

# 从广州市天然界蠓蠊分离流行性 乙型脑炎病毒的試驗\*\*\*

容 瑾 柯小麟

(中山医学院寄生虫学教研组)

蚊子作为流行性乙型脑炎传播媒介的事实已肯定,最近吳蛟如、吳树吟二氏曾自福建之台湾蠓蠊分离出乙型脑炎病毒<sup>[3]</sup>并提出新的媒介虫。广州市蠓蠊密度很高,因此有必要对蠓蠊进行研究。本文报告其研究结果。

## 一、試驗方法

(一) 选点根据 按广州市东、南、西、北四区作单位,参考各区过去脑炎患者分布情况,选择蠓蠊密度高、人口密集且多丛林、杂草场所作为代表(如公园、学校等经常人多密集场所),选点进行人工诱捕采集蠓蠊成虫,每旬到各区所选的点采集数次。

(二) 捕捉方法 一律采用人工诱捕法。选蠓蠊最活动的中午及下午时间捕捉,捕捉方法为裸露小腿部分引蠓蠊吸血,待其附栖于皮肤上时即以小型吸蚊管吸取。一般在蠓蠊密度最高之六、七月,中午时间,2小时我们每人可捕捉近千只<sup>[2]</sup>。吸取蠓蠊之蚊管内放少量竹叶或青草,俟携回实验室即作病毒分离。除人工诱捕外,我们曾以狗、兔、鸡、鸽、葵鼠、大白鼠、小白鼠等诱捕,及双重蚊帐(即人坐于蚊帐内,外另套大蚊帐)诱捕蠓蠊,均未成功。

我们所捕捉的均为蠓蠊属(*Lasiohelea* sp.)之一种。

(三) 病毒分离方法 捕捉到的蠓蠊只少量吸有血液,多为空腹者。因目前仍无法进行人工饲养,故归后经初步鉴定后,即进行试验,或留于低温冰箱内暂储藏,待次晨进行分离、操作及鉴定与从自然界捕获的蚊之分离类似<sup>[1]</sup>。

蠓蠊分离病毒时,按以下比例以10%脱脂牛奶生理盐水稀释:

10只以下 0.04 毫升/只	10—19只 0.03 毫升/只
20—29只 0.02 毫升/只	30只以上 0.01 毫升/只

每批最大数量以70只为限。

本试验由专人负责,在专室内以无菌手續操作。与已知病毒无接触。试验的小白鼠均为本院动物场自行繁殖,并在防蚊设备内养育。自外界捕捉之蠓蠊分离脑炎病毒与发病小白鼠传代二者分室分接种罩操作,以防污染。

\* 本文1960年8月20日收到。

\*\* 1. 本文系陈心陶教授指导及审阅,特此致谢。

2. 本文实验有何启基,张日昇二位同志参加,病毒鉴定与中山医学院微生物及病理解剖教研组协作进行。

## 二、試驗結果

### (一) 分离結果

自 1959 年 4 月份至 9 月中旬共检查蠓蠓 259 批, 16642 只, 結果获得 6 批阳性(编号为蠓分 15, 分 38, 分 42, 分 83, 分 85, 分 218)。分离情况见表 1。

表 1 蠓蠓天然分离脑炎病毒結果

月 份	区 份	批 数	只 数	总批数	总 只 数
4	北	2	70	2	70
5	东	10*	578	85	4863
	南	3	183		
	西	6**	314		
	北	66**	3788		
6	东	5	350	63	4426
	南	11	778		
	西	6	420		
	北	41	2878		
7	东	21	1427	56	3823
	南	12	845		
	西	12	781		
	北	11	770		
8	东	5*	350	35	2469
	南	11	789		
	西	13	910		
	北	6	420		
9	东	4	215	13	844
	南	1	69		
	北	8	560		
10	北	4	121	4	121
11	北	1	26	1	26
				259	16642

\* 代表分离出阳性一批

\*\* 代表分离出阳性二批

### (二) 病毒鉴定

1. 典型症状: 蠓蠓悬液接种于小白鼠后, 阳性各批第一代小白鼠即出現脑炎症状。繼續传代, 症状更为典型, 呈松毛, 捲屈, 抽搐, 过敏, 震顫, 后脚麻痺等症状, 且症状发作时间均出現于接种 3—4 日后。各批传代經細菌培养均为阴性。

2. 滤过試驗: 将分离出之病毒 15, 38, 42, 83, 85, 218 号分別經賽氏 EK 滤板过滤, 以滤液接种小白鼠, 各批小鼠皆于 3—10 日內陆續出現典型脑炎症状。滤液經培养証明无菌。

3. 血清学鉴定: 以分离出之病毒与乙型脑炎的标准免疫血清进行中和試驗, 并用丙

酮、乙醚浸漬法将鼠脑制成抗原进行补体結合試驗,均証明与“京卫研”同一类型。

4. 病理切片检查: 将蠓分 42 及分 85 发病鼠脑送交本院病理解剖教研組进行切片鉴定。检查结果符合典型脑炎病变。

各結果詳見表 2。根据各方面鉴定結果,可以証明自天然界捕捉之蠓蠓所分离出之六株病毒确为乙型脑炎病毒。

表 2 阳性各批病毒分离經過及鉴定結果

分 离 病 毒							病 毒 鉴 定				
批 号	分离日期 (年、月、日)	捕捉 地点	蠓数	稀释液 (10% 脱脂奶 毫升)	小白鼠死亡数  小白鼠接种数	小白鼠 接种死 亡天数	补体 結合 試驗 結果	50% 致死 量	中和 指数	病理切 片鉴定	
蠓分 15	1959、5、4	北区 某公 园竹 林下	20	0.4	一代 二代 三代 四代(过滤試驗) 五代及以后	2/3 3/3 3/3 3/3 5/5	4.5 4½ 3½ 6 3—4	1:32	7.77	588.8	
蠓分 38	1959、5、13	东区 某公 园	45	0.45	一代 二代 三代 四代(过滤試驗) 五代 六代及以后	1/3 3/3 3/3 3/3 3/3 6/6	4 5—5½ 3½—4 6, 6, 10 5—5½ 3—4	1:32	7.0	1585	
蠓分 42	1959、5、15	北区 公园 竹林 下	70	0.70	一代 二代三代 四代(过滤試驗) 五代及以后	3/3 3/3 3/3 6/6	3½, 3½ 4 3—4 4 4	1:64	7.67	275.4	符合脑 炎病变
蠓分 83	1959、5、29	西区 某中 学竹 林下	50	0.50	一代 二代及以后 十代(过滤試驗) 十一代	3/3 3/3 3/3 4/4	9, 10, 10 3—4 3—4 3½	1:32	6.60	851.1	
蠓分 85	1959、5、29	西区 某中 学竹 林下	50	0.50	一代 二代及以后 十五代(过滤試驗及以后)	3/3 3/3 3/3	9½—10 3½—4 3—4½	1:32	7.50	3162	符合脑 炎病变
蠓分 218	1959、8、10	东区 某公 园	70	0.70	一代 二代 三代及以后 十三代(过滤試驗) 十四代及以后	2/3 3/3 4/4 3/3 4/4	3, 9 5—6 3—4 5 3—4	1:64	7.50	1480	

### 三、討 論

在广州地区,蠓蠓孳生地及活动场所很广泛,竹林、树林、果木、丛草等地附近之池塘,甚至极小之积水环境均可孳生,而活动亦多在草木丛生之处。以季节消长言,根据我們初

步調查,虽然全年均有出現,但自四月份后密度驟升,六月达高峯,九月后开始下降<sup>[2]</sup>;与广州市脑炎流行季节(病人自4—5月出現,6—7月最多,8—9月后驟減)相吻合。蠓蠊出現季节因繁殖量多,迅速,密度很高,在高峯期中午进行捕捉,每人2小时最多曾捕获975只。且蠓蠊极嗜吸人血,平时野外工作、游玩、身体裸露部分常受侵袭,短时即密布皮肤,我們进行密度調查常有应接不暇之感。具有蠓蠊分布环境之当地居民或偶至該地者,难免不受叮咬,因此蠓蠊在传播乙型脑炎病毒之意义上不能不引起我們的注意。

蠓蠊携带病毒,根据吳氏等的意見,认为来源可能有三种,即:(1)直接由病人吸取血液获得病毒;(2)由于吸食脑炎病毒宿主牛、馬、驢、騾、羊、鸡等家畜血液;(3)病毒由前代母体遗传。自蚊类传播脑炎情况来看,上三来源均可存在,而蠓蠊研究今只为开端,有待今后深入钻研。以我們初步材料观察,所获阳性六批,材料均源自公园、学校,这几所公园均为广州市最大者,平日均接待数以千計的居民,假日則上万。北区分离出病毒之二批蠓蠊均为某大公园之园林冰室附近捕获,此地丛竹密布,为游客密集之处。因此,脑炎之传播环节可能在公园完成。关于蠓体之脑炎病毒能否获自动物儲存宿主問題,也有待今后研究。虽然我們曾試以狗、兔、鸡、鴿等小动物誘捕,效果不佳,但此仍未能确定蠓蠊之嗜血习性。病毒能否在蠓体遗传問題,亦須深入钻研后下結論。

我們分离出之六株病毒,其中五株为五月所获,此正在脑炎流行之初,結果与 Hammon、三田村、黃禎祥、魏文彬等蚊体分离病毒的經驗相同<sup>[4,5,6]</sup>:即于脑炎流行开始之前或将开始之时,从自然界之蚊虫分离病毒較易得阳性結果。在流行末期,分离出阳性者較少,可能是因为吸了病毒的蚊虫与吸了免疫血清的蚊相混合試驗而发生中和作用的緣故。盖流行开始以后,动物得了不显性感染的增多,同时有免疫力的动物的数量也增加了。因此就有許多蚊虫吸了有免疫的血清,致形成很多中和病毒的机会,我們认为此經驗亦适用于蠓体分离脑炎病毒情况。

今日控制传染病的工作进行得較完善,通常发现脑炎后,防疫人員即到病家訪問,并进行消毒,以防疾病之蔓延。这种方式对消灭媒介蚊虫方面作用甚大,但在初步确定蠓蠊亦为乙型脑炎媒介后,由于蠓蠊的普遍存在,則局限的病家噴洒葯物似嫌不足。因蠓蠊为野栖性吸血昆虫,故我們仍須注意外界环境中蠓蠊的处理。

## 四、結 論

(一) 于1959年4—11月在广州市检查了259批、16642只蠓蠊,从其中6批分离出乙型脑炎病毒者6批,計5月份5批,8月份1批。其中二批采自北区某公园,二批采自东区某公园,二批采自西区某中等学校。

(二) 各批病毒均經过滤,血清学鉴定及部分經病理切片鉴定等証明为乙型脑炎病毒,与“京卫研”属同一类型。

(三) 对蠓蠊在乙型脑炎流行病学作用进行討論,并提出对此害虫应加注意进行研究和消灭。

## 参 考 文 献

[1] 蔡尙达、柯小麟、容璫、李子仪:华南医学院1956年科学論文討論大会論文摘要集,21—23頁。1956;微生物学报,5(4):369,1957。

- [2] 容璦、柯小麟:有关蠓蠊某些生态学问题的研究。(未发表)
- [3] 吴皎如、吴树吟:微生物学报, 5 (1): 22, 1957.
- [4] Hammon, W. MCD., Tigeritt, W. D., Sather, G., Schenker, H., *Am. Jour. Hyg.*, **50**: 51, 1949.
- [5] 黄祯祥、郑云凯:中华医学杂志, **37** (4): 296, 1951.
- [6] 魏文彬、李劫、张宗葆等:微生物学报, **2** (2): 117, 1954.

## ISOLATION OF JAPANESE B ENCEPHALITIS VIRUS FROM *LASIOHELEA* SP. IN CANTON

JUNG KUAN AND KO HSIAO-LIN

(*Chungshan Medical College*)

In 1959, from April through November, a large number of midges belonging to the genus *Lasiohelea* was caught by the human-bait method from certain parks and schools in the various sections in Canton. Out of 259 lots containing 16,642 individuals of *Lasiohelea* caught, 6 lots (5 from May and 1 from August) with a total of 305 individuals were found to harbor the Japanese B encephalitis virus identified by filtration methods, serological reactions and some by pathological manifestations. This study confirmed similar report first made from this country in 1957. In view of their preference for human blood and of their immense numbers throughout the greater part of the year, the possible role played by midges in the epidemiology of Japanese B encephalitis was discussed. Attention is called to the importance of the simultaneous eradication of midges in the extensive program on the eradication of mosquitoes as a measure in the control of encephalitis in this region.