

東鄉氏伊蚊及淡色庫蚊感染流行性 乙型腦炎病毒試驗

魏文彬 王成棟 張宗葆 張瑞平

(大連生物製品所病毒研究室及醫學昆蟲研究室)

蘇聯 Petrisheva, Shubladze 二氏^[1]、日本三田村氏等^[2,3]、美國 Reeves, Hammon 二氏^[4]、我國黃禎祥等^[5,6]已證明多種蚊蟲能在實驗室內人工的條件下感染流行性乙型腦炎病毒。黃禎祥氏等在北京證明北京市的 *Aedes chemulpoensis*, *Culex pipiens* var. *pallens* 及 *Aedes dorsalis* 三種蚊種可以傳染流行性乙型腦炎病毒。

旅大市係濱海都市，各種蚊種的季節分佈和種類與北京市不盡相同，例如在北京市可以找到的 *Aedes chemulpoensis*，在旅大市並不多見^[7]。相反地，*Aedes togoi* 的幼蟲喜在含有鹽質成分的石縫水中和岩洞水中孳生，在旅大市極易找到。因此我們就以 *Aedes togoi* 為重點，輔以 *Culex pipiens* var. *pallens*，在試驗室內做了人工感染流行性乙型腦炎病毒的試驗，其目的是要瞭解在濱海地區較常見的 *Aedes togoi* 蚊是否和 *Culex pipiens* var. *pallens* 蚊一樣地可以感染腦炎病毒，以便在“撲滅蚊子，預防腦炎”這項工作中對 *Aedes togoi* 蚊採取適當的措施。

材料及方法

(一) 病毒及動物：感染蚊種用旅大系 # 22 鼠腦病毒，此病毒係於 1952 年由旅大市一患流行性乙型腦炎死亡者腦組織中分出的。鑑別由蚊體重新分離出的病毒的中和試驗的血清是用“京衛研”鼠腦病毒免疫家兔所製成的^[8]。

(二) 蚊種的採集及感染：供試驗用的蚊種係由旅大市自然界採集來的幼蟲，在試驗室內培養羽化所得的。

感染蚊種採用兩種方法：

1. 吸血傳染法：注射 10% 鼠腦病毒懸液 0.5—1.0 毫升於體重 10—12 克之小白鼠腹腔內。注射後 5—6 小時，將鼠腹部之毛用剪刀剪去，並將鼠用細繩固定於木板上使鼠之腹部朝上，置入放有餓蚊的蚊籠中過夜，次晨取出。將吸飽小白鼠血的蚊子放於潮濕的 30°C 的孵卵箱內，以備按不同間隔時間做分離病毒試驗及由蚊傳染小白鼠試驗用。

2. 直接吸吮病毒法：將鼠腦病毒製成 1—2% 的懸液，於 10% 的蔗糖溶液或蜂蜜溶液內另加少量家兔血球。將病毒懸液滴透於滅菌棉花球上使蚊吸吮，每隔半小時更換病毒棉球一次。將已吸吮病毒的蚊移置 30°C 孵卵箱內再如上法按不同間隔時間進行分離病毒試驗。

(三) 由吸血及吸糖液蚊分離病毒及傳染動物試驗：吸血或吸糖液後於不同的間隔時間將蚊子研磨，每隻蚊加 0.1 毫升 pH 7.6 的牛肉湯稀釋之，在離心機上以每分鐘 4,000 轉遠心沉澱 20 分鐘，取其上清液，並於每毫升加青黴素 500—1,000 單位及鏈黴素 1,000—2,000 單位。放置於 0—5°C 冰箱中過夜，次晨將已經過抗生素處理的材料接種於 7—9 克的小白鼠腦內，每個試驗號接種小白鼠 3 隻，每隻注射 0.03 毫升。觀察 3 週，在此期間如有腦炎症狀發生則在頻死前殺死之，剖取其腦以備做中和試驗及補體結合試驗。

施行傳染試驗時，將 3—7 天的乳鼠放於鋪有棉花的平皿內，再置入蚊籠中過夜，給感染了病毒且飢餓的蚊子刺咬。次晨觀察乳鼠的刺咬斑痕後，將乳鼠還歸母鼠哺養並繼續觀察 3 週。在此期間如乳鼠有腦炎症狀出現則殺死之，剖取其腦，進行中和試驗及補體結合試驗。

試 驗 結 果

(一) 東鄉氏伊蚊 (*Aedes togoi*) 傳染旅大系 # 22 腦炎病毒試驗

病毒分離：在 22 次吸血傳染試驗中，有陽性 5 次；又在 34 次直接吸吮病毒試驗中，陽性者 3 次；其結果見表 1。綜合這兩種試驗結果指出，東鄉氏伊蚊感染流行性乙型腦炎病毒後，其發現病毒的時間最早為 5½ 天(標本 114 II)，至遲 23½ 天(標本 25 XII)。

小鼠傳染：共做了 3 次，試驗全為陰性。

表 1 東鄉氏伊蚊感染腦炎病毒後病毒分離試驗

吸 血 傳 染						吸 吮 病 毒 傳 染					
試驗號	吸血後 天數	蚊數	小白鼠發病 數 / 接種 小白鼠數	接種後發病 天數	結果	試驗號	吸毒後 天數	蚊數	小白鼠發病 數 / 接種 小白鼠數	接種後發病 天數	結果
108 I	7	10	3/3	5.5.5	+*	18 I	9	12	3/3	5.5.5	+
112 III	8½	10	3/3	6.6.6	+	25 XI	21½	10	3/3	6.6.7	+
IV	11½	10	3/3	7.7.7	+	XII	23½	10	2/3	8.10	+
114 II	5½	10	3/3	7.7.7	+						
III	8½	10	3/3	7.7.14	+						

+ 補體結合試驗為陽性，證明為流行性乙型腦炎病毒。

+* 除補體結合試驗為陽性外，中和試驗亦為陽性，中和指數為 108。

表 2 淡色庫蚊感染腦炎病毒後病毒分離及傳染試驗

病 毒 分 離 試 驗 (小 白 鼠)						乳 鼠 傳 染 試 驗						
蚊 咬 受 染 鼠												
試驗號	吸毒後 天數	蚊數	小白鼠發病 數 / 接種 小白鼠數	接種後發病 天數	結果	試驗號	蚊吸毒後 天數	蚊數	鼠數	發病數 / 被咬數	被咬後發 病天數	結果
101 II	20	31	1/3	9	+							
106 II	20	10	3/3	6.6.6	+	106	7	100+	3	3/3	5	+
III	30	10	1/3	12	+							
113 VI	17½	10	2/3	8.9	+	113	15	100+	3	1/3	6	+
VII	20½	10	3/3	6.6.6	+		23	100+	3	2/3	6.6	+
VIII	23½	10	3/3	6.6.6	+		35	100+	2	2/2	5.5	+
IX	26½	10	1/3	9	+							
X	29½	10	3/3	7.7.7	+							
XI	32½	10	2/3	6.6	+							
115 I	2½	10	3/3	7.7.7	+	115	11	100+	4	3/4	5.10.10	+
II	5½	10	2/3	7.8	+		20	100+	7	2/7	5.5	+
IV	11½	10	2/3	6.8	+*							
V	14½	10	3/3	7.7.7	+							
VI	17½	10	3/3	7.7.7	+							
VII	20½	10	2/3	7.7	+							
IX	26½	10	2/3	6.6	+							
X	29½	10	3/3	7.7.7	+							
XI	32½	10	3/3	6.6.6	+							
XII	35½	10	3/3	6.6.6	+							
XIII	38½	10	3/3	6.6.6	+							
XIV	41½	10	2/3	6.6	+							

+ 補體結合試驗為陽性，證明為流行性乙型腦炎病毒。

+* 除補體結合試驗為陽性外，中和試驗亦為陽性，中和指數為 562。

(二) 淡色庫蚊 (*Culex pipiens* var. *pallens*) 傳染旅大系 # 22 腦炎病毒試驗
 病毒分離: 吸血傳染試驗共做 32 次, 陽性結果 21 次 (見表 2 第一部)。直接吸吮病毒試驗做了 17 次皆為陰性。由 21 次陽性吸血傳染試驗可以看出淡色庫蚊感染後在蚊體內發現病毒的時間最早為 2½ 天 (60 小時)(試驗號 115 I), 至遲 41½ 天 (試驗號 115 XIV), 此亦可視作病毒保存於蚊體中的時間。

乳鼠傳染試驗: 試驗 6 次皆為陽性, 詳細結果見表 2 第二部, 在 6 次陽性試驗中, 傳染流行性乙型腦炎的時間為 7 天 (試驗號 106) 至 35 天 (試驗號 113)。

討 論

1953 年夏季我們在大連市由自然界中所捕獲的三帶喙庫蚊 (*Culex tritaeniorhynchus*) 和淡色庫蚊蚊體中分離出兩株流行性乙型腦炎病毒^[9]。三帶喙庫蚊及淡色庫蚊, 這兩種蚊種在旅大市都是最常見而佔所有蚊種的絕大多數的蚊子。1953 年我們因限於人力和物力, 祇在一住宅和一牛舍中重點的進行了各種蚊種季節分佈的調查^[7], 結果在該牛舍中祇發現很少的東鄉氏伊蚊; 但事實上東鄉氏伊蚊的幼蟲在旅大市濱海的岩洞石縫積水中極易找到, 可見仍是一種比較常見的蚊子, 在流行性乙型腦炎的流行病學上的意義或不遜於三帶喙庫蚊和淡色庫蚊。我們用由牛舍所捕獲的東鄉氏伊蚊, 曾做了分離病毒試驗, 但結果均為陰性; 於是乃進行用流行性乙型腦炎病毒人工感染東鄉氏伊蚊的試驗, 其目的是要瞭解此蚊是否能攜帶腦炎病毒從而使它在流行病學的意義上能有更深入的瞭解。由分離病毒試驗的結果指出東鄉氏伊蚊可以攜帶病毒; 此蚊於感染病毒後 5½ 天即能由蚊體中再行分離出病毒。它攜帶病毒的時間至少可達 23½ 天。至於已感染腦炎病毒的東鄉氏伊蚊傳染乳鼠的試驗雖結果為陰性, 但做的試驗次數太少, 希望今後能在這方面多下工夫。東鄉氏伊蚊能感染流行性乙型腦炎病毒, 在蘇聯^[1]及日本^[2,3]業經證實, 但在我國尚係第一次報告。

另外我們在試驗室內對淡色庫蚊亦做了人工感染試驗; 我們之所以選此蚊做試驗對象, 一方面是因為我們已經在大連市由自然界捕獲的此種淡色庫蚊蚊體中分離出腦炎病毒, 另外此蚊為多數學者所採用做為傳染流行性乙型腦炎病毒試驗的昆蟲媒介。試驗結果指出, 此蚊確可攜帶病毒至少達 41.5 天, 其有效傳染期為 35 天。我們推論此蚊一旦獲得傳染, 可能終身攜帶病毒。Merrill 氏及

Ten Broeck 氏^[9]認為埃及伊蚊 (*Aedes aegypti*) 可以終身攜帶西方馬腦脊髓炎病毒的根據是根據由最後剩餘的一批已感染病毒 90 天的蚊子能分離出病毒的事實。

結 論

1. 旅大市濱海區常見的東鄉氏伊蚊可以攜帶流行性乙型腦炎至少至 23.5 天。

2. 旅大市的淡色庫蚊可攜帶流行性乙型腦炎病毒至少可至 41.5 天，其有效傳染時期為 35 天。淡色庫蚊一旦感染流行性乙型腦炎病毒可能終身攜帶病毒。

參 考 文 獻

- [1] Petrisheva, P. A., Shubladze, A. K. *Arch. Sci. Biol.*, 1940, **59**: 72.
- [2] 三田村篤志郎、森和雄、北岡正見、天神智：東京醫事新誌，1938，**62**：812。
- [3] 三田村篤志郎、森和雄、北岡正見、天神智：東京醫事新誌，1938，**62**：820。
- [4] Reeves, W. C., Hammon, W. McD., *J. Exp. Med.*, 1940, **83**: 185.
- [5] 黃禎祥、馮蘭洲、任廣宏、王潛淵：中華醫學雜誌，1951，**37**：300—304。
- [6] 王逸民、鄭雲凱、黃禎祥：中華醫學雜誌，1952，**38**：1038—1042。
- [7] 張宗葆、孫錄：1953 年大連市區住宅與牛舍蚊種季節分佈調查報告，微生物學報，1954，**2** (2)：125—135。
- [8] 魏文彬、李勣、張宗葆、孫錄：由大連市區住宅與牛舍蚊體中分離出流行性乙型腦炎病毒，微生物學報，1954，**2** (2)：117—124。
- [9] Merrill, M. H., Ten Broeck, C., *J. Exp. Med.*, 1935, **62**：687.

TRANSMISSION EXPERIMENTS ON *Aedes togoi* AND *Culex pipiens* VAR. *pallens* WITH JAPANESE B ENCEPHALITIS VIRUS

WEI WEN-PIN, WONG CHENG-TUNG, CHANG TSONG-PAO, CHANG REI-PING
Virus and Medical Entomology Laboratories, National Serum and Vaccine Institute, Dairen

1. Japanese B encephalitis virus was recovered from infected *Aedes togoi* between 7 and 23½ days after sucking injected mice or by artificial feeding with the virus. This finding may have an important bearing on the epidemiology of Japanese B encephalitis here since *Aedes togoi* is one of the common species of mosquitoes found in Dairen.

2. Japanese B encephalitis virus was recovered from infected *Culex pipiens* var *pallens* between 2½ and 41½ days after laboratory transmission. *Culex pipiens* var. *pallens* once infected might harbour the virus for life. Infected mosquitoes of this species were able to transmit the disease to infant mice successfully up to 35 days after laboratory transmission.

JOURNALS.IM.AC.CN