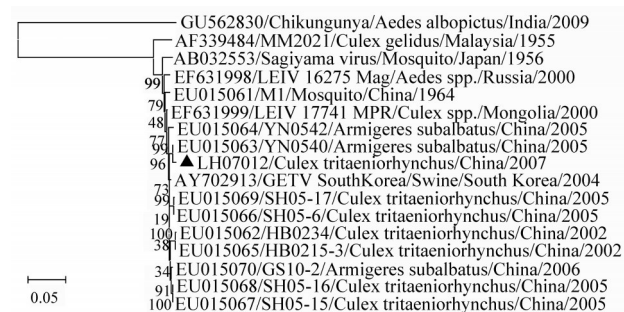
AY243844/P : TCAKFSCTSKAIGRTIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

AF315119/S : TCAKFSCTSKAIGRTIQENIKYEVGVFVHGTTTSENH : 152

图2 3株JEV分离株与来自GenBank中14株JEV的E基因部分氨基酸图谱

扩增获得E2基因,系统进化分析发现,LH07012株与2005年从云南省其他地区分离的YN0540处于同一进化分支(图3)。LH07012株E2基因核苷酸与YN0540同源性高达99.9%,与国内其他分离株的同源性为98.2%~98.8%,存在较高的同源性;与国外分离株的同源性为94.6%~98.5%。

(3) CppDNV分离株的NS1和NS2基因序列分析:进化树分析显示,新分离的DHL10M01和



注:▲本次调查分离的GETV

图3 GETV分离株E2基因的系统进化分析

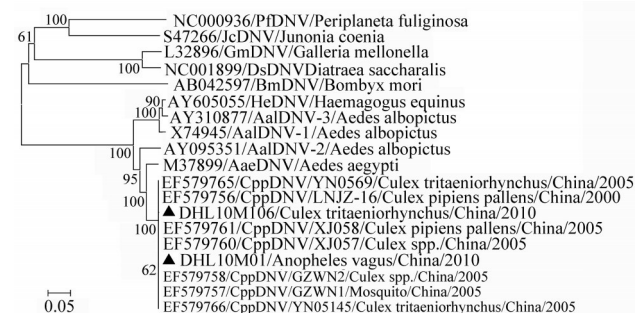
DHL10M106株与我国以往CppDNV分离株处在同一分支,而与其他种类的DNV亲缘关系较远(图4)。DHL10M01和DHL10M106株与此前我国

CppDNV分离株的核苷酸同源性分别高达99.5%~99.7%和99.7%~99.8%。

讨 论

20世纪80年代德宏州潞西市(现芒市)和瑞丽市三带喙库蚊构成比分别为49.24%和18.88%^[8-10]。本次调查5县市三带喙库蚊构成比高达67.83%~94.46%,并自三带喙库蚊中分离到JEV,说明三带喙库蚊不仅是该地区的绝对优势蚊种,也是JEV的主要传播媒介。以往在该地区分离的JEV均为基因Ⅲ型^[11],而本次从三带喙库蚊分离的JEV均为基因Ⅰ型,表明当地流行的JEV发生了基因型的转变,基因Ⅰ型成为主要流行型。这与近几年东南亚地区和我国云南省其他地区的基因Ⅰ型不断扩散密切相关^[12, 13],也与当前亚洲地区以基因Ⅰ型流行为主的趋势相一致^[13, 14]。

GETV首次分离于马来西亚的雪背库蚊(*Culex gelidus*)^[15]。该病毒广泛分布于亚洲及澳大利亚北部的太平洋沿岸地区^[16]。GETV能引起马和猪等动物的疾病^[17, 18],尚未发现GETV引起人类疾病的报道。本次从德宏州三带喙库蚊中分离到GETV,证实当地存在该病毒流行。我国继1964年从海南省蚊虫分离到M1株GETV后,近几年相继在一些省区分离到该病毒^[5, 16, 19],提示GETV在我国的分布和传播范围正在扩大,



注: CppDNV: *Culex pipiens pallens* densovirus; AalDNV-1 and AalDNV-3: *Aedes albopictus* densovirus; AalDNV-2: *Aedes albopictus* C6/36 densovirus; AeDNV: *Aedes aegypti* densovirus; BmDNV: *Bombyx mori* densovirus; DsDNV: *Diatraea saccharalis* densovirus; HeDNV: *Haemagogus equinus* densovirus; GmDNV: *Galleria mellonella* densovirus; JcDNV: *Junonia coenia* densovirus; PfDNV: *Periplaneta fuliginosa* densovirus; ▲本次调查分离的CppDNV

图4 CppDNV分离株NS1/NS2基因的系统进化分析

且无论库蚊、伊蚊和阿蚊中都有分离到该病毒的报道,表明能传播该病毒的媒介蚊种较多,对动物特别是猪和马的健康威胁正在增加。

本次从德宏州蚊虫中分离到的 CppDNV 与我国辽宁、新疆和贵州省区分离株核苷酸序列高度同源,序列相对保守,变异较小^[7]。本研究以往从淡色库蚊、三带喙库蚊、中华按蚊、伪杂鳞库蚊、环带库蚊和致倦库蚊中分离到 CppDNV^[20],此次再次从三带喙库蚊中分离到 CppDNV,而从迷糊按蚊中分离到 CppDNV 为首次报道,进一步表明 CppDNV 能感染许多蚊种。有必要进一步开展有关该病毒的生物学特性和感染人及家畜情况的研究。

(感谢德宏州疾病预防控制中心江伟、杨世朝、郭天巧和瑞丽市疾病预防控制中心尹小雄以及梁河、陇川和盈江县疾病预防控制中心在蚊虫采集中给予的帮助)

参 考 文 献

- [1] Deng SZ, Zhang HL, Liu XQ. Analysis of epidemiological characteristics of Japanese encephalitis in Yunnan province from 1976 to 2007 [J]. Endemic Dis Bull, 2009, 24 (3): 1-7. (in Chinese)
邓淑珍,张海林,刘晓强. 云南省 1976—2007 年流行性乙型脑炎流行病学特征分析[J]. 地方病通报, 2009, 24(3): 1-7.
- [2] Feng Y, Fu SH, Zhang HL, et al. High incidence of Japanese encephalitis, Southern China [J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(4): 672-673.
- [3] Zhang TS, Wang YM, Zhang YH, et al. A survey of antibodies to arboviruses in residents in south-western part of Yunnan province [J]. Chin J Epidemiol, 1989, 10(2): 74-77. (in Chinese)
张天寿,王逸民,张永和,等. 云南西南边境地区人血清虫媒病毒抗体调查[J]. 中华流行病学杂志, 1989, 10(2): 74-77.
- [4] Zhang HL, Fu SH, Deng Z, et al. An outbreak of imported dengue fever from Myanmar to the border of China, with its viral molecular epidemiological features [J]. Chin J Epidemiol, 2013, 34(5): 428-432. (in Chinese)
张海林,付士红,邓掌,等. 云南中缅边境一起输入性登革热暴发的分子流行病学研究[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(5): 428-432.
- [5] 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(6): 1446-1456.
- [6] Wang HY, Takasaki T, Fu SH, et al. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China [J]. J Gen Virol, 2007, 88(Pt 3): 885-894.
- [7] Zhai YG, Lyu XJ, Sun XH, et al. Isolation and characterization of the full coding sequence of a novel Dengovirus from mosquito *Culex pipiens pallens* [J]. J Gen Virol, 2008, 89(Pt 1): 195-199.
- [8] Zhang HL, Zi DY, Shi HF, et al. Characterized distribution of *Culex tritaeniorhynchus* and their natural infection with Japanese encephalitis virus in Yunnan province [J]. Chin J Vect Biol Control, 1999, 10(3): 192-194. (in Chinese)
张海林,自登云,施华芳,等. 云南三带喙库蚊分布特点及自然感染乙型脑炎病毒的调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 1999, 10(3): 192-194.
- [9] Zhang HL, Gong ZD, Mi ZQ, et al. Distribution of mosquitoes and isolation of Japanese encephalitis virus in Ruili county, Yunnan province [J]. Chin J Med Pest Control, 1999, 15(2): 59-61. (in Chinese)
张海林,龚正达,米竹青,等. 云南省瑞丽市蚊虫调查及乙型脑炎病毒分离[J]. 医学动物防制, 1999, 15(2): 59-61.
- [10] Mi ZQ, Zi DY, Zhang HL, et al. Distribution of mosquitoes and isolation of Japanese encephalitis virus in Luxi county, Yunnan province [J]. Chin J Med Pest Control, 2002, 18(7): 367-369. (in Chinese)
米竹青,自登云,张海林,等. 云南省潞西市蚊虫调查及乙型脑炎病毒分离[J]. 医学动物防制, 2002, 18(7): 367-369.
- [11] Wang JL, Zhang HL, Zhou JH, et al. Genotyping of Japanese encephalitis viruses isolated in Yunnan [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2008, 22(2): 87-90. (in Chinese)
王静林,张海林,周济华,等. 云南省乙型脑炎病毒基因分型研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2008, 22(2): 87-90.
- [12] Sun YJ, Zhang HL. Distribution and gene-typing of Japanese encephalitis virus in China [J]. Chin J Vect Biol Control, 2012, 23(5): 436-439. (in Chinese)
孙玉杰,张海林. 中国流行性乙型脑炎病毒基因型及分布[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2012, 23(5): 436-439.
- [13] Pan XL, Liu H, Wang HY, et al. Emergence of genotype I of Japanese encephalitis virus as the dominant genotype in Asia [J]. J Virol, 2011, 85(19): 9847-9853.
- [14] Solomon T, Ni H, Beasley DWC, et al. Origin and evolution of Japanese encephalitis virus in Southeast Asia [J]. J Virol, 2003, 77(5): 3091-3098.
- [15] Morita K, Igarashi A. Oligonucleotide fingerprint analysis of strains of Getah virus isolated in Japan and Malaysia [J]. J Gen Virol, 1984, 65(Pt 11): 1899-1908.
- [16] Zhai YG, Wang HQ, Fu SH, et al. Molecular analysis on the Capsid gene and 3' untranslated region of three Getah viruses isolated in China [J]. Chin J Virol, 2007, 23(4): 270-274. (in Chinese)
翟友刚,王焕琴,付士红,等. 我国分离的盖塔病毒衣壳蛋白基因和 3' 非翻译区分子特征研究[J]. 病毒学报, 2007, 23(4): 270-274.
- [17] Getah BT. International Catalog of Arboviruses [M]. 2nd ed. Washington DC: US Department of Health, Education, and Welfare, 1975: 278-279.
- [18] Kamada M, Ando Y, Fukunaga Y, et al. Equine Getah virus infection: isolation of the virus from racehorses during an enzootic in Japan [J]. Am J Trop Med Hyg, 1980, 29(5): 984-988.
- [19] Chen WX, Wang HY, Fu SH, et al. Partial genome molecular characteristics of Getah virus newly isolated in China [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2010, 30(5): 399-404. (in Chinese)
陈维欣,王环宇,付士红,等. 我国新分离盖塔病毒的部分基因组分子特征研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2010, 30(5): 399-404.
- [20] Feng Y, Fu SH, Zhang HL, et al. Molecular characterization of genome of mosquito dengovirus newly isolated in Yunnan province [J]. Acta Parasitol Med Entomol Sin, 2011, 18(1): 15-20. (in Chinese)
冯云,付士红,张海林,等. 云南省新分离蚊虫浓核病毒的分子特征研究[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2011, 18(1): 15-20.

(收稿日期: 2013-09-23)

(本文编辑: 张林东)