

# 福建省傳播流行性乙型腦炎的蚊類\*

吳皎如 吳樹吟

(福建省中心檢驗室)

福建省數年來雖然已證明有流行性乙型腦炎的存在，並陸續由病人腦組織及血液中分離出三十餘株乙型腦炎病毒；但傳播乙型腦炎病毒的媒介體尚未發現；所以1955年在福建某地即從事此項研究工作。蚊類傳播乙型腦炎的事實係由日本三田村氏、蘇聯 Petrisheva 和 Shubladze<sup>[3]</sup>，及我國黃禎祥、鄭雲凱等氏<sup>[1,2]</sup>相繼在淡色庫蚊、三帶喙庫蚊，東鄉伊蚊等分離出病毒予以證明。我們研究某地乙型腦炎媒介體亦首先注意蚊類的帶毒情況。某地氣候類型屬於亞熱帶，蚊種極多。據初步調查計有伊蚊3種，庫蚊16種，按蚊11種，阿蚊2種，曼蚊1種，*Harpagomyia* 屬一種。種類很多，不能全部蚊類俱做病毒分離工作，僅能先選擇數種蚊類。根據各項文獻記載僅有數種蚊類已證實能傳播乙型腦炎病毒，故此次我們分離病毒工作亦就許多蚊種中選擇下列數種蚊種作病毒分離的材料；伊蚊屬為白紋伊蚊；庫蚊屬為乏倦庫蚊、三帶喙庫蚊、二帶喙庫蚊、中華庫蚊；按蚊屬為中華按蚊；阿蚊屬為騷擾阿蚊，計7種蚊類，初步工作僅限於此7種蚊類當然不能全面，茲將分離病毒經過和結果報告如下：

## 材 料 和 方 法

捕集蚊類方法 捕集蚊類方法計分兩種：

1. 直接捕捉成蚊後每日上下午組織人員赴疫區各村的牛舍住宅搜捕成蚊，每次在一地點捕捉1、2小時，用捕蚊管吸收；蚊類吸入數隻後即放入蚊籠內，捕集成蚊後將蚊籠就地飼養，飼以葡萄糖液或蜜水；因就地飼養可以避免運送時震盪以減少死亡率；並可使蚊類適當地氣候情況不必施以人工調節，節省許多人力。

2. 收集幼蟲攜回實驗室內養育至羽化成蚊，再將成蚊在27—31°C室溫，70—80%濕度的情況養育3—7天，每日飼以葡萄糖或蜜水，使初羽化的成蚊體內病毒能在適宜溫度內繼續發育。

\* 1956年9月14日收到。

## 病毒分離試驗及結果

由各地捕捉的成蚊為已吸血即在蚊籠中飼養 7 日以上，每日飼以葡萄糖水或蜜水直至胃內血液消化，始取出作病毒分離試驗。羽化的成蚊亦在蚊籠中飼養數日照前法飼養。作病毒分離時將成蚊吸入管中，每管 15--30 個放於冷凍冰箱中使成蚊凍死；然後取出加適量乙醚殺滅蚊體外面雜菌，約 5 分鐘後，再以消毒冰凍的生理食鹽水洗滌兩次，然後置於小乳鉢中研磨，每隻蚊子加 0.2 毫升的冰凍 pH 8.0 牛肉湯製成懸液。按懸液的容量每毫升加青黴素一千單位和鏈黴素一千微克，再放冰凍箱中 4 小時（約 -15--20°C）始取出，以每分鐘四千轉離心 10 分鐘，吸出上清液，以一部分接種血液瓊脂斜面培養基和普通牛肉湯瓊脂斜面培養基，在 37°C 恆溫箱中孵育，觀察有無雜菌，再吸上清液注射 10 天以內的乳鼠腦內，每隻乳鼠注射劑量為 0.02 毫升，乳鼠接種後與母鼠放在一處飼養於嚴密防蚊設備的玻璃缸中，觀察 21 天，3 天以後，如乳鼠發現有中樞神經症狀，即殺死之，以無菌手術取出鼠腦，在小乳鉢中研碎，加肉湯稀釋為 10% 懸液，再注射於另數隻乳鼠腦內，如潛伏期縮短，症狀典型，則傳代三代以後可將鼠腦取出用哥羅仿浸漬法製成抗原，與免疫血清作補體結合試驗。有一部分成蚊懸液接種於 7—8 天雞胚胎卵黃囊內，在 37°C 恆溫箱中孵育 24 小時，然後取出雞胚胎和卵黃囊後再研磨成 10% 懸液在卵黃囊傳代第二代，然後將第二代雞胚和卵黃囊研磨成 10% 懸液無菌試驗後接種乳鼠腦內。

自 1955 年 3 月至 8 月底約 6 個月的時間，我們在某地的固定住宅，牛舍，捕捉蚊類成蚊和由幼蟲羽化的成蚊共計 12,095 隻，進行了 463 批試驗，分離病毒方法係採取接種乳鼠腦內和雞胚胎卵黃囊的分離方法。在 463 批試驗中，由一批乏倦庫蚊中分離出一株病毒，由 7 批伊蚊（白紋伊蚊）中分離出 7 株乙型腦炎病毒，分離方法係用乳鼠腦

表 1 由自然捕捉的成蚊和由幼蟲羽化的成蚊分離病毒的结果

蚊 名	三月份		四月份		五月份		六月份		七月份		八月份		總 計		分離病毒的 陽性 批數
	批數	成蚊 數量	批數	成蚊 數量	批數	成蚊 數量	批數	成蚊 數量	批數	成蚊 數量	批數	成蚊 數量	批數	成蚊 數量	
乏倦庫蚊	42	2082	30	2111	40	1092	82	1571	61	994	1	26	256	7876	1
三帶喙庫蚊	14	288	3	51	11	261	56	1129	10	139	7	110	95	1978	—
二帶喙庫蚊	1	9	—	—	—	—	3	65	5	55	1	21	10	150	—
中華庫蚊	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	26	1	26	—
中華按蚊	7	135	7	439	5	100	—	—	1	8	—	—	20	682	—
騾擾阿蚊	1	6	—	—	2	22	1	6	5	70	—	—	9	104	—
白紋伊蚊	—	—	5	169	6	137	—	—	56	873	5	100	72	1279	7
共 計	65	2520	45	2770	64	1612	136	2771	138	2139	15	283	463	12095	8

內接種法。雞胚胎卵黃囊接種法未分離出病毒；但此法係在流行季節以前應用。

由自然界捕獲的蚊類成蟲分離病毒結果：在兩個地區捕捉蚊類作病毒分離試驗，共計捕獲成蚊 12,095 隻，包括 7 種蚊類，即乏倦庫蚊，三帶喙庫蚊，二帶喙庫蚊，中華庫蚊，中華按蚊，騷擾阿蚊和白紋伊蚊。在一個地區我們僅捕捉兩種蚊類即乏倦庫蚊和白紋伊蚊，而另一地區我們捕獲到五種蚊類，共進行 463 批病毒分離試驗，其中一批乏倦庫蚊計 20 隻分離出一株乙型腦炎病毒。在捕獲蚊類總數內乏倦庫蚊在 5 月份有 1,092 隻，分 40 批進行病毒分離。分離出病毒的一批庫蚊係在室內捕獲的，在 1955 年 5 月 16 日進行研磨並注射 10 日的小白鼠 5 隻，研磨前曾作昆蟲學鑑定，並檢查蚊胃並無血液，第一隻小白鼠於注射後第 5 天發病，中樞神經症狀明顯典型，有抽搐、後腳麻痺、昏厥、蜷曲、爬行蹣跚，立即解剖傳代，注射小白鼠 3 隻，第 2 代小白鼠 3 天後相繼發病，症狀亦極典型，傳代至第 4 代，潛伏期為 3 天，原注射小白鼠第 2 隻於第 6 日發病，第 3 隻於第 7 天發病，第 4、5 隻於第 8 天發病，將鼠腦用哥羅仿浸漬法製成抗原稀釋 (1:8) 與免疫血清 (1:4) 作補體結合反應，結果陽性++++，與中山株免疫血清作中和試驗，中和指數為 2,000 以上，以 Seitz 氏濾器過濾後，濾液注射小白鼠腦腔內，經 3 天小白鼠發病死亡，本病毒毒株鑑定結果為流行性乙型腦炎。

第 2 至第 8 株乙型腦炎病毒毒株分離及鑑定結果：在 7 月份乙型腦炎流行最高峯時間，我們在另一個地區開始捕捉蚊類作病毒分離試驗，共捕獲蚊類 2,139 隻，包括乏倦庫蚊，三帶喙庫蚊，二帶喙庫蚊，中華按蚊，騷擾阿蚊及白紋伊蚊，其中以乏倦庫蚊及白紋伊蚊為最多，各蚊類分成 138 批研磨作病毒分離試驗，結果由 7 批白紋伊蚊中分離出 7 株乙型腦炎病毒毒株，該批伊蚊係在 7 月 20 至 27 日，在乙型腦炎病人住宅附近破碎破片積水內撈獲的白紋伊蚊幼蟲羽化出的成蚊，經在暗室溫度 27—31°C 養育 4—11 天，然後取出研磨注射小白鼠的腦內（係用 8 天乳鼠），這 7 批白紋伊蚊係由三個流行地點收集的幼蟲羽化出來。這三個流行地點俱有很多病人；由一個流行地點白紋伊蚊幼蟲羽化的成蚊中（共計 160 隻分 4 批）分離出 4 株病毒，由另一個流行地點的幼蟲羽化成蚊中（共計 60 隻）分離出 2 株病毒，尚有一個流行地點的羽化成蚊（共 24 個）分離出一株病毒，各批白紋伊蚊，注射乳鼠腦內後，皆在 4—7 日內發病，症狀典型，第 1 代發病率為 66—100%，第 5 代以後取出鼠腦以哥羅仿浸漬法製成抗原，與免疫血清作補體結合反應，結果陽性++++，其中 2 株與中山株免疫血清作中和反應，中和指數為 1,000，濾過試驗亦證明為濾過性病毒，因此由白紋伊蚊分離出的病毒鑑定為流行性乙型腦炎病毒。

## 討 論

1955年我們對流行性乙型腦炎的媒介體研究工作的目的，是要瞭解自然成蚊帶乙型腦炎病毒的種屬和在不同季節中病毒的發育情況，並對蚊類為乙型腦炎病毒長期宿主問題亦作初步研究，我們在3—4月時間，分離越冬蚊類體內病毒；至6月作為分離流行前期蚊體內的病毒，7月和8月上、中旬作為流行高峯時間蚊體內病毒分離時期，8月下旬以後為流行後期蚊體分離病毒時間。在3—4月我們捕獲了3,530隻各種成蚊作病毒分離，其中有數批乏倦庫蚊，三帶喙庫蚊及二帶喙庫蚊，研磨接種乳鼠腦內後，第1代乳鼠有不大典型症狀的發病狀況，如後腳麻痺、後腳癱瘓、聳毛、蜷曲、昏厥等，有2批且有抽搐，但解剖傳代至第2代小白鼠即不發病，二帶喙庫蚊一批9隻，研磨注射乳鼠3隻腦內後，經過11日潛伏期有2乳鼠相繼發病死亡，因在夜間死亡故不及解剖傳代，第3隻乳鼠在28天發現典型的抽搐和後腳麻痺，但傳代至第2代乳鼠不發病。三帶喙庫蚊有一批發病症狀更典型，潛伏期為5天，但傳至第2代亦不發病，此時氣溫不及20°C，我們的育蚊室氣溫調節不佳，沒有升至22°C以上，是否因溫度過低，病毒發育不佳，故病毒致病力不強，不能適應小白鼠腦組織內的生活，尚須作進一步的研究。5—6月份病毒分離情況，與3—4月份相同，小白鼠第一代有數批發病，但傳至第2、3代相繼死亡，僅在另一地區在乏倦庫蚊一批中分離出一株病毒，伊蚊在4—6月內作病毒分離試驗，俱無與上述各蚊種相類似的發病情況，由4—6月，該地區有散在性的乙型腦炎病例發現，7月中旬起至8月上旬，該地區乙型腦炎病例最多，可說是流行最高峯，且病勢兇猛，死亡率很高，有不少暴發型病例，在此時期伊蚊（白紋伊蚊）密度最高，其他蚊種密度相繼下降，蚊體分離病毒試驗，白紋伊蚊研磨接種小白鼠腦內後，發病過程和症狀俱極典型，沒有似3—6月小白鼠第1代發病，第2代以後即不發病的情況，其他蚊種接種小白鼠後，俱為陰性。根據上述情況，我們可以肯定白紋伊蚊為該地區主要傳染乙型腦炎的媒介體，其他蚊種是否為媒介體，尚須再進一步研究。

此次伊蚊分離病毒的材料，俱是由幼蟲羽化出來的成蚊。由於此試驗分離出7株病毒，可以證實乙型腦炎病毒，可以通過蚊卵傳至下一代成蚊；即是說病毒可以在白紋伊蚊體內寄生成為長期宿主，但是白紋伊蚊的幼蟲的帶毒可能有兩種情況：

1. 幼蟲所攜帶的病毒，可能係由前代白紋伊蚊吸取人或動物宿主的有毒血液，該病毒即暫時在白紋伊蚊體內發育，經卵傳至下一代，能否再繼續由蚊體保存發育生長，再傳至下一代，尚須實驗證明。

2. 幼蟲的病毒可能係由前數代白紋伊蚊相繼保存此病毒，經卵傳至下一代，不斷

地在白紋伊蚊體內生存循環，成爲乙型腦炎自然傳染源，據實驗有人證明病毒可以在蚊體保存 1、2 代以後即死亡，所以解決上述的問題，必須再作養育白紋伊蚊數代以證明之。

流行性乙型腦炎病毒在不同蚊種內發育是否有不同的致病力，這值得我們研究。本年度兩個地區俱有乙型腦炎流行，但兩個地區的死亡率大不相同，一個地區數年來乙型腦炎流行時死亡率非常高，爲 25—58%，暴發型多；另一地區歷年的死亡率皆爲 6—12%，死亡率高的地區我們由白紋伊蚊體內分離出乙型腦炎病毒，死亡率低的地區我們由乏倦庫蚊體內分離出病毒，兩個地區流行性乙型腦炎媒介體不同，死亡率亦大不相同，由生物學特性觀察，乏倦庫蚊的病毒在小白鼠體內第 1 代潛伏期較長，50% 致死量較低，中和指數亦大於伊蚊的中和指數。對於各標準毒株的補體結合反應抗原性亦不同。是否在不同蚊體內乙型腦炎病毒發育亦不同，這亦須作更進一步的研究。

乏倦庫蚊是兩個地區最常見的蚊種，在一地區乏倦庫蚊作病毒分離僅做三批，就分離出一株病毒，而在另一地區，作了 253 批沒有分離出一株病毒，方法相同，季節亦相同，所用動物亦在同一環境下飼養，而做出結果大不相同，因此我們想到可能兩地區的腦炎病毒的生物學特性不同，所以生活條件亦不同。此種假設我們計劃作人工感染法以證明之。

## 總 結

1. 在兩個地區各由自然界蚊類中分離出乙型腦炎病毒，在一個地區由乏倦庫蚊分離一株病毒，在另一地區由白紋伊蚊分離出 7 株病毒，各株病毒皆經血清免疫學鑑定爲流行性乙型腦炎病毒。
2. 在流行高峯時間，乙型腦炎病毒容易由蚊體分離出，由越冬初期的蚊體不易分離出病毒。
3. 不同蚊種對腦炎病毒致病力的發育有影響，由地區的死亡率和毒株的致病力可觀察到此種差異。
4. 由白紋伊蚊幼蟲所孵化的白紋伊蚊成蚊分離出 7 株乙型腦炎病毒，這說明病毒可以經卵傳代，白紋伊蚊可能爲乙型腦炎病毒的長期宿主。

## 參 考 文 獻

- [1] 黃禎祥、馮蘭洲、任廣宏、王潛淵, 中華醫學雜誌, 37:300—304, 1951.  
 [2] 王逸民、鄭雲凱、黃禎祥, 中華醫學雜誌, 38:1038—1042, 1952.  
 [3] Petrischeva, P. A., Shubladze, A. K., *Arch., Sci., Biol.*, 59: 72, 1940.  
 [4] 三田村篤志郎、森和雄、北岡正見、天神智, 東京醫學新誌, 62:812, 1938.

## THE SPECIES OF MOSQUITOES TRANSMITTING JAPANESE B TYPE ENCEPHALITIS IN FUKIEN

WU CHIAO-JU and WU SHU-YIN

*Fukien Central Diagnostic Laboratory*

(ABSTRACT)

Among the species of mosquitoes present in the epidemic area, five were selected for studying their capacity of transmitting virus of B type encephalitis. Mosquitoes adult were used for isolation work. They were either collected as adult mosquitoes from human dwellings and cow sheds, or bred out from larvae collected from breeding grounds. The method adopted for virus isolation is the same as used by others. As a results eight strains of virus were successfully isolated; one from adults of *Culex fatigans* caught in dwellings of local inhabitants, seven from adults of *Aedes albopictus* bred out from larvae taken in water collections around the patients' houses.

The results presented in this paper support the idea that the virus can be carried to the next generation by the adult through transovarian transmission. The fact that the dosage of LD<sub>50</sub> of virus from *Culex fatigans* is smaller than that from *Aedes albopictus*, and that the morbidity and mortality in the area with *Culex fatigans* as vectors is lower than those in the area with *Aedes albopictus*, show the intimate relationship between the species of vectors and epidemiological conditions.

The relative high positive findings of virus isolation from the mosquitoes only in summer season with higher temperature supports the view that temperature is highly significant for the development of virus in mosquitoes.