

# 由糠蚊科蠓蠓屬 *Lasiohelea* 台灣蠓蠓分離 出乙型腦炎病毒\*

吳皎如 吳樹吟

(福建省中心檢驗室)

蚊類雖已公認為昆蟲性腦炎的傳染媒介體，但 Hammon 氏<sup>[1,2]</sup> 曾由雞蠓 (*Dermangassus gallinae*) 中分離出一株腦炎病毒。此後無其他學者有類似的報告。乙型腦炎的傳染媒介根據國內外學者的實驗皆證明蚊子係此病媒介體，而且我國病毒學家相繼由尖音庫蚊，三帶喙庫蚊，東鄉伊蚊，白紋伊蚊 (1955 年作者在福建分離出 7 株) 等分離出乙型腦炎病毒。由此等實驗可以確定我國的流行性乙型腦炎媒介體係各種不同種屬的蚊類。1955 年作者在某地研究乙型腦炎時，據當地居民的反映，一種糠蚊的季節消長與乙型腦炎流行的季節相同，而且他們肯定地說此種昆蟲和乙型腦炎有關係。作者即初步考察此種糠蚊的分佈情況和生活習慣，調查結果發現此種糠蚊分佈甚廣，專吸人血，在 7 月份數量特多，該月份正是乙型腦炎季節，經專家鑑定係糠蚊科中蠓蠓屬 (*Lasiohelea*) 的台灣蠓蠓 (*Lasiohelea taiwana* Shiraki)，1955 年 7 月當乙型腦炎流行旺盛時開始捕捉此種糠蚊作病毒實驗。

## 實驗方法

### (一) 台灣蠓蠓來源

試驗用的蠓蠓係在乙型腦炎流行區捕捉的，地點皆在野外樹下草地等處，捕捉時間多在中午，捕捉方法乃用皮膚誘引蠓蠓來吸血，在蠓蠓棲止皮膚上時即以試管罩住，如此捕捉在 7 月份每小時可捕捉 20—30 個，裝在試管內攜回即作病毒分離。

### (二) 病毒的分離方法

捕捉到的蠓蠓無法飼養，捕捉後數小時即死，故必須立即作分離病毒準備，捕捉的蠓蠓多數腹內無血液；作初步鑑定後，即放於冷凍箱內凍死，然後取出放於平皿內，加乙醚，使蠓蠓在乙醚內消毒 5 分鐘、平皿放於冰塊上，然後將蠓蠓由乙醚取出，再放消毒冰

\* 1956 年 9 月 15 日收到。

冷生理食鹽水中洗滌兩次，以 50 個爲一批在冷凍的研鉢中研磨；每個蠓蠓加 pH 8.0 的冷凍牛肉湯 0.01—0.05 ml.，每公撮加一千單位盤尼西林和鏈黴素，在冰箱中 4 小時後，以 3000—4000 R. P. M. 離心 10 分鐘，將上清液吸出，一面作無菌培養，另一方面即以 0.02 毫升注射 8 日的初生乳鼠腦內，所用的乳鼠係在防蚊設備下養育的，擔任分離病毒工作的人員係派專人負責，並在專室內操作，以避免意外傳染，接種的小白鼠在防蚊設備下觀察 21 天，每天晝夜小心觀察以免發病時被母鼠吃掉，所有接種的小白鼠皆不作盲目傳代。

## 實 驗 結 果

### (一) 分離結果

我們在 7 月中旬以後，至 8 月底，在三個流行區捕集蠓蠓共計 763 隻；其中 7 月中下旬內僅捕集 85 隻，分兩批接種，一批 50 隻，一批 35 隻，由 50 隻一批中分離出一株病毒，此兩批蠓蠓係在同一流行區同日捕集的，亦同日同時處理，接種亦同時，同在一個實驗室內由同一個人注射乳鼠腦內，乳鼠皆用初生 7—8 日的小白鼠；每批注射 3 個，捕集此兩批蠓蠓的流行區地點係一區內小村，該村近三年內，每年 7 月皆有乙型腦炎大流行，故劃爲滅蚊實驗區，滅蚊工作相當徹底，蚊子在流行季節非常少見，而蠓蠓則甚多；而病人亦陸續發現；但數量比往年少，僅爲 1954 年的 25%。滅蚊工作對蠓蠓繁殖亦有影響，但因往年未注意蠓蠓在 7、8 月的數量，故無法肯定減少情況。8 月內在該地又捕集 169 隻蠓蠓，但接種動物結果爲陰性，同時在其他兩區亦捕捉蠓蠓 309 隻作分離病毒實驗，其中有一批動物 1 隻發現症狀，立即傳代，但被污染無法肯定有無病毒，其他各批皆爲陰性，每批所用蠓蠓數量自 4 隻至 50 隻。

### (二) 病毒的鑑定

1. 接種的小白鼠乳鼠症狀的觀察 蠓蠓懸混液接種小白鼠乳鼠腦內後；乳鼠經數小時即行動照常，並能吮吸母鼠乳汁，經 3 天各乳鼠無特別發現，吸乳，爬行和一般狀況正常，至第 4 天一乳鼠蜷曲，過敏，抽搐，後脚麻痺，爬行蹣跚，並不能吸乳，自行蜷伏一處，同日下午抽搐嚴重，稍加刺激即抽搐不止，呼吸發現困難，立即解剖傳代並作細菌培養，經 3 日，第 2 代亦同樣發病，細菌培養陰性，尙有 2 乳鼠，一個第 5 天發病症狀相同，一個第 6 天發病，第 1 代發病率 100%，經乳鼠傳代 3 代後，即能在 10—15 克小白鼠腦內傳代，病毒致病力非常穩定。

2. 濾過試驗 將分離出的病毒經賽氏濾器，E K 濾板濾過，用濾液接種小白鼠皆能於第 3 天以後陸續發病，症狀典型，培養檢查細菌，亦無發現任何細菌生長，證明所分

離的病原體係一種濾過性病毒。

3. 動物感染範圍試驗 將該病毒的 10% 鼠腦懸混液分別接種於小白鼠、豚鼠、白兔的腦內和腹腔內，除小白鼠相繼發病死亡外，其他動物觀察一個月無變化，接種於 8—9 日雞胚胎內，經 24 小時，胚胎死亡，這證明與乙型腦炎病毒的動物感應範圍相同。

4. 血清學鑑定 將分離出的病毒接種小白鼠，並注射豚鼠製成抗原和免疫血清，然後與中山株，京衛<sub>3</sub>，及由該地區病人屍體分離出各乙型腦炎毒株作補體結合反應、中和反應和抗原性關係研究，其結果如下表：

表1 交互補體結合反應結果

免疫血清	抗 原														
	蠓蟻第一號			中 山 株			京 衛 <sub>3</sub>			龍 檢 <sub>1</sub>			正抗原對照		
	1	1.5	2.0	1	1.5	2.0	1	1.5	2.0	1	1.5	2.0	1	1.5	2.0
蠓蟻第一號	4	4	4	3	3	3	3	3	3	4	4	4	—	—	—
中 山 株	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	—	—	—
京 衛 <sub>3</sub>	3	3	3	4	4	3	4	4	4	4	4	3	—	—	—
裕 檢 <sub>1</sub>	4	3	3	4	4	4	4	3	3	4	4	3	—	—	—
龍 檢 <sub>1</sub>	4	4	4	3	3	3	4	3	3	4	4	4	—	—	—

表2 相互中和試驗結果

免疫血清	蠓 蟻 第 一 號		中 山 株		京 衛 第 三 號		對死小白鼠 50% 致死量
	50% 致死量	中和指數	50% 致死量	中和指數	50% 致死量	中和指數	
蠓蟻第一號	10 <sup>-3</sup>	1000	10 <sup>-3</sup>	1000	10 <sup>-2</sup>	1000	10 <sup>-6</sup>
中 山 株	10 <sup>-4.5</sup>	1000	10 <sup>-4</sup>	3000	10 <sup>-4.5</sup>	1000	10 <sup>-7.5</sup>
京衛第三號	10 <sup>-3</sup>	1000	10 <sup>-3</sup>	1000	10 <sup>-2.82</sup>	2000	10 <sup>-6</sup>

表3 蠓蟻第一號病毒對病人分離的病毒毒株在抗原性上的關係

免 疫 血 清	病 人 毒 株 抗 原												血 清 對 照 管									
	龍檢 <sub>1</sub>		龍檢 <sub>2</sub>		龍檢 <sub>7</sub>		龍檢 <sub>11</sub>		伊蚊 <sub>1</sub>		乏倦 <sub>1</sub>			潭檢 <sub>1</sub>		南檢 <sub>1</sub>		裕檢 <sub>4</sub>		正抗原		
	1	1.5	2.0	1	1.5	2.0	1	1.5	2.0	1	1.5	2.0		1	1.5	2.0	1	1.5	2.0	1	1.5	2.0
蠓蟻第一號病毒	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	4	3	2	4	3	2	4	3	1	—	—
中 山 株	4	4	3	4	3	—	4	2	1	4	4	3	4	2	1	4	2	2	4	3	2	—
京 衛 第 三 號	4	4	1	4	2	—	3	2	—	4	4	2	3	2	1	2	2	—	4	2	1	—
裕 檢 第 一 號	4	3	3	4	2	2	4	2	4	3	3	3	3	2	4	3	4	2	2	2	4	3

根據以上鑑定的結果，可以證明從蠓蠓所分離的一株病毒，確為流行性乙型腦炎病毒。

## 討 論

1. 季節對昆蟲體內病毒的發育有很大影響，在 7 月份氣溫，溫度俱高，蠓蠓繁殖發育俱佳，分離病毒實驗僅作兩批，即有一批分離出病毒得陽性結果，8 月份內雨水充足，氣溫下降，蠓蠓數量減少，病人亦少，陽性率即降至零；這可以看出季節變動，氣候涼爽，對蠓蠓體內病毒發育關係很密切，蠓蠓的密度據調查研究結果，每年皆在 6 月中出現，7 月最高峯，8 月中旬以後漸次下降。該流行區出現病人的時間亦在 6 月份內，7 月份病人最多，8 月份以後病人數目漸次下降，7 月份與 8 月份該區病人人數的比例為 1.5:1，其他兩區由蠓蠓體內未分離出病毒，但亦不能否認蠓蠓不帶病毒，因檢查時間係在 8 月中旬。

2. *Lasiohelea taiwana* Shiraki 能吸人畜血，所以此種糠蚊的帶毒是有三種可能性：

(甲) 直接由病人吸血時，病毒傳染至該糠蚊體內繼續生存。

(乙) 由於吸食帶毒的家畜時傳染到此種病毒，此種糠蚊能由牛、水牛、馬、驢、騾、山羊、羚羊、鷄等動物刺咬吸血，流行腦炎地區家畜多為乙型腦炎病毒宿主，所以台灣蠓蠓由家畜傳染到腦炎病毒的機會甚多。

(丙) 病毒由前代蚊體從卵傳至下一代，此種可能性亦有可能，但此次分離病毒的蠓蠓俱係成蟲研磨接種；所以不敢肯定有無可能性，很多昆蟲對病毒有傳染機會但病毒在該昆蟲體內不能發育或短期死亡或無傳染人體的能力，台灣蠓蠓對於乙型腦炎病毒的傳染係屬那一種類型尚須深入研究。

3. 台灣蠓蠓分離病毒係由專人擔任，工作雖在鄉間條件極差的情況下亦與病人分離病毒工作分別間隔不同時同地工作，動物飼養亦有嚴格的防蚊設備，且不用盲傳分離，發病的潛伏期正常症狀典型，故不至發生意外實驗室傳染。

4. 糠蚊傳染乙型腦炎文獻上尚無此項報告，台灣蠓蠓在當地繁殖力強，數量極多，且因體小吸血性強，故當地居民極難避免不被刺螫，所以傳染病毒機會比蚊類更多，對於乙型腦炎的流行可能關係很大的，究竟如何當然尚須進一步調查來證明。

5. 由蠓蠓所分離出的病毒以血清學研究其抗原性，可以見到與該區病人體內所分離的病毒補體結合滴度最高，親緣關係最密切，亦可證明蠓蠓傳染在該地區對乙型腦炎流行係一個應當注意的環節。

## 總 結

1. 在福建一個有流行性乙型腦炎的鄉村中，台灣蠓蟻在 7、8 月間極為常見，而且喜吸人血。在 7 月下旬從野外採得的台灣蠓蟻中分離出日本乙型腦炎病毒一株。
2. 由蠓蟻所分離出的病毒用血清學方法試驗證明與該地區病人體內所分離的病毒親緣關係最密切。
3. 台灣蠓蟻在鄉村極為常見，喜吸人血，出現季節與日本乙型腦炎的流行季節相同，因此這種吸血昆蟲對流行性乙型腦炎的傳播上可能具有一定的意義。

## 參 考 文 獻

- [1] Hammon, W. M., *Am. J. Trop. Med.*, 28: 515—525, 1948.
- [2] Hammon, W. M., Reeves, W. C., Cunha, R., Espana, C., and Sather, G., *Science*, 107: 92—93, 1948.

# ISOLATION OF VIRUS OF B TYPE ENCEPHALITIS FROM *LASIOHELEA TAIWANA* SHIRAKI— A BLOOD SUCKING MIDGE

WU CHIAO-JU and WU SHU-YIN  
*Fukien Central Diagnostic Laboratory*

(ABSTRACT)

*Lasiohelea taiwana* has been thought by the local inhabitants to be responsible for the transmission of virus of B type encephalitis to the human beings. In 1955, during the epidemic period of this infectious disease, the authors have tried to isolate virus from these insects.

As these insects are too small to be caught by ordinary method the authors used human body as a bait. As soon as the insects settled on the skin of the authors they were caught immediately. The specimens were brought to the laboratory alive in test tubes. Since these insects do not live long in captivity, no attempt was made to feed them artificially. Hence they were used immediately for inoculation. The procedure used for inoculating animals with the suspension of this insect is the same as that with mosquito specimens.

Seven hundreds sixty three adults of *Lasiohelea taiwana* were caught from July to August. Only the specimens caught in July, i. e. at the highest peak of the epidemic, gave positive result. One strain of virus was successfully isolated, and the virus by means of serological and biological methods was identified to be virus of B type encephalitis.