

## 高雄市鼓山區野生臺灣獼猴棲息地 蚊類感染登革熱病毒之研究

### 摘 要

在台灣獼猴出沒之高維市鼓山區之北壽山，自民國 81 年 4 月至 82 年 6 月，每月一次在該地區以掃網，人餌誘捕，誘紋產卵器誘捕成蚊、幼蟲及卵，進行登革熱病毒之分離。所採蚊種在實驗室至少再養 7 天，而後磨碎，投入白線斑蚊細胞 c6 / 36 在 32°C 下培養 7 天，同時亦注射於安邦巨蚊胸腔，在 28 ± 1 °C 下再培養 14 天後，以螢光抗體檢查有否病毒之存在。總共處理 77 件，含 2670 雙雌蚊，915 雙雄蚊，歸屬於 4 屬，10 蚊種。結果皆為陰性，顯示雖然高雄市曾經多次發生登革熱之流行，但迄今仍未將病毒蔓延到距離市區 1 公里之山區中。

### 一、前 言

在台灣，登革熱因近幾年幾次流行而受到重視，其傳播途徑就本地而言，是經由埃及斑蚊(*Aedes aegypti*)或白線斑蚊(*Aedes albopictus*)叮咬登革熱患者，獲得病毒，再叮咬健康者而獲致感染。然而登革熱病毒的自然宿主除人類及斑蚊外，尚有低等靈長類(黑猩猩、長臂猿、獼猴)，Simmons et al 首先證實登革熱病毒可經由猴子傳播給猴子或經由猴子傳播給人<sup>(1)</sup>，1965 年發現馬來西亞森林區的猴類帶有登革熱病毒抗體<sup>(2)</sup>，而後又在森林區捕獲之雪白斑蚊種團 *Aedes*(*Finlaya*)*niveus* complex 分離到第四型登革熱病毒<sup>(3)</sup>，另外自非洲森林區捕獲之 *Aedes*(*Diceromyia*)*taylori* 雌蚊分離到第二型登革熱病毒，而 Yuwono et al 於馬來西亞、越南、高棉、印尼及菲律賓森林區獼猴中發現四型登革熱

病毒抗體<sup>(4)</sup>，這些數據不禁令人懷疑臺灣地區的猴類是否亦感染登革熱病毒。臺灣於日據時代，1915, 1931, 1942 年有 3 次登革熱大流行。但是在第二次世界大戰之後，約有 40 年不曾有登革熱，一直到 1981 年，屏東縣離島的小琉球有一次登革熱第二型的流行<sup>(5,6)</sup>，而臺灣本島一直到 1987 年，在屏東縣的東港和高雄市有一次小流行，報告病例有 1387 人，病毒分離以第一型為主，另有五個第二型，到了 1988 年，在南臺灣形成大流行<sup>(7,8)</sup>，當時報告病例有 10420 人，病毒分離，絕大部分是第一型<sup>(9,10)</sup>，1991 年高雄市三民區發生小流行，報告病例 431 人，病毒分離亦以第一型為主。基於猴子亦為登革熱病毒之自然宿主，上述這些登革熱流行是否會將病毒帶入森林區之猴群，或某些流行始因於猴至蚊至人之循環，為值得探討之課題。

雖然台灣地區臺灣獼猴盛群已非往日盛況，但高雄市鼓山區之北壽山仍有不少猴群棲息，以高雄市每日約有兩千人在此處活動，極有可能將病毒帶進林區，因此野生台灣獼猴棲息地是否有登革熱流行之跡象，實有探討之必要。

## 二、材料與方法

### 蚊蟲採集

選定高雄市鼓山區之北壽山每月定期採集一次，採集時以人餌誘捕來襲斑蚊或以掃蟲網掃捕，捕獲之成蚊飼養於紙杯中，在  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  下，至少飼養 7 天，以便使其消化飽食之血液，另於不同地點放置 10 個誘蚊產卵器，誘蚊產卵器為黑色塑膠材質，高 17 公分，直徑 12.5 公分，圓桶狀附有一蓋，蓋上有一直徑 4 公分洞，便於讓蚊蟲飛入，桶之內壁置放一張  $11.5 \times 40$  公分的不織布，在桶中盛水半滿，讓不織布部份侵入水中，使蚊蟲得以產卵。每月收集桶內蚊卵，幼蟲及蛹，在實驗室中飼養到成蚊後，再磨碎分離病毒。

### 病毒之分離及檢查

- 1.分類：將蚊蟲連同紙杯置入冷凍庫擊昏 2 至 3 分鐘，將昏倒的成蚊置於冰枕上瀘紙，在立體顯微鏡下分類，同種同性置入同支玻璃瓶內，每支不得超出 100 隻，正確記錄種名、性別、數量並編號，迅速處理後，置入  $-70^\circ\text{C}$  低溫冷凍櫃，等候病毒分離。
- 2.研磨：每批成蚊放入組織研磨器(tissue grinder)中，加入 1 ml 之 0.8 % BSA HANK'S MEN media，研磨之後以 10,000rpm 離心 1 分鐘，將上清液分裝，迅速冷凍，儲存於  $-70^\circ\text{C}$  以下低溫中。

3. 接種：以 Rosen and Gubler 的方法以微細管將研磨上清液打進安邦巨蚊 (*Toxorhynchites amboinensis*) 胸側氣孔下區溝縫<sup>(11)</sup>，每隻接受注射量為  $0.51 \mu$ ，每批注射 3—5 隻，置於紙杯內在  $28-32^{\circ}\text{C}$  飼養 14 天。
4. 培養：使用蚊細胞株 C6/36，以 HANK'S MEM media + 5% 胎牛血清調整細胞濃度為  $1.0 \times 10^6$  cells/ml，研磨上清液以  $0.45 \mu$  過濾器過濾後，用 0.8% 之 BSA HANK'S MEM media 作 10 倍到 50 倍稀釋，在組織培養盤每格中加入稀釋研磨上清液  $50 \mu$  及  $100 \mu$  細胞，密封後在  $32^{\circ}\text{C}$  恆溫箱中培養 7 天。
- (5) 檢查：取下巨蚊頭部，置於玻片上，5 個排開，另以一玻片夾好，抽開，以間接螢光抗體方法檢查<sup>(12)</sup>，細胞培養部份取  $20 \mu$  PBS 沖洗刮下 40 倍及 80 倍稀釋格中之細胞，在玻璃片上抹片，作間接螢光抗體染色，使用抗體為，Group antibody to Dengue: ATCC HB-112, FITC goat anti-mouse IgG(H+L) Zymed 62-6511.

### 三、結 果

自民國 81 年 4 月至 82 年 6 月，採自高雄市鼓山區北壽山之誘蚊產卵器及天然棲息處，共獲得 4018 雙蚊幼蟲，歸屬於 4 屬，13 蚊種(表一)，其中以白線斑蚊為主，數量佔 94%，採獲之高峰期分別為 5、6 月及 10、11 月兩個高峰。誘集之其他種類依數量之多寡分別為偽白線斑蚊(*Aedes pseudalbopictus*)、白點斑蚊(*Aedes albolineatus*)、灰胸家蚊(*Culex pallidothorax*)、側白斑蚊(*Aedes albopictus*)、蛛形翠蚊(*Tripteroides arandoides*)、竹生翠蚊(*Tripteroides bambusa*)、海氏家蚊(*Culex halifaxi*)、雙角家蚊(*Culex bicornutus*)、短鬚家蚊(*Culex brevipalpis*)、安氏斑蚊(*Aedes annandalei*)、台灣黑蚊(*Heilmannella taiwanensis*)、馬氏斑蚊(*Aedes malikuli*)。以人餌誘捕及掃網共獲得 88 雙雌蚊，42 隻雄蚊，歸屬於 3 屬，4 蚊種，也是以白線斑蚊為主，佔總數之 98%，且每一月均能捕捉到，捕捉之數亮與月份間並無相關，另也於不間之月份捕捉到帶紋斑蚊(*Aedes desmotes*)、灰胸家蚊(*Culex pallidothorax*)、白腹叢蚊(*Armligera subalbatus*)各一隻。以上採集之各種蚊蟲經病毒分離，共處理 77 件(pools)，計 2670 雙雌蚊，915 隻雄蚊，歸屬於 4 屬，10 蚊種，結果病毒分離均為陰性。

### 四、討 論

本省與人類接觸最密切之斑蚊種類為埃及斑蚊與白線斑蚊。埃及斑蚊 1987 - 1990 年南部大流行時，已由捕獲之成蚊體內分離到登革熱病毒，證實為本省登革熱傳播之病媒蚊。而白線斑蚊卻一直未分離到登革熱病毒，但有許多學者如 Rosen 1955、Foliart 1986 均認為白線斑蚊是登革熱傳播之重要病媒蚊<sup>(13)</sup>。Rosen 1983 更證實四型登革熱病毒均能藉由白線斑蚊垂直傳播給下一代<sup>(14)</sup>；Chen 等 1993 也發表本省高雄地區產之白線斑蚊確實具傳播第一型登革熱病毒之能力，傳播率為 3 %<sup>(15)</sup>。白線斑蚊在本省之分佈較埃及斑蚊廣；大部份地區密度高於埃及斑蚊。以往雖未從流行地區之成蚊分離到病毒，但仍為不可忽視之登革熱病媒蚊之一。

本研究自高雄壽山地區採到之蚊種以白線斑蚊為主，佔 94 %，因埃及斑蚊為家居型蚊種，因此在該山區均未採集到；經注射安邦巨蚊(*Toxorhynchites amboinensis*)及 C6 / 36 細胞株兩方法增殖病毒，再行檢驗成蚊 130 隻、幼蟲 3455 隻，結果均為陰性，由於檢驗之族群數量太小，不宜定論該地區確無登革熱病毒存於蚊類與猴類間循環。未來仍應增加蚊種採集數量，並就檢驗技術，如增加細胞株繼代以繁殖更多病毒，來證實該地抓有無潛伏之登革熱病毒存在。

### 參考文獻

1. Simmons JS, Jobn JH, Reynolds FHK et al, Experimental Studies of dengue . Philipp J Sci 1931 ; 44 : 1 - 247 .
2. Rudnick A . Studies of the ecology of dengue in Malaysia : A preliminary report . J Med Entomol 1965 ; 2(2): 203 - 208 .
3. Rudnick A , Ecology of dengue virus . Asian J Infec Dis 1978 ; 2 : 156 - 160 .
4. Yuwono J, Suharyono W, Koiman I et al . Serocpidmiological survey on dengue and Japanese encephaliti , virus infection in Asian monkeys . Southeast Asian J Trop Med Public Health 1984 ; 15 : 194 - 200 .
5. 謝維銓，陳明臘，林桂堂等：1981 年在屏東縣琉球鄉流行的登革熱之研究。臺灣醫誌 1982 ; 81 : 1388 - 395 .
6. 吳盈昌：1981 年屏東縣琉球鄉之第二型登革熱流行。中華微免雜誌 1986 : 19 : 203 - 211 .

- 7.葛應欽：登革熱流行病學——登革熱在臺灣的流行。高雄醫誌 1989；5：1 - 11。
- 8.翰明榮：1987 年至 1988 年高雄地區流行的登革熱之臨床研究。高雄醫誌 1989；5：58 - 650
- 9.Wu YC, Yueh IY, Lin TL et al. Laboratory diagnosis of dengue fever in Taiwan. Symposium on dengue fever, 1989, February 25 - 26, Taipei. Taiwan: Department of Health, Executive Yuan, 1989; 19 - 20.
- 10.Chuang CH. Dengue epidemics in Taiwan, 1981 - 1990. World Health organization Dengue Newsletter. 1991; 16: 31.
- 11.Rosen L, Gubler DJ. The use of Mosquitoes to detect and propagate dengue viruses. Am J Trop Med Hyg. 1974; 23: 1153 - 1160.
- 12.Kuberski TT, Rosen L. A simple technique for the detection of dengue antigen in mosquitoes by immunofluorescence. Am J Trop Med Hyg 1977; 26: 533 - 537.
- 13.Rosen L, Roseboom E, Gubler DJ et al. Comparative susceptibility of mosquito species and strains to oral and parenteral infection with dengue viruses and Japanese encephalitis B virus Am J Trop Med Hyg 1989; 34: 603 - 614.
- 14.Rosen L, Shroyer DA, Tesh RB et al. Transovarial transmission of dengue viruses by mosquitoes: Aedes albopictus and Aedes aegypti. Am J Trop Med Hyg 1983; 32: 1108 - 1109.
- 15.Chen WJ, Wei HL, Klsu EL et al. Vector competence of Aedes albopictus and Aedes aegypti(Diptera: Culicidae)to dengue 1 virus on Taiwan: development of the virus in orally and parenterally infected mosquitos. J Med Entomol 1993; 30(3): 524 - 530.

**撰稿者：**林鼎翔 呂良振 徐明輝 林巧 王錫杰(行政院衛生署預防醫學研究所  
病媒昆蟲組)

**勸誤表：**《 第九卷第十期》

更正頁次	錯 誤	更 正
216頁	* 本期確定病例累計	* 本年確定病例累計
217頁	* 本期確定病例累計	* 本年確定病例累計
218頁	* 本期確定病例累計	* 本年確定病例累計
219頁	* 本期確定病例累計	* 本年確定病例累計
221頁	自8月20日至10月2日	自8月29日至10月2日

