

狩猎库蚊及白纹伊蚊作为流行性乙型 脑炎病毒储存宿主的研究^{* **}

柯小麟 容 瑾

(中山医学院寄生虫学教研组)

1953—1955年,作者等曾进行广州市流行性乙型脑炎(下简称脑炎)媒介的研究,指出狩猎库蚊及白纹伊蚊为广州市的主要脑炎媒介^[1]。

本文的内容为介绍1956—1959年关于广州脑炎储存宿主问题的研究:包括在实验条件下狩猎库蚊携带病毒越冬及遗传试验,天然界狩猎库蚊及白纹伊蚊经卵巢传递病毒遗传试验等。

一、材料来源

蚊种:按广州市东、南、西、北、中等各区,选择住房附近的狩猎库蚊孳生地捞捕幼虫。在丛林杂草地区以人工诱捕法捕捉白纹伊蚊成蚊及在多缸、罐、甕、盆等积水的酱园、工厂、住宅等地捞捕其幼虫。除白纹伊蚊成蚊外,其余二种蚊虫的幼虫均在实验室内立即置换清水饲养,静俟羽化,即为实验所用蚊种。

病毒:全部采用中山医学院微生物学教研组所保存的京卫研₁株。该株于1952年6月由专人自北京前中央卫生研究院携回。到实验前为止,在鼠脑已传200代以上,脑内滴度恒定于 $LD_{50} 10^{-7.6}—10^{-8.5}$ 之间。

稀释液:一律采用含适量抗菌素的10%脱脂牛乳生理盐水悬液。

实验动物:采用中山医学院具有防蚊设备的动物房内繁殖的3—6日乳鼠或3周纯种小白鼠。

(一) 狩猎库蚊人工感染后越冬试验

脑炎的流行和传播与媒介蚊种的生态、脑炎病毒在蚊体内的发育繁殖情况及影响这二者的外界因素有密切关系。针对广州的气候,作者首先进行狩猎库蚊人工感染脑炎病毒后的越冬试验,以探讨本蚊种携带病毒由低温到高温的变化情况。

以病毒棉片法感染狩猎库蚊后,喂以10%葡萄糖溶液。置室温中由低温月份饲养至高温月份,或先置于降温育蚊箱中饲养一段时间才改置于高室温中。在此前后的阶段中,均定期进行蚊体病毒分离及叮咬乳鼠人工传染试验^[1]。

* 本文1960年8月20日收到。

** 1. 本研究工作由陈心陶、徐秉钺二位教授指导,文章亦予修改,特此致谢。

2. 本文实验有何启基,张日升二同志参加。病毒鉴定是与中山医学院微生物教研组、病理解剖教研组等协作进行。

3. 本文前部之越冬及人工遗传试验由第一作者单独进行。后部天然遗传试验由二作者合作进行。

实验批号 5601, 于 1956 年 1 月进行人工感染, 感染后一直饲养在室温中。全程实验由 1 月 31 日到 5 月 11 日, 共 100 天。当时广州室温可区分为三个阶段, 由 2 月 1 日到 3 月 14 日的 42 天, 平均室温为 14.5°C (最低 11.5°C , 最高 19.5°C); 由 3 月 15 日到 4 月 11 日的 28 天, 平均室温为 19.4°C (最低 17°C , 最高 22.5°C); 由 4 月 12 日到 5 月 11 日的 30 天, 平均室温为 24.6°C (最低 22.5°C , 最高 26°C)。在这三阶段的饲养过程中分别进行蚊体分离病毒及叮咬乳鼠传染试验。结果在蚊感染后的 69 天分离病毒阳性, 77 天及 85 天传染试验阳性。(表 1)

表 1 狩猎库蚊在三阶段不同室温中分离病毒及传染试验(实验批号 5601)

試驗阶段 (日 期)	平均室温 (最高—最低) (°C)	蚊感 染后 进行 試驗 天数	分离病毒試驗			传 染 試 驗				补 体 結 合 試 驗	
			結 果	一代	二代	三代	結 果	一代	二代		三代
				鼠死亡数 接种鼠数	鼠死亡数 接种鼠数	鼠死亡数 接种鼠数		发病鼠数 叮咬鼠数	鼠死亡数 接种鼠数		鼠死亡数 接种鼠数
I (31/1—14/3)	14.5 (17.5—11.5)	6	—	0/3	0/3	0/3	—	0/7	0/3	0/3	
		8	—				—	0/3	0/3	0/3	
		15	—	0/3	0/3	0/3	—	0/3	0/3	0/3	
		29	—	0/3	0/3	0/3					
		34	—	0/3	0/3	0/3	—	0/6	0/3	0/3	
		42	—				—	0/6	0/3	0/3	
II (15/3—11/4)	19.4 (22.5—17)	48	—	0/3	0/3	0/3					1:32
		56	—				—	0/4	0/3	0/3	
		65	—				—	0/4	0/3	0/3	
		69	+	3/3	3/3	5/5					
III (12/4—11/5)	24.6 (26—22.5)	72	—				—	0/4	0/3	0/3	1:64
		77	—				+	1/6	3/3	5/5	
		78	—	0/3	0/3	0/3					
		85	—				+	1/3	5/5	5/5	
		96	—				—*	0/2	0/3	0/3	
		100	—				—*	0/1	0/3	0/3	

* 蚊死亡殆尽, 数目过少未能充分叮咬乳鼠。

表 2 狩猎库蚊在平均 11.3°C 及 25°C 二阶段中分离病毒及传染试验(试验批号 5714)

試驗阶段 (日 期)	放置平均溫度 (最高—最低) (℃)	蚊感染 后进行 試驗天 数	分离病毒試驗			传 染 試 驗				补 体 結 合 試 驗
			結 果	一代	二代	結 果	一代	二代	三代	
				鼠死亡数 接种鼠数	鼠死亡数 接种鼠数		发病鼠数 叮咬鼠数	鼠死亡数 接种鼠数	鼠死亡数 接种鼠数	
I (1—45)	11.3 (15—6)	14 27 35 42	—	0/3	0/3	— — — —	0/3 0/3 0/4 0/3	0/3 0/3 0/3 0/3		
II (46—55)	25 (26.5—22)	46 49 53 55	—	0/3	0/3	— — + +	0/3 0/3 3/3 3/3	0/3 0/3 5/5 5/5	5/5 5/5	1:16 1:16

实验批号 5714 于感染后,先置降温育蚊箱中。在平均 11.3℃ (最低 6℃, 最高 15℃) 的温度中饲养 45 天, 然后改置于平均 25℃ (最低 22℃, 最高 26.5℃) 的室温中饲养 10 天, 在此二阶段亦分别进行分离病毒及传染试验。结果在蚊感染后的 53 及 55 天获得传染试验阳性。(表 2)

(二) 狩猎库蚊人工感染后遗传试验

病原体能通过母代卵巢遗传给下代是病原体在生物体中储存方式的一种。文献上, 脑炎病毒在蚊体内通过卵巢传递给下代的问题, 国内外学者有认为可以建立^[5,9,10,11,12,13], 但亦有在各种脑炎的试验中获得阴性结果^[14,15,16]。本试验乃取已获得阳性感染的母蚊所产的卵及幼虫进行病毒分离, 以初步探索该问题。

病毒棉片法感染后的狩猎库蚊, 先在 25°—27℃ 中饲养 5 天以上, 然后进行传染试验及蚊体病毒滴定试验^[7]。只有能获得二种试验各三次或三次以上阳性结果的批号, 才被选出产卵作为进行遗传试验的母蚊。共选出感染母蚊 8 批, 每批约 500—1000 只。

1. 蚊卵分离病毒 感染母蚊一直饲养在 25°—27℃ 温度中。感染 9—27 天后每日三次以小药匙取出所产的卵块。俟表面水分稍干后, 以无菌生理盐水反复洗涤三次。按每 10 卵块加入 0.4 毫升稀释液研磨, 脑内接种小白鼠。在 8 批感染母蚊所产的卵中不加选择地取出 1,207 卵块, 分作 124 次试验, 结果在其中 3 批 4 次获得分离病毒阳性。(表 3, 表 4)

表 3 狩猎库蚊卵及幼虫分离病毒试验

感染母蚊批号	研磨卵块总数 (研磨幼虫总数)	卵试验次数 (幼虫试验次数)	卵分离病毒阳性次数 (幼虫分离病毒阳性次数)
1031	54	7	0
1032	135	15	1
1033	168	17	0
1034	650(2,400)	65(39)	2(1)
1035A ₁	40	4	0
1035A ₂	100(1,200)	10(24)	1(1)
1036A ₁	50	5	0
1036A ₂	10(3,000)	1(30)	0
总 计 8	1,207(6,600)	124(93)	4(2)

2. 幼虫分离病毒 在从卵分离出病毒的基础上选出 3 批感染母蚊后期所产的卵, 俟表面水分稍干并经生理盐水多次洗涤后, 移置入盛有 5,000—6,000 毫升, 水温 25°—27℃ 的自来水大玻璃缸中孵化。幼虫以小量酵母粉作饲料, 饲养 6—21 天后, 捞出幼虫, 按每 10 条加 0.10 毫升稀释液研磨脑内接种小白鼠。在 3 批感染母蚊所产的卵孵育的幼虫中, 不加选择地挑出 6,600 条, 分作 93 次实验, 结果在其中的 2 批 2 次分离病毒阳性。(表 3, 表 4)

(三) 天然界狩猎库蚊及白纹伊蚊遗传试验

本试验乃在人工感染狩猎库蚊的遗传试验的基础上, 进一步研究广州脑炎媒介狩猎库蚊及白纹伊蚊在天然界是否具有经卵巢传递病毒给下一代的能力, 和能否借叮咬造成

表 4 四批狩猎库蚊卵及二批幼虫分离出脑炎病毒经过及鉴定结果

分 离 病 毒						病毒鉴定	
感染母蚊 批 号	试验批号	研磨卵块 数 (研磨 幼虫数)	稀释液(10% 脱脂牛乳生 理盐水 ml)	小白鼠死亡数 小白鼠接种数	小白鼠接种 后发病天数	补体结 合试验	中和指数
1032	卵 3204	13	0.52	一代 1/5	13	1:32	316.2
				二代 5/5	4.4.4.5.5.		
				三代及以后 5/5	3—4		
1035A ₂	卵 3505	10	0.40	一代 1/3	6	1:16	3,162
				二代 5/5	4		
				三代及以后 5/5	3—4		
1034	卵 3445	10	0.40	一代 1/3	7	1:128	1,000
				二代 5/5	4		
				三代及以后 5/5	3—4		
	卵 3463	10	0.40	一代 1/3	6	1:128	
				二代 5/5	4		
				三代及以后 5/5	3—4		
1034	蛹 3408	(50)	0.50	一代 1/3	13	1:16	588.8
				二代 3/3	5.6.6.		
				三代及以后 3/3	3—4		
1035A ₂	蛹 3506	(50)	0.50	一代 1/3	11	1:32	3,162
				二代 5/5	5.5.5.6.6.		
				三代及以后 5/5	3—4		

脑炎的传播等问题以提供防治上的参考。

本试验中由自然界捞回的幼虫羽化的成蚊称为二代成蚊。二代成蚊在实验室产卵孵育的幼虫称为三代幼虫。所有的二代成蚊及三代幼虫在实验前均先经合适温度（25℃以上）饲养至少 7 天后，才取出进行实验。材料的饲养、实验的操作方法等基本与上节人工遗传试验相同。本实验整个过程均在无菌及防蚊设备中进行。操作有专人，专室执行，并与已知病毒严密隔离。分离病毒的及发病传代的小白鼠均分人、分室、分接种罩进行，以防传染。

1. 自然界狩猎库蚊遗传试验

(1) 二代成蚊分离病毒试验：自 1959 年 10—12 月在广州市东、南、西、北等四区大量捞捕狩猎库蚊的幼虫。这些幼虫在实验室羽化为二代成蚊后，进行分离病毒。总共进行了 246 批 6,485 只二代成蚊试验，结果其中 5 批 125 只（2 批 50 只为雄蚊，实验批号东₁₆₆，东₂₁₅；3 批 75 只为雌蚊，实验批号西₃₃，南₄₁，南₄₃）获得阳性。（表 5，表 9）

(2) 二代成蚊叮咬传染试验：上述羽化的二代成蚊共进行叮咬乳鼠传染试验 83 批，

表5 狩獵庫蚊二代成蚊分离病毒及傳染試驗結果(1959年10月—12月)

区 分	二代幼虫 撈获日期	分 离 病 毒 試 驗			传 染 試 驗	
		批 数	成 蚊 数	阳性批数 (試驗批号)	批 数	阳性批数 (試驗批号)
东 区*	10月13日	22	550	0	0	0
	11月19日	23	600	1(东166)**	7	0
	12月12日	20	617	1(东215)*	15	1(东咬19)*
南 区	10月15日	29	716	2(南41,南43)	0	0
	11月19日	22	714	0	6	0
	12月10日	20	550	0	15	0
西 区	10月13日	27	675	1(西33)	0	0
	11月3日	22	550	0	9	1(西咬5)
	12月11日	12	284	0	13	0
北 区	11月3日	39	945	0	7	0
	12月11日	10	284	0	11	0
总 計		246	6,485	5	83	2

* 阳性批号东215与东咬19同为东区某污水潭同日(1959年12月12日)所撈之二代幼虫。

** 該批成蚊交配后,所产之三代幼虫(东螞73)亦分离出病毒阳性。

表6 狩獵庫蚊二代成蚊傳染試驗經過及鑑定結果

試驗 批号	叮 咬 蚊 数	孵 出 日 期	叮 咬 日 期	飼 溫 平 均 度 (°C)	传 染 試 驗		病 毒 鑑 定		
					发病鼠数 叮咬鼠数 (小白鼠发病天数)	鼠死亡数 接种鼠数 (小白鼠发病天数)	补体 結合 試驗	中和 指数	病理 切片
东咬19	約200	1959年 12月12日	12月 29日	26	2/3(7,7)	二代 4/4(4) 三代及以后 3/3(3—4) 六代(过滤試驗)6/6(5)	1:32	1000	符合脑 炎病变
西咬5	約500	1959年 11月3日	11月 12日	27.25	3/3(4,4,5)	二代 3/3(4) 三代及以后 3/3(4) 五代(过滤試驗)6/6(4)	1:32	3162	

表7 狩獵庫蚊三代幼虫分离病毒試驗結果(1959年10—12月)

区 分	二代幼虫(母代) 撈获日期	分离批数	分离条数	阳性批数 (試驗批号)
东 区	11月19日	16	1,400	1(东螞73)* 0
	12月12日	18	1,700	
南 区	11月19日	14	1,300	0
	12月10日	12	1,980	0
西 区	10月13日	5	400	0
	11月3日	16	1,678	0
	12月11日	19	2,539	0
北 区	11月3日	6	1,620	0
	12月11日	12	1,600	0
总 計		118	14,217	1

* 阳性批号东螞73的上一代(东166)亦分离出病毒阳性。

結果其中 2 批(实验批号东咬₁₉,西咬₅)获得阳性。(表 5,表 6)

(3) 三代幼虫分离病毒試驗:上述羽化的二代成蚊在实验室交配产卵后,孵化的三代幼虫取出作分离病毒試驗。共进行 118 批 14,217 条幼虫。結果其中 1 批 100 条幼虫(实验批号东幼₇₃)获得阳性。(表 7,表 9)

表 8 一、二代白紋伊蚊成蚊分离病毒結果

区 分	一 代 成 蚊		代 成 蚊	
	批 数	只 数	批 数	只 数
中 区			37	920
东 区			5	125
南 区	3	91	15	375
西 区	1	19	29*	755
北 区	5	133	23	582
五区总计	9	243	109	2,757

* 分离出一批阳性,試驗批号为白 34。

表 9 狩猎库蚊、白紋伊蚊二代成蚊及狩猎库蚊三代幼虫分离病毒阳性经过及鑑定結果

試驗批号	分 离 病 毒				病 毒 鑑 定		
	研磨成蚊数 (幼虫数)	稀释液(10% 脱脂牛乳生 理盐水,ml)	鼠死亡数 接种鼠数	小白鼠接 种后发病 天数	补体結 合試驗	中和指数	病理切片
东 166	25♂	1.0	一代 1/3 二一四代 3/3 九代(过滤試驗) 3/3	6 5.5.5 5.5.5	1:32	1,778	
东 215	25♂	1.0	一代 1/3 二代 1/3 六代(过滤試驗) 4/4	13 7 4—5	1:32	1,000	
南 41	25♀	1.0	一代 2/3 二代及以后 3/3 六代(过滤試驗) 5/5	6.6 3—4 3—4	1:32	537	符合脑 炎病变
南 43	25♀	1.0	一代 2/3 二代及以后 3/3 五代(过滤試驗) 3/3	12,13 3—4 7.7.7	1:32	46,770	符合脑 炎病变
西 33	25♀	1.0	一代 2/3 二代及以后 3/3 四代(过滤試驗) 3/3	9.10 3—4 5.5.5	1:32	363.1	
东幼 73	(100)	0.5	一代 1/3 二代 1/2 八代(过滤試驗) 4/4	7 6 4.4.5.5	1:16	1,000	符合脑 炎病变
白 34	25♀	1.0	一代 2/3 二一四代(无菌試驗, 高速沉淀) 3/3 十四代(过滤試驗) 3/3	6.8 3—4 3—4	1:64	1,698	符合脑 炎病变

2. 天然界白紋伊蚊分离病毒及遗传試驗

自 1959 年 4—9 月于广州市东、南、西、北、中等五区捕获的白紋伊蚊成蚊共 9 批 243 只,将其进行病毒分离,幼虫羽化的二代成蚊进行传染試驗 5 批,均为阴性。二代成蚊病毒分离 109 批 2,757 只,結果其中 1 批 25 只(实验批号白₃₄)获得阳性。(表 8,表 9)

二、討 論

蚊子作为脑炎非流行季节的儲存宿主問題尚未肯定,国内外学者曾提出蚊虫可以携带病毒越冬^[2,3,4,5,6],但其与流行的关系尚未确定。由批号 5601 的实验过程中可看出,在蚊体内的脑炎病毒,虽然在不适合发育繁殖的广州低温月份中受到一段較长时间的抑制,但似乎并没有影响到当室温上升后蚊体内病毒的发育和繁殖。因此当室温达到 22.5℃ 以上的 4 月中旬以后,即連續获得分离病毒及传染試驗阳性。批号 5714 亦有类似情况。

作者曾进行全年 12 个月份的脑炎人工传染及病毒分离試驗,和 18—29℃ 五級不同温度中脑炎病毒在蚊体内的病毒滴定及传播能力的試驗。似乎在广州情况下,脑炎病毒在蚊体内的发育繁殖温度界綫約在 20℃ 左右^[7]。广州各季月平均温度在 20℃ 以下的时间很短,一般 4 月后平均温度即在 20℃ 以上。据 1956 年广东省脑炎病例的統計,4—9 月份病例占全年的 97.67%,4 月份后脑炎病例也陸續出現^[8]。以狩猎庫蚊成蚊在广州的寿命及越冬情况結合本实验看来,广州 4 月份病例的开始出現和該蚊种携带病毒越冬似乎有关系。

蚊子作为脑炎非流行季节的儲存宿主的另一种方式是病毒通过卵巢传递給下代。通过这一种方式的实验,不同学者曾得出不同結果。获得阴性結果者則认为那些获得阳性者仅是偶然,可能与材料污染有关。我們的一系列試驗都說明病毒可以通过卵巢传递給下代。

在遗传的实验里可以看出分离病毒的阳性批数的百分率是相当高的(二代白紋伊蚊为 0.92%(1/109),二代狩猎庫蚊为 2.03%(5/246),三代狩猎庫蚊幼虫为 0.85%(1/118))或传染試驗的阳性率(二代狩猎庫蚊的传染試驗阳性批数占总传染試驗批数 2.41%)。这可能是由于我們在实验前有合适的温度及足够的时间使蚊体内的病毒能比較充分发育^[7]。另一可能性是我們在遗传实验的母蚊或交配蚊均采用經分离病毒及传染試驗重复阳性的批号。此外,除了在二代雌蚊能通过分离和叮咬传染試驗获得阳性結果外,还在二代的雄蚊(东₁₆₆, 东₂₁₅)及三代幼虫中分离出病毒。由于雄性蚊子不吸食血液,三代幼虫則源自未与任何病毒接触过的二代成蚊,而本实验过程中又已經严防已知病毒的污染,同时狩猎庫蚊的实验均在广州脑炎季节已过的 10 月份以后进行而仍連續获得很高的阳性率,因此似乎可以証明在蚊体内的病毒确系上代蚊子通过卵巢而来。

本实验所孵育的狩猎庫蚊及白紋伊蚊的二代成蚊,除分离病毒的过程中連續获得阳性結果外,值得注意的是在二代狩猎庫蚊叮咬传染試驗的 83 批中,亦有 2 批(东咬₁₉, 西咬₅)获得阳性結果。其中东咬₁₉与分离病毒阳性的东₂₁₅,由表 5 可看出是同时间(1959 年 12 月 12 日)同地点(东区某污水潭)捞获的同一批幼虫所羽化的成蚊。这也可能說明脑炎病毒在蚊体内能通过卵巢遗传給下代。

本实验还在第三代 118 批 14,217 条幼虫的病毒分离試驗中,获得了一批(东₇₃)阳性結果。如果注意到上下代遗传关系,由表 5、表 7 中可以看出,該阳性批号东₇₃是源自 1959 年 11 月 19 日采自东区某污水潭狩猎庫蚊所产的孙代。在其上一代(子代)的分离病毒过程中,同样地也获得阳性結果(东₁₆₆)。这說明脑炎病毒在蚊体的遗传能力可能达到三代。因此,病毒在蚊体内的遗传究竟可达到多少代数,尚有待以后的研究。

在实验中蚊卵中分离出的病毒,必須考虑其当通过母蚊产道时有无因沾染母蚊体液的病毒而造成机械性污染。为排除該种机械性污染的可能性及証明病毒确系由卵巢遗传而来起見,本实验在蚊卵分离出病毒后,又在同批后期蚊卵孵出的幼虫分离病毒,亦获得阳性結果。关于蚊子幼虫分离病毒的問題, Hodes 氏曾提出蚊子幼虫可因吸食含有病毒悬液的水而造成意外污染^[17]。但从本实验过程的处置情况考虑,即在这样大量的水(5,000—6,000 毫升)中能够感染上病毒,可能性是比較小的。

根据我們的材料,狩猎庫蚊及白紋伊蚊被認為是广州的主要脑炎媒介^[1]。在广州季节气候条件下,狩猎庫蚊除在冬季极短時間外,几乎全年都能活动并产卵传代。而本实验說明該蚊种在广州可能兼具有携带脑炎病毒越冬及通过卵巢将病毒传给下代第二种方式成为儲存宿主。因此,在防治上必須在脑炎流行季节之前,对成蚊、幼虫、卵等同时进行彻底消灭。广州的白紋伊蚊每年 11 月后成虫密度下降到接近于零,通过成蚊越冬携带脑炎病毒的可能性似乎很小。但在本实验中可看出它仍有可能通过遗传方式成为脑炎病毒的儲存宿主。白紋伊蚊的成蚊为野栖性,扑灭有一定的困难,故措施上应主要針对消灭其越冬蚊卵,并在广州雨季到来之前(1—2 月)掌握时机,彻底处理一切孳生地。

三、总 結

感染脑炎病毒后的狩猎庫蚊通过广州低温到高温的月份(由 1956 年 1 月 31 日到 5 月 11 日),証明狩猎庫蚊可能携带脑炎病毒 85 天以上。在这过程中先經過平均 14.5℃ 42 天, 19.4℃ 28 天,然后温度升高至平均 24.6℃ 7 天及 13 天还可以叮咬小白鼠传播脑炎。人工感染后的本蚊种,在其所产的 1,207 卵块及 6,600 条幼虫,分別进行 124 及 93 次分离病毒試驗,結果分別获得 4 次及 2 次阳性。

天然界捞获的狩猎庫蚊及白紋伊蚊幼虫,在实验室羽化后的二代成蚊进行分离病毒及傳染試驗;結果在 119 批 2,757 只二代白紋伊蚊及 246 批 6,485 只二代狩猎庫蚊的分离病毒試驗中,分別获得 1 批 25 只及 5 批 125 只的阳性結果。83 批二代狩猎庫蚊的叮咬傳染試驗,其中 2 批获得阳性。二代狩猎庫蚊在实验室进行交配产卵后孵化的三代幼虫进行病毒分离,結果在 118 批 14,217 条三代幼虫中,获得 1 批 100 条阳性。

根据实验結果,作者等認為在广州的白紋伊蚊可能經卵传递病毒。而狩猎庫蚊則可能兼具有成蚊携带病毒越冬及經卵传递病毒給下代等二种方式,成为脑炎病毒的儲存宿主,并且在月平均温度高于 20℃ 的 4 月份以后,还可通过叮咬造成脑炎的传播和流行。由天然界狩猎庫蚊遗传实验結果看来,病毒在蚊体内的遗传能力可能达到三代。

針对二种蚊种儲存脑炎病毒的方式及其在广州的生态习性,作者等提出在脑炎防治措施上应注意的一些問題。

参 考 文 献

- [1] 蔡尚达,柯小麟,容瑾,李子仪:微生物学报 5 (4): 369, 1957.
- [2] Hurlbut, H. S.: *Am. J. Hyg.*, 51: 265, 1950.
- [3] 中央卫生研究院华东分院: 1954 年年报, 1955.
- [4] 中央卫生研究院华东分院: 1955 年年报, 1956.
- [5] 王逸民,任广宏,刘志勋:中华卫生杂志 4 (3): 195, 1956.
- [6] 孙鐸,张宗保,王成栋,魏文彬:生物制品通讯 3 (2): 195, 1956.
- [7] 柯小麟:中山医学院 1958 年年报, 1959.
- [8] 广东省卫生厅编:广东省 1956 年流行性乙型脑炎防治工作总结.
- [9] 中央卫生研究院华东分院:淡色库蚊体内流行性乙型脑炎病毒的遗传试验, 1955 年年报, 1956.
- [10] 吴蛟如,吴树吟:微生物学报 5 (1): 27, 1957.
- [11] 三田村篤志郎等:东京医专新志 3143: 30 (1884), 1939.
- [12] 王涪渊:中华医学杂志 44 (3): 288, 1958.
- [13] 王逸民,柳忠婉,任广宏,张星:中华医学杂志, 44 (3): 257, 1958.
- [14] Davis, A. M., Y. Yoshpe-Pwier: *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 48 (1): 46, 1954.
- [15] Дробышевская, А. И.: 38: 63, 1953.
- [16] Barnett, H. C.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 5: 86, 1956.
- [17] Hodes, H. C.: *Bull. John Hopkins Hosp.*, 79: 356, 1946.

STUDIES ON *CULEX FATIGANS* AND *AÈDES ALBOPICTUS* AS RESERVOIR VECTORS OF JAPANESE B ENCEPHALITIS

KO HSIAO-LIN AND JUNG KUAN

(*Chungshan Medical College*)

In a previous communication it was shown from experimental studies on hibernation and transovarian transmission conducted from 1956 to 1959 that *C. fatigans* and *Aë. albopictus* are possible reservoir vectors of Japanese B encephalitis in the Canton area.

Experimentally infected *C. fatigans* maintained at room temperature from winter through spring was found to harbor the Japanese B encephalitis virus for as long as 85 days. During a period of 70 days (from January 31 to April 11, 1956) when the room temperature ranged from 11.5 to 22.5°C, biting of mice by these mosquitoes failed to give positive results, but when they were maintained at higher temperatures (22.5–26°C) for 7 and 15 days, their biting yielded two positive results. The same phenomena could be observed in another experiment of the same series which was first kept at lower temperature (6–15°C, with an average 11.3°C) for 45 days and later at higher temperature (22–26.5°C) for 8 and 10 days.

The virus was successfully isolated from the eggs laid by the experimentally infected *C. fatigans* and the larvae hatched from them. Thus, out of 124 lots containing 1,207 egg crafts, four lots gave positive results and out of the larvae hatched from 93 lots totalling 6,600 individuals, two lots gave positive results.

Isolations of the virus were made from adults reared from 6,485 larvae of *C. fatigans* in 246 lots caught in nature from October to December, 1959, in the Canton City. Successful isolations of the virus were obtained from five lots (125 mosquitoes),

of which two consisted of male mosquitoes only. Furthermore, infections of 3-day-old mice by biting were conducted in 83 lots, and positive results were obtained in two, of which one was from the same batch of mosquitoes found positive by the isolation test just mentioned.

The larvae bred from the above-mentioned mosquitoes, i.e., the third generation, were also tested for the presence of the virus. One (100 larvae) out of 118 lots (14,217 larvae) was found positive, and this lot happened to be bred from one of the five lots of mosquitoes found positive by the isolation test.

From April through September, 1959, larvae of *Aë. albopictus* were caught from the various sections of the Canton City and were reared in the laboratory to the adult stage. Of the adults 2,757 were taken at random from 109 lots for the isolation of the virus and one of them gave positive reaction. However, none of the mosquitoes so reared could infect the 3-day-old mice by biting.

The results presented in this paper support the view that *C. fatigans* and *Aë. albopictus* are the possible reservoir vectors of Japanese B encephalitis in the Canton area. In *Aë. albopictus* the virus could apparently be carried to the second generation through transovarian transmission. In the case of *C. fatigans*, not only the possibility of transovarian transmission to the 2nd and 3rd generations has been demonstrated, but also success has been obtained in infecting mice with the virus through biting by the mosquitoes of the 2nd generation. Since *C. fatigans* was found to harbor the virus in the winter, it was speculated that it could also serve as a reservoir vector in the same season in the Canton region.

Comments and suggestions as to the measures for the eradication of *C. fatigans* and *Aë. albopictus* have been made in the light of our studies on the bionomics of the two mosquitoes and the epidemiology of Japanese B encephalitis in Canton.