

深圳市龙岗区 2009—2011 年登革热媒介监测分析

周健明¹, 王德全¹, 林琳², 刘渠², 张起文²

摘要:目的 了解广东省深圳市龙岗区成蚊携带登革病毒状况与健康人群登革病毒抗体水平,为登革热的流行风险评估提供客观依据。方法 于 2009—2011 年对龙岗区 10 个街道和 21 个大运场馆进行蚊种构成及密度监测,检测成蚊携带登革病毒和健康人群的登革病毒 IgG 抗体水平。结果 2009—2011 年龙岗区共捕获 25 556 只成蚊,其中东乡伊蚊和白纹伊蚊分别占 2.45% 与 1.60%;学校和工地的诱蚊诱卵指数均高于平均水平,分别为 18.34% 和 11.29%;不同生境成蚊密度以医院最高,达 27.67 只/灯;从 2 批伊蚊标本中检测有登革病毒,其中 1 批标本经测序分析与登革病毒 II 型流行株同源性最高,达 98%;检测 884 名健康人群中登革病毒 IgG 抗体阳性率为 4.20% (37/884)。结论 深圳市龙岗区伊蚊密度较低,但伊蚊携带登革病毒的效能较高,登革病毒已经在龙岗区自然界中存在。

关键词: 蚊媒监测;登革病毒;实时荧光 RT-PCR;抗体水平

中图分类号: R 184.3

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)12-1628-03

Surveillance on mosquito vectors of dengue fever and dengue virus in Longgang district of Shenzhen city 2009–2011

ZHOU Jian-ming^{*}, WANG De-quan, LIN Lin et al^{*} Guangdong Province Key Laboratory of Molecular Epidemiology, Guangzhou, Guangdong Province 510310, China)

Abstract: Objective To explore the infection of dengue virus (DV) in mosquitoes and to determine the prevalence of serum anti-DV IgG antibody among healthy people in Longgang district of Shenzhen city for assessment of dengue fever epidemic risk. **Methods** Surveillance on the density and species of mosquito was conducted in 10 major subdistricts and 21 gymnasiums in Longgang district. The DV was identified with real-time reverse transcription PCR (RT-PCR) and anti-DV IgG antibody level in healthy population was detected with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** A total of 25 556 mosquitoes were collected from 2009 to 2011 and among the mosquitoes *Aedes togoi* and *Aedes albopictus* accounted for 2.45% and 1.60% respectively. The indexes of mosquito and egg trap in schools (18.34%) and construction sites (11.29%) were above average value. The average mosquito density in hospitals (27.67 mosquitoes) was the highest among different sites. The real-time RT-PCR results showed that two positive samples were found and the maximum nucleotide homology with DV epidemic strains of II subtype was over 98%. The positive rate of the serum anti-DV IgG antibody of healthy population was 4.2%. **Conclusion** Although the density of *Aedes* mosquitoes was low, but the prevalence of viral-infection caused by mosquitoes was high. The results indicate that people in Longgang area are susceptible population for dengue virus and mosquito control and epidemic surveillance on imported cases should be strengthened.

Key words: mosquito vector surveillance; dengue virus; real-time RT-PCR; antibody level

登革热是由登革病毒引起的急性传染病,主要通过埃及伊蚊与白纹伊蚊传播,广泛流行于热带和亚热带地区。广东是中国唯一一个经历登革病毒 1~4 型流行的地区^[1]。在一个地区不同血清型或同一血清型中不同基因型的登革病毒流行可能是登革出血热/登革休克综合征(dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome, DHF/DSS)发生的重要原因之一,了解深圳市龙岗区自然界登革病毒的型别对预防 DHF/DSS 的发生具有重要的意义。本研究于 2009—2011 年对深圳市龙岗区进行系统、连续的虫媒生物监测、成蚊携带登革病毒监测、健康人群

登革病毒抗体水平监测,旨在为登革热的流行风险评估提供客观依据。现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 2011 年 10 月采用横断面调查方法随机抽取龙岗区 3 个街道,从每个街道随机抽取 2 家工厂,以 16~60 岁、在深圳居住 ≥5 年、未曾患有登革热的健康工人为调查对象。于 2009—2011 年对龙岗区内的龙城、龙岗、布吉等 7 个街道以及区内 21 个大运场馆室内外周边环境进行监测,共布放诱蚊灯 1 598 盏。

1.2 方法

1.2.1 健康人群登革病毒抗体水平检测 根据小规模预实验的结果,分 16~25、26~35、36~45 和 46~60 岁 4 个年龄组,每个监测点每个年龄组抽取

作者单位: 1. 广东省分子流行病学重点实验室,广州 510310; 2. 深圳市龙岗区疾病预防控制中心

作者简介: 周健明(1986—)男,广东广州人,硕士在读,研究方向:分子流行病学。

通讯作者: 王德全, E-mail: xywdq@163.com

38 人。抽取调查对象静脉血 2 mL 应用间接酶联免疫方法检测登革病毒 IgG 抗体,试剂盒由中山生物工程有限公司生产(批号:20110411),严格按照说明书操作。定性判断标准以临界值 = 0.15 + 阴性对照均值,样品 A 值大于临界值为阳性。

1.2.2 虫媒生物监测 统一采用诱蚊灯捕获法,对监测点每月定时定人开展蚊种构成、成蚊密度[成蚊密度(只/灯) = 捕获蚊虫数/灯数]的调查;2009—2010 年 6—10 月,以入户及外环境调查法测定公园、居民区、医院、工地、学校、场馆共 6 个不同生境的布雷图指数(Bretu index, BI)、房屋指数(housing index, HI)、容器指数(container index, CI);采用诱蚊诱卵器法测定不同生境的诱蚊诱卵指数,诱蚊诱卵指数 = 阳性诱蚊诱卵器数/回收诱蚊诱卵器数 × 100% [2]。

1.2.3 病原学检测 以同地点、同种属捕获的成蚊为一批,每批 30 ~ 50 只进行低温研磨[3],收集研磨上清悬液,按照 TAKARA 公司 RNAiso Plus Kit 的说明书对其进行核酸提取。参照文献[4]方法,采用 Primer Premier 5.0 软件,针对 C 基因区域设计引物,由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成纯化。C 基因引物序列为:DN-F: CAA TAT GCT GAA ACC CGA GAG AAA, DN-R: CCC CAT CTA TTC AGA ATC CCT GCT, 扩增片段为 171 bp。将 RNA 逆转录为 cDNA,采用 PrimeScript RT-PCR Kit(中国大连宝生物工程有限公司),严格按照说明书操作。SYBR Green I 实时荧光 PCR 扩增 cDNA,按照 SYBR Premix Ex Taq(™) II Kit(中国大连宝生物工程有限公司)说明书操作。每批标本平行检测 3 次,以 Ct 值 < 38(标准株稀释 10⁻⁷)、扩增曲线呈“S”形为阳性且熔解曲线峰型单一的原则判断结果。英潍捷基(上海)贸易有限公司对阳性扩增产物进行测序。利用 NCBI BLASTn 对测序结果进行同源性检索。

1.3 统计分析 采用 Excel 2003 对数据进行整理分析,采用 SPSS 17.0 软件进行 χ^2 检验分析不同年龄、性别间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 龙岗区成蚊种类 龙岗区共捕获成蚊 25 556 只,分别是按蚊属中的中华按蚊、微小按蚊、嗜人按蚊;库蚊属中的三带喙库蚊和致倦库蚊;伊蚊属中的东乡伊蚊和白纹伊蚊。其中,致倦库蚊为优势蚊种,占 93.77%(23 962/25 556),东乡伊蚊占 2.45%(637/25 556),白纹伊蚊占 1.60%(408/25 556),三

带喙库蚊占 1.50%(385/25 556)。

2.2 不同生境成蚊密度监测 2009 年 3 月—2010 年 1 月对 6 种不同生境共布放诱蚊灯 158 盏,捕获成蚊 2 362 只,平均成蚊密度为 14.95 只/灯。其中医院成蚊密度最高,达 27.67 只/灯,其他依次为工地 25.45 只/灯、场馆 12.70 只/灯、居民区 12.69 只/灯、学校 4.11 只/灯、公园 3.41 只/灯。

2.3 伊蚊幼蚊监测(图 1~3) 2009 年 6 月监测点的容器指数(CI)与布雷图指数(BI)最高,分别为 40.98 与 106.33;而 2010 年 9 月 HI 和 BI 最低,分别为 13.49 与 16.25。2009 年 7 月,房屋指数(CI)最高,为 40.71;而 2010 年 5 月 CI 最低,为 15.56。

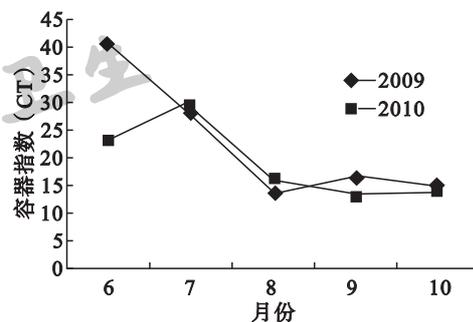


图 1 2009—2010 年容器指数(CI)

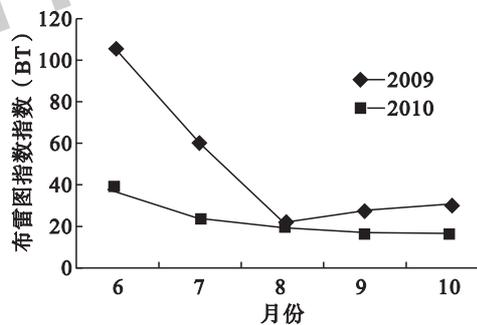


图 2 2009—2010 年布雷图指数(BI)

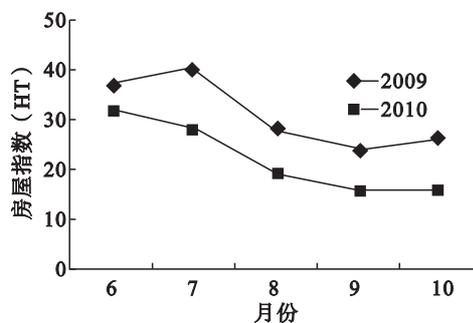


图 3 2009—2010 年房屋指数(HI)

2.4 诱蚊诱卵指数 2009—2010 年共布诱蚊诱卵器 1 120 个,回收 892 个,阳性 91 个,平均诱蚊诱卵指数为 10.20%。学校和工地的诱蚊诱卵指数均高于平均水平,分别为 18.34% 和 11.29%;其他生境类型监测结果分别为:医院 4.79%(7/146)、公园

7.41% (10/135)、居民区 8.57% (12/140)。

2.5 病原学检测结果 参考王佃鹏等^[5]建立的 SYBR Green I 实时荧光 RT-PCR 检测登革病毒基因方法,对登革病毒 1~4 个血清型标准株进行预实验。共检测混合成蚊标本 350 批,白纹伊蚊 7 批与东乡伊蚊 9 批中各有 1 批为阳性,编号分别为 SZ1007BW(白纹伊蚊,采自龙岗街道)和 SZ1007DX(东乡伊蚊,采自龙城街道),其他批次均为阴性。SZ1007DX 的 Ct 值为 (34.66 ± 2.12),Tm 值为 83.5℃;SZ1007BW 的 Ct 值为 (35.73 ± 0.22),Tm 值为 83.5℃,琼脂糖电泳检测均在 171 bp 的位置出现特异性扩增带。

2.6 核苷酸序列分析(图 4) 应用 GenBank 数据库的 Blast 功能进行同源性检索,显示 SZ1007BW 扩增序列与分离于越南的 DEN-2 MD1366(Accession NO. FM210234.2)相似性达 98%,判断其为 DENV-2 型病毒。

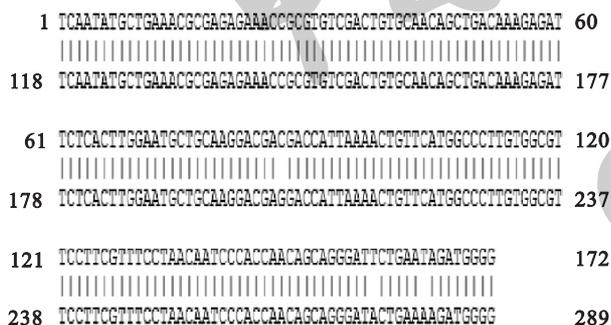


图 4 SZ1007BW 扩增序列与 DEN-2 MD1366(FM210234.2)的比对结果

2.7 血清学检测 共采集健康体检工人血样 884 人份,登革病毒 IgG 抗体阳性率为 4.20% (37/884)。16~25、26~35、36~45 和 46~60 岁 4 个年龄组抗体阳性率分别为 0.54% (2/373)、3.85% (7/182)、5.97% (12/201) 和 12.5% (16/128),不同年龄组血清登革病毒 IgG 抗体差异有统计学意义 ($\chi^2 = 36.100, P < 0.05$);男性登革病毒 IgG 抗体阳性率为 3.63% (15/413),女性为 4.67% (22/471),不同性别血清登革病毒 IgG 抗体阳性率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

自 1978 年广东省佛山市暴发登革热流行以来,广东省登革热的流行主要以输入或输入引起的传播为主^[6-7]。有研究指出,疫情的暴发不排除是由本地病例引起的^[8],病毒可能通过“伊蚊-人-伊蚊”的乡村型循环与隐性感染者的流动形成的城市型循环模式^[1]得以保存,并在适当条件引起暴发。本研

究结果显示,龙岗区以致倦库蚊为优势蚊种,伊蚊成蚊数量只占 4.05%,但伊蚊带毒率较高,达 12.5% (2/16)。SZ0107BW 标本测序结果与登革病毒 II 型流行株同源性最高,这与近年广东多次流行 DENV-2 型的情况一致^[9]。白纹伊蚊能经卵传递登革 II 型病毒,并可传 ≥4 代(1 代约 30 d),传代中病毒毒力有增强的趋势^[10],而龙岗区伊蚊传播登革病毒效能较高,提示病毒可能通过自然循环而存在。2008 年龙岗区曾有 3 例输入性登革热病例^[11],直至 2011 年 10 月无登革热病例报告,SZ1007BW 和 SZ1007DX 标本均采自 2010 年,因此排除伊蚊携带的登革病毒来自 2008 年的输入性病例,推断病毒来自隐性感染人群或伊蚊平行、垂直的传递。健康人群登革病毒 IgG 抗体监测阳性率为 4.20%,提示登革病毒可能通过乡村型与城市型循环在本区低水平传播。2010 年测定的布雷图指数(BI)、房屋指数(HI)、容器指数(CI)较 2009 年测定的指数低,这可能与迎大运消杀四害工作开展有关系。而学校与工地的诱蚊诱卵指数较高,应将其作为下一阶段防治伊蚊工作的重点。应加强对不同生境防蚊、灭蚊的力度,落实居民预防登革热教育的推广工作,严防输入性登革热病例,积极监测本辖区自然界登革病毒的循环状况,全面评估登革热流行的风险。

参考文献

- [1] 张复春,杨智聪,江丽芳,等.登革热[M].北京:科学出版社,2008:34-35.
- [2] 林立丰,蔡松武,段金花,等.诱蚊诱卵器在登革热媒介监测中的应用[J].中国公共卫生 2005 21(12):1459-1461.
- [3] 段金花,林立丰,蔡松武,等.两种 PCR 方法检测白纹伊蚊体内登革热 2 型病毒的比较研究[J].中国媒介生物学及控制,2007,18(6):489-491.
- [4] Shu PY,Chang SF,Kuo YC,et al. Development of group-and sero-type-specific one-step SYBR Green I-based real-time reverse transcription-PCR assay for dengue virus [J]. JCM,2003,41(6):2408-2416.
- [5] 王佃鹏,朱玉兰,吴兵,等. SYBR Green I 荧光 PCR 检测登革热病毒基因方法的建立[J]. 中国热带医学,2007,7(10):1743-1745.
- [6] 梁文佳,何剑峰,罗会明,等.广东省 2001—2006 年登革热流行病学分析[J]. 华南预防医学 2007 33(5):4-7.
- [7] 容顺明,郭勇,郑邦文,等.佛山市 1996—1998 年登革热流行病学监测结果分析[J]. 中国公共卫生 2000,16(12):1137.
- [8] 江毅民,严子镔,胡志刚,等.广州市自然界白纹伊蚊携带登革热病毒情况分析[J]. 中华卫生杀虫药械,2009,15(2):121-123.
- [9] 方美玉,陈翠华,李锦清,等.广东省 1990—1998 年登革热流行病学监测分析[J]. 中国公共卫生,1999,15(11):990-991.
- [10] 宋秀玲,黄炯烈,郑小英,等.白蚊伊蚊经卵传递登革 2 型病毒的实验研究[J]. 热带医学杂志 2005 5(1):22-25.
- [11] 谢惠清,谭惠玲,李文东.深圳市龙岗街道 3 例输入性登革热病例的调查与处理[J]. 热带医学杂志,2010,10(8):1017-1019.