

計畫編號: MOHW112-CDC-C-315-000109

衛生福利部疾病管制署 112 年署內科技研究計畫

計畫名稱：臺灣主要蚊及蜚媒監測調查與特性分析

## 全 程 研 究 報 告

執行機構：檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：陳秀玲

協同主持人：

研究人員：鍾瀚璿、江百善、陳虹瑞、蔡奕戎、蔡韋純

執行期間：112 年 1 月 1 日至 112 年 12 月 31 日

研究經費：新臺幣 142 萬 5000 元整

\*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應  
事先徵求本署同意\*

## 目錄

目	次
壹、摘要	
一、中文摘要.....	(3-4)
二、英文摘要.....	(5-6)
貳、本文	
一、前言（包括研究問題之背景與現況、文獻探討等） ...	(7-13)
二、計畫目標.....	(13)
三、重要工作項目及實施辦法（含材料與方法） .....	(13-18)
四、結果與討論.....	(18-21)
五、結論與建議.....	(22-23)
六、參考文獻.....	(24-28)
七、圖表.....	(29-40)
參、經費支用情形.....	(41)

## 壹、摘要

### 一、中文摘要

本計畫之宗旨為瞭解鄰國地方病會否發展為國內新興病媒傳染病之風險，以及評估病媒傳染病擴散之可能性，作為病媒傳染病防治工作及其決策訂定之依據。本計畫包括二個子計畫：(一)蚊蟲殺蟲劑抗藥性監測與風險評估與(二)台灣高風險區之蜚蟲調查。根據疾管署的監測資料，野外埃及斑蚊有 6 種基因型與賽滅寧抗性相關，其中又以 S989P+V1016G+F1534C 異型合子為主，然而，各基因型所導致的抗藥程度為何值得探討。本研究持續監測野外埃及斑蚊的 *vgsc* 抗藥性基因型趨勢，其中最多數者為 PGVD/SVCD (43%)，已連續 3 季達為野外主要基因型，且有持續上升趨勢，其次為 PGFD/PGFD，占野外族群的 23%，第三者為 SVCD/SVCD (14%)，該基因型於 2018 年為野外的主要族群 (~31%)，然而本年度的監測顯示仍沒有採集到未含有 *vgsc* 突變位點的埃及斑蚊。本研究亦建立具 S989P+V1016G 同型合子 (PG<sub>homo</sub>) 和 F1534C 同型合子 (Ch<sub>omo</sub>) 的埃及斑蚊，並以 WHO 建議之方法進行生物性試驗，結果顯示，不帶有特定 *vgsc* 突變之埃及斑蚊暴露於 0.015% 及 0.0075% 第滅寧 1 小時的擊昏率及 24 小時死亡率均為 100%。然而，帶有 PGCheter 之埃及斑蚊在接觸相同濃度第滅寧下，1 小時的擊昏率分別顯著下降至 0% 及 2%，24 小時死亡率分別顯著下降至 14.1% 及 8.1%，而 PG<sub>homo</sub> 埃及斑蚊的擊昏率分別顯著下降至 5% 及 0%，24 小時死亡率分別顯著下降至 4% 及 3%，且此結果亦顯示 PG<sub>homo</sub> 較 PGCheter 對第滅寧有較高抗性。蜚蟲亦是蟲媒疾病之重要病媒，而在高風險區域之蜚蟲調查中，共採集得 2,459 隻野生蜚蟲，分屬微小扇頭蜚 (*Rhipicephalus microplus*) 1,774 隻、鑷型扇頭蜚 (*R. haemaphysaloides*) 3 隻、豪豬血

蜱 (*Haemaphysalis hystricis*)259 隻、褐黃血蜱 (*H. flava*)19 隻、日島血蜱 (*H. mageshimaensis*) 403 隻與細股花蜱 (*Amblyomma cordiferum*)1 隻。捕獲的蜱蟲樣進行發熱伴血小板減少綜合症(Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome, SFTS)與萊姆病(Lyme disease)之病原體檢測均呈陰性，但 356 蜱蟲樣本中的 12 份檢測出巴貝蟲屬 18S rRNA 基因片段 PCR 擴增呈陽性，感染率為 3.37% (12/356)，最低感染率為 0.74% (12/1,615)。在檢測到的 12 種巴貝蟲中，被鑑定為 *Babesia bigemina* (11 種)以及在 *H. hystricis* 中檢測到，一種未命名的新型巴貝蟲。

關鍵詞：病媒傳染病、監測、抗藥性基因、發熱伴血小板症低下候群、巴貝氏原蟲

## 二、英文摘要:

To understand the risk that endemic diseases in neighboring countries will develop into domestic emerging vector infectious and mosquito insecticide resistance monitoring and risk assessment in Taiwan, This project includes two sub-projects: (1) to continuously monitor the distribution of drug-resistant genotypes carried by *Aedes aegypti* and analyze the degree of resistance to local pesticides currently applied; (2) Investigation the distribution of ticks which as a vector carrying insect-borne diseases such as Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS), Lyme disease (Lyme disease) and *Babesia* Babesiosis and identification their pathogens in Taiwan. According to surveillance of Taiwan CDC, there are 6 genotypes associated with resistance, among which, S989P+V1016G+F1534C heterozygotes are the main genotype. We monitor the *vgsc* genotypes in *Ae. aegypti* in the field to understand its trend of resistance status. The predominant genotype is PGVD/SVCD (43%), which has been the main genotype in the field for three consecutive seasons and has a continuing upward trend. The following is PGFD/PGFD, which accounting for 23% of population. The third is SVCD/SVCD (14%), which was the main population in the field in 2018 (~31%). However, we did not detect the mutation-free genotype in *Ae. aegypti* in our sample. We further established *Ae. aegypti* strain with S989P+V1016G homozygotes (PGhomo) and F1534C homozygotes (Chomo) for biological tests according to WHO recommendation. The results showed that the 1-hour knock-down rate and 24-hour mortality of mosquito without carrying specific *vgsc* mutation were both 100% under exposure of 0.015% and 0.0075% deltamethrin. However, the knock-down rate of mosquitoes carrying PGCheter (0% and 2%) and PGhomo (5% and 0%) significantly dropped in the same condition of exposure. The mortality of both PGCheter

(14.1% and 8.1%) and PGhomo (4% and 3%) were also significantly decreased when compared to un-mutated control. These results also implied that PGhomo was more resistant to dimethrin than PGCheter. This study provided the resistance trend of field *Ae. aegypti* by monitoring the vgsc genotype. Because the information of resistance is helpful for adopting appropriate strategy for vector control, it is needed for long-term monitoring of the resistance status of field population. In addition, mosquitoes with PGVD/SVCD and PGFD/PGFD were insensitive to deltamethrin. It is recommended that the efficacy test and effectiveness evaluation should be conducted during vector programme. In addition, although the use of pesticide inevitably causes selection pressure on vector mosquitoes, using pesticides is needed to kill the virus-carrying mosquitoes in case of dengue cases reported. Therefore, in order to reduce selection pressure, environmental management and removal of breeding sources should still be advocated. In addition, in a survey of ticks in high-risk areas, a total of 2,459 wild ticks were collected, including 1,774 *Rhipicephalus microplus*, 3 *R. haemaphysaloides*, 403 *Haemaphysalis hystricis*, 19 *H. flava*, and 277 *H. mageshimaensis*. Testing for pathogens associated with Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) and Lyme disease yielded negative results for the captured tick samples. However, out of 356 tick samples, 12 tested positive for the *Babesia* genus's 18S rRNA gene fragment through PCR amplification, resulting in an infection rate of 3.37% (12/356) and a minimum infection rate of 0.74% (12/1,615). Among the 12 detected *Babesia* signals, 11 were identified as *Babesia bigemina*, and the other one, found in *H. hystricis*, was classified as an unnamed novel *Babesia* species.

keywords : insecticide resistance, vgsc mutant *Aedes aegypti*, SFTS, Lyme disease, Babesiosis, tick, vector-borne diseases

## 貳、本文

### 一、前言（包括研究問題之背景與現況、文獻探討等）

(一)、依傳染病防治法第四條及施行細則第四條及第七條規定中央主管機關訂定傳染病防治政策及計畫，內含病媒調查及為瞭解傳染病發生之狀況及原因所為之各種措施。登革病毒、茲卡病毒感染症、屈公病及發熱伴血小板減少綜合症皆屬於法定傳染病，依規定應於發現疑似病例二十四小時內通報。且為掌握個案，避免流行及疫情擴大蔓延，疾病管制署透過主動監測及醫師通報系統，加強監視及通報，力求於第一時間掌握疑似個案，以防止病毒藉由病媒蚊的傳播而蔓延，而另一方面就病媒調查，病媒環境調查亦提供國內傳染病防治參考之依據。

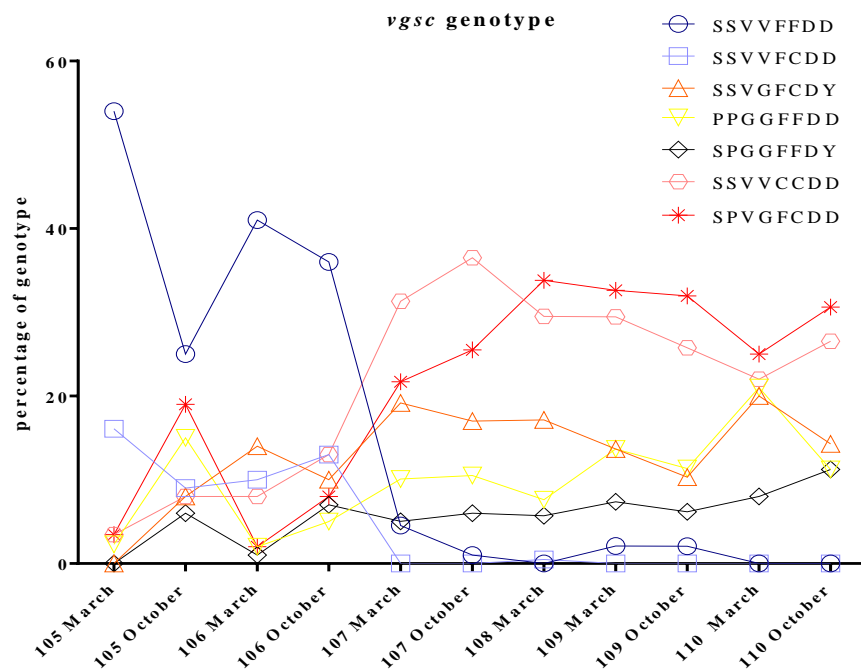
#### (二)、登革熱和傳播病媒

埃及斑蚊是登革病毒、茲卡病毒及屈公病毒的主要病媒，而登革熱為國內最主要的蚊媒傳染病，可造成輕微的類感冒症狀到嚴重的血漿滲漏、出血、器官損害，甚至死亡。在熱帶和亞熱帶地區，每年約有 5,000 萬人感染登革熱，造成嚴重的健康和經濟負擔 (Guzman et al., 2010)。在台灣，埃及斑蚊分佈於台灣南部的台南市、高雄市、屏東縣和台東縣及澎湖縣 (Lin et al., 2014)，根據本署資料顯示，過去二十年來，台灣每年都有登革熱發生，而 2015 年本土個案更達 43,419 例，其中，超過 98.5% 的病例發生在有埃及斑蚊分佈地區 (Chen, 2018)。然而，登革熱在台灣不被視為地方病，因為大多數登革熱發生於春末或初夏，由境外移入個案開始；隨後，病媒從受感染的人身上獲得病毒，並自感染之病媒蚊再傳播傳播而造本土流行 (Chang et al, 2012; Chang et al., 2016)。

#### (三)、利用化學防治病媒和抗藥性的產生

在沒有登革熱的特效藥及疫苗使用受到限制之下，病媒防治仍是

對抗登革熱的主要策略，各種控制病媒的方法被提出 (Achee et al., 2019)。其中，殺蟲劑能快速降低蚊子密度並殺死帶病毒的雌蚊以阻斷傳播。然而，反復接觸殺蟲劑會導致抗藥性產生，其中又以 *vgsc* 突變為主要抗藥性機制。在台灣，埃及斑蚊對不同種類的殺蟲劑產生抗藥性已在成蟲和幼蟲上觀察到 (Lin et al, 2012; Wu et al., 2014)。根據疾管署的監測資料，在野外埃及斑蚊中至少觀察到 16 種 *vgsc* 基因型，其中 6 種基因型與 cypermethrin 抗性相關 (Chung et al, 2022)。而分析 2016 至 2021 年之 *vgsc* 抗藥性監測資料顯示，帶有抗藥性相關基因型之蚊蟲族群由 2016 年 3 月的 9.2% 升至 2021 年 3 月的 93.9%，可見野外埃及斑蚊之主要族群轉變為帶有抗藥性相關基因型為主，其中又以 S989P+V1016G+F1534C 異型合子突變占多數，2020 年 3 月至 2021 年 10 月介於 25% 至 32.6% (下圖，紅線 SPVGFCDY，為 **VGSC 胺基酸 989-1016-1534-1763 四位點之等位基因座**)。然而，各基因型所導致的抗藥程度為何及帶有抗藥性基因型之蚊蟲對不同殺蟲劑抗性為何值得探討，以作為化學防治更精確的選用藥劑之參考。





#### (四)、埃及斑蚊 vgsc 抗性與對不同殺蟲劑之影響

VGSC 由四個同源結構(I~IV)組成，除蟲菊精殺蟲劑可與昆蟲 vgsc 結合，導致其神經持續活化，最後癱瘓和死亡 (Catterall, 2000; Narahashi, 1996)。因除蟲菊精類殺蟲劑對昆蟲具有高毒性且對哺乳動物影響較低 (van den Berg et al., 2012)，然而，重複使用殺蟲劑，易使核苷酸突變進而改變 vgsc 的氨基酸以致除蟲菊精類殺蟲劑與 vgsc 親和力降低 (Smith et al, 2016)，稱為 Knock-down resistance (kdr)，即抗藥性的產生。在過去二十年中，至少有 50 個 kdr 突變在病媒蚊中被報導 (Dong et al., 2014)。

在 2003 年的監測中，發現埃及斑蚊 vgsc 的 G923V、L982W、I1011M 和 V1016G 突變與除蟲菊精抗藥性有關，而在拉丁美洲則發現 I1011V 和 V1016I (Saavedra-Rodriguez et al., 2007)；而 F1534C，則在世界各洲都有發現 (Cosme et al, 2020)；亦有文獻指出埃及斑蚊不同 vgsc 突變位點對殺蟲劑抗性的情形不一，不同位點對殺蟲劑的不敏感性從 2 倍到 1100 倍不等 (Hirata et al., 2014)，再者，vgsc 突變對不同殺蟲劑的影響亦各異，過去研究已指出，帶有 S989P+V1016G 同型合子突變對不同除蟲菊酯的抗性為 21~107 倍 (Smith et al, 2018)。

在國內的研究，V1016G 及 D1763Y 首先在抗百滅寧 (permethrin) 的埃及斑蚊中被檢測出 (Chang et al., 2009)。隨後，S989P 及 F1534C 亦於野外埃及斑蚊中被檢測出，並發現埃及斑蚊 vgsc 的 6 種單倍型，其中 S989P+V1016G 和賽滅寧抗性有關，後續又發現 6 種基因型和賽滅寧抗性有關 (Chung et al., 2019; Chung et al., 2022)。生物試驗也證實 V1016G 及 F1534C 降低對除蟲菊精殺蟲劑的敏感度 (Du et al., 2013)。另文獻指出多位點突變被認為可導致更高的抗藥性。例如，含有

S989P+V1016G+F1534C 同型合子突變對百滅寧抗性提高 1100 倍，而對賽滅寧 cypermethrin 為提高 90 倍。S989P+V1016G+F1534C 異型合子亦能表現抗性 (Plernsub et al., 2016)。

根據疾管署監測，國內埃及斑蚊的主要病媒蚊抗藥性基因型有 6 種，然而對於其所表現的生物抗性尚未研究 (Chung et al., 2022)，其中又以 S989P+V1016G+ F1534C 異型合子及 F1534C 同型合子突變占野外蚊蟲約 6 成，接續為 S989P+V1016G 同型合子及 V1016G+F1534C+D1763Y 異型合子（2 者互有消長），因此，該些抗性基因型對於不同殺蟲劑之反應，特別是國內常選用之藥劑，則需進一步評估，以精準掌握野外病媒控制的成效。

#### (五)、病媒蜱蟲調查

發熱伴血小板減少綜合症 (Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome, SFTS) 於 2019 年 11 月 19 日出現國內首例本土確診個案 (Peng et al., 2019)，為加強國內發熱伴血小板減少綜合症疫情監測及通報，自 2020 年起，增列其為傳染病防治法第 3 條第 1 項第 4 款所列之第四類法定傳染病。同屬經蜱媒介之萊姆病 (Lyme disease) 亦列為第四類法定傳染病，國內自 2013 年有通報資料以來，皆僅檢測得境外移入個案，尚未發現本土病例。此傳染病雖暫未於國內有擴散流行情形，惟依中央主管機關按傳染病防治法第 8 條第 2 項規定所發布之國際流行疫情，中國、日本、韓國等鄰近國家，發熱伴血小板減少綜合症已於該等國境內形成地方病 (endemic)，且其長年亦有萊姆病本土確診個案，又其當地蜱蟲除有攜帶前述病毒及細菌情形外，亦皆有檢出蜱媒人畜共通傳染性寄生蟲病原-巴貝氏原蟲 (*Babesia* spp.) (Onyiche et al., 2021)，顯示該等鄰國之蜱媒傳染病已在地化。

由於帶病原蜱蟲，寄生於動物宿主體表即可隨寄生宿主的遷徙而大

幅度移動。東亞候鳥遷移路徑主要是於秋、冬季節時，自中國東北、華北、日本、韓國或更北方等地區向南遷徙，如在中國東部、韓國、日本等區域遭帶病原蜚蟲叮咬寄生，或有可能於後續南遷時，即將帶病原蜚蟲跨境移入國內。又發熱伴血小板減少綜合症病毒等蜚媒病原體可於蜚蟲代間經卵傳播，帶病毒蜚蟲一旦獲得合適環境完成其生活史，病毒即可能留存於該環境。臺灣鄰近於地方性蜚媒傳染病國家，且與該等國家同處東亞候鳥遷徙路徑上，關於臺灣的病媒蜚蟲種類及其帶病原近況，值得進一步釐清，以瞭解該等疾病傳入國內之風險，以有助於發展相關防治策略。

#### (六)、由蜚蟲叮咬引發的發熱伴血小板減少綜合症

發熱伴血小板減少綜合症是中國大陸 2012 年報導自 2007 年 5 月在河南省監測到全球首起病例後，陸續在山東、江蘇、安徽、湖北、遼寧等省份發現，屬於白織病毒科 (Phenuiviridae) 班陽病毒屬 (Banyangvirus)，迄今已擴散至新疆地區 (Zhu et al., 2019)。症狀包括發熱和多重器官衰竭，並伴有血小板和白血球減少，死亡率 12-30%。病例主要分布在山區和丘陵地帶的農村，呈高度散發。以老年人居多，40 歲以上病例約佔 90% (Liu et al., 2014)。與中國鄰近的日本及南韓亦自 2013 年陸續報導發現病患及死亡病例。在中國、日本及南韓等主要流行地區，發熱伴血小板減少綜合症病毒已從病例本身或其周遭環境所採獲的長角血蜚、微小扇頭蜚、龜形花蜚、日本硬蜚、褐黃血蜚、血紅扇頭蜚、臺灣血蜚、大棘血蜚及豪豬血蜚等病媒檢出，在該等業經確認的 9 種病媒蜚蟲中(Xing et al., 2015; Wang et al., 2015; Hu et al., 2015; Oh et al., 2016; Yun et al., 2016; Jin et al., 2021; Sato et al., 2021; Hayasaka et al., 2015; Lin et al., 2020)，除大棘血蜚外，其餘均曾有出現於臺灣的紀錄。

國內於 2018-2019 年間，由 Lin 等人在南投縣一放牧農場所捕獲的 360 隻微小扇頭蜱中，首度自臺灣本土蜱蟲檢出發熱伴血小板減少綜合症病毒核酸，最小陽性率達 25%，並自同一農場牛隻（4.8%）及羊隻（29%）檢出病毒核酸，而國內亦於 2019 年 11 月確診本土首例個案 (Peng et al., 2019)，相關文獻證據顯示此病毒曾存於台灣，惟除該研究團隊外，國內暫無其他研究團隊自野生蜱蟲檢出病毒核酸之證據，可見關於國內帶病毒蜱蟲之情形，尚須持續探究。此外，此疾病主要病媒長角血蜱在中國大陸流行地區及南韓皆屬極為之優勢蜱種（在中國、南韓之占率分別為 96.0~96.9%、88.9%）(Wang et al., 2015; Im et al., 2019; Jiao et al., 2015)，與臺灣鮮少此類蜱蟲紀錄之情形截然不同。而萊姆病是由硬蜱屬蜱蟲（genus *Ixodes*）所傳播，主要是由肩板硬蜱（*Ixodes scapularis*）、篋子硬蜱（*Ixodes ricinus*）、全溝硬蜱（*Ixodes persulcatus*）及太平洋硬蜱（*Ixodes pacificus*）傳播，包含其餘亦曾記錄帶菌的蜱種，共達 29 種(Im et al., 2019)，這些蜱種在國際上的足跡，亦決定了萊姆病的分布，在亞洲，目前已知中國曾於全溝血蜱，韓國曾於日本硬蜱、狹硬蜱(*Ixodes angustus*)及長角血蜱檢出伯氏疏螺旋體 (Cao et al., 2003; Kim et al., 2020)，其中日本硬蜱亦屬存於臺灣的野生蜱種，而長角血蜱在國內則有少數紀錄(杜, 2019)，另同屬蜱蟲媒介之巴貝氏原蟲症，其寄生蟲病原-巴貝氏原蟲（*Babesia* spp.）亦曾於當地野生蜱蟲有檢出情形(Onyiche et al., 2021)，國內雖曾於臺灣本土野生蜱蟲檢出此寄生蟲病原，惟如境外巴貝氏原蟲移入，亦可能致使國內寄生蟲病原之多樣性增加，如移入 *B. microti*、*B. divergens*、*B. duncani*、*B. venatorum*、*B. motasi* 或 *B. crassa-like* 等人畜共通傳染病原種，更可能增加國內疾病風險，爰可藉由綜合前述蜱媒病毒、細菌及寄生蟲病原之核酸序列比對，瞭解病媒蜱蟲及其病原在國際間交流之情形。由

於臺灣所在鄰近具地方性蜚媒傳染病之國家，且與該等國家同處東亞候鳥遷徙路徑上，關於臺灣的病媒蜚蟲種類及其帶病原近況，值得進一步釐清，以瞭解該等疾病傳入國內之風險，或其尚未於國內大規模流行之可能因素，以期能有助於發展相關防治策略。

#### (七)、本計畫與防疫工作之相關性

由於國際間交通往來日益頻繁、全球溫室效應及氣候變遷等因素，使得病媒病原傳染病在全世界散佈範圍擴大，對人類健康所造成的威脅日益嚴重，且因化學防治使抗藥性病媒的產生業已廣泛被記錄；另外蜚蟲普遍被視為僅次於蚊蟲重要的病媒，經蜚蟲所傳播的發熱伴血小板減少綜合症及萊姆病，已在中國、韓國、日本持續發生本土確診個案，臺灣雖未與前述國家接壤，但同處候鳥遷移路徑上，其境外帶病原蜚蟲對臺灣仍存有疾病入侵之虞。本研究希冀更進一步規劃將國內登革熱病媒（尤以埃及斑蚊）之抗藥性分佈監測、特定抗藥性基因突變病媒蚊對本土第一線防治用藥之抗性和感受力分析、本土野生蜚蟲採集鑑定，監測有否帶境外病原蜚蟲移入之情形，盼將有助於掌握國內高風險地區。本計畫將涵蓋蚊、蜚兩個病媒議題，以強化本研究之調查面向，預期可有助於相關風險評估及發展病媒相關防治方向。

## 二、計畫目標

全程計畫之總目標：

1. 採集本土埃及斑蚊，進行抗藥性基因 VGSC 突變基因型之分析與監測。
2. 針對本土主要突變之抗藥性基因型埃及斑蚊進行抗性試驗，作為提供化學防治用藥之依據。
3. 採集本土蜚蟲樣本，進行蟲媒種類鑑定。

4. 檢測採集所得蟲媒是否攜帶病原或新興病原體，分析並監測其所帶病原或入侵種病原體種類與分布情況，以評估國內感染風險。

### 三、重要工作項目及實施辦法

重要工作項目如下:

1. 採集本土埃及斑蚊，進行抗藥性基因 VGSC 突變基因型之分析
2. 針對本土主要突變之抗藥性基因型埃及斑蚊測試其對不同殺蟲劑之抗藥性和感受力分析
3. 採集本土蜚蠊樣本，進行蟲媒種類鑑定。
4. 檢測採集所得蟲媒是否攜帶發熱伴血小板減少綜合症、萊姆病及巴貝氏原蟲症等病原或新興病原體。

實施辦法:

#### (一)、埃及斑蚊抗藥性基因型監測與其對殺蟲劑之抗藥性和感受力分析

1. 收集及監測南部埃及斑蚊 vgsc 抗藥性基因型，本研究選定台南市、高雄市及屏東縣登革熱高風險區共 10 行政區，採集野外埃及斑蚊幼蟲，帶回實驗室飼養於具有雙層門及風門，光週期為 10:14 明暗循環，溫度為 25°C，濕度為 70±10% RH 之養蚊室中。飼養方式參考過去研究 (Chung et al., 2019)，採集的幼蟲飼養在塑料水盤中，提供 3:1 的肝粉和酵母粉混合物為幼蟲食物來源。羽化成蚊飼養於丙烯酸籠子 (30×30×30 cm; MegaView Science) 中，提供 10% 蔗糖溶液為成蚊營養來源，並取雄蚊進行抗藥性基因檢測，如為需進行殺蟲劑生物性檢測之品系，雌蚊完成交配並吸食血液後 3-5 日，於飼養籠中放置誘卵杯促使雌蚊產卵，收集下一代卵粒，後將卵條置於水盤中即可孵化為幼蟲，完成繼代，以達足夠試驗之蚊蟲數量。

#### 2. vgsc 基因定序

依據 Qiagen QIAamp DNA 純化試劑 (Cat. NO 51306, QIAGEN,

Germany) 操作說明抽取單隻蚊蟲之 gDNA，依過去文獻，使用 PCR (Biometra T3000，德國) 進行特定片段擴增，PCR 反應溶液中加入 12.5  $\mu$ L 2xPCR Master mix Solution (i-pfu) (Cat. NO 25186，iNtRON BIOTECHNOLOGY)、1  $\mu$ L 正反向引子 (10  $\mu$ M)、1  $\mu$ L gDNA 和 9.5  $\mu$ L ddH<sub>2</sub>O，總體積為 25  $\mu$ L。PCR 條件為 94°C 5 分鐘，94°C 裂解 30 秒，55°C 引子黏合 30 秒，72°C 延展 1 分鐘，共 39 個循環，最後延展 72°C 10 分鐘，使用之引子如表一 (Kasai et al., 2011)，接續以 1.5% 瓊脂糖凝膠通過電泳檢查 PCR 產物。並用特定的定序引子 (表一) 進行定序 (Genomics，台灣)。定序結果使用 GeneStudio (<http://genestudio.com/>) 比對和分析每個 vgsc 位點的基因型。

### 3. 建立帶有 S989P+V1016G、F1534C 同型合子及 S989P+V1016G+F1534C 異型合子品系

參考文獻，建立具有特定 vgsc 基因型的埃及斑蚊品系 (Kasai et al., 2019)。埃及斑蚊幼蟲自野外採集飼養，化蛹後，單獨置於在 2.0 mL Eppendorf 管中，並給予 10% 的糖水。羽化後，去除其一隻後腿 進行 vgsc 基因分型。對於 S989P+V1016G+F1534C 異型合子之蚊蟲，由於國內 S989P 和 V1016G 位於同一單倍型中，而 F1534C 出現在沒有 S989P 和 V1016G 的單倍型中 (Chung et al., 2019)。因此先建立具 S989P+V1016G 同型合子和具有 F1534C 同型合子的埃及斑蚊，再進行雜交以得 S989P+V1016G+F1534C 異型合子。另在同一地區收集 989P、V1016G、F1534C 及 D1763 均沒有突變的埃及斑蚊作為非突變對照組，因野外該四個位點沒有突變之蚊蟲已難採集，若不可得，則使用民國 77(KHSM77) 所採集之高雄三民區實驗室品系埃及斑蚊 (該四個位點沒有突變) 當對照組。

### 4. 以地方常用殺蟲劑主要成份第滅寧 (Deltamethrin) 對抗藥性基因型蚊

蟲進行生物性試驗以測試野外主要基因型對藥物抗性情形。

依據 WHO 建議之生物性檢測方法 (Organization, 2022b)，首先以 WHO 建議製備含有第滅寧之藥膜 (Organization, 2022a)，並以不同基因型的 2~5 天未吸血雌蚊，分別施以不同濃度之除蟲菊酯殺蟲劑，暴露 60 分鐘後，將蚊蟲移至新的培養盒，記錄各基因型埃及斑蚊之擊昏率，後置於 28°C，濕度 75%RH 培養箱，並記錄各個濃度的 24 小時死亡率，以比較各基因型對藥劑之抗性強弱。本研究使用第滅寧為地方衛生局使用之共同藥劑之主要成份，以評估抗藥性基因型對第一線使用藥物之感受情形。

## (二)、蜚蟲病媒調查

### 1. 蜚蟲樣本採集

樣本採集地點首要為國內曾檢出蜚媒疾病（如：發熱伴血小板減少綜合症）或其病原的地點，抑或於國內候鳥棲息/活躍處採集等蜚媒疾病境外移入等高風險地，辦理本土蜚蟲採樣調查，包含自由蜚及寄生蜚採集：

a. 自由蜚採集：以 1m × 1m 棉布製成之旗竿在適當的草地或灌木叢進行旗幟法(flagging)或拖曳法(dragging)採集，將沾附上的蜚蟲以鑷子移入 1.5 ml 離心管，內置葉子保持濕度，以維持蜚蟲存活，惟如採集期間蜚蟲大量死亡，則以乾冰或冷藏暫保存所採蜚蟲屍體，並儘移至 -80°C 保存以利後續檢驗。

b. 寄生蜚採集：

i. 鼠型動物宿主誘捕：在鼠型動物出沒的區域佈放鏤空鼠籠(27×16×13 cm) 10~30 個，及 Sherman 鼠籠 (26.5×10×8.5 cm) 10~30 個，以香腸、地瓜加花生醬或豆干等作為餌料，鼠籠放置一夜誘捕，隔日早上收籠。



- ii. 鼠體外寄生蜱採集：捕獲鼠隻後，依體型大小以 0.1~0.4 ml Zoletil 50 進行腹腔注射迷昏，再將體外寄生蜱以毛刷刷下，置於同一管 1.5 ml 離心管保存方式如上所述。
- iii. 鼠型動物宿主檢體採集：心臟採血後將血液靜置室溫 1 小時，取血清至標示好的冷凍小瓶；另將鼠體腹面朝上固定後，由表皮層及肌肉層逐層剪開固，取脾臟、肝臟、腎臟、肺臟及心臟各約 8 mm<sup>3</sup> 組織塊置於低溫環境之檢體小管（如乾冰或持續冷藏）或 5 倍體積 RNAlater 之小管中。所採集的鼠血清及組織，皆儘速冷運至 -80°C 保存，以利後續檢驗。
- iv. 如調查地點另有鼠型動物外的蜱蟲動物宿主，則改以當地其他遭蜱蟲寄生之動物體表取得蜱蟲。

## 2. 蜱鑑定方法

- a. 形態鑑定參考相關文獻鄭和姜(1991)、Yamaguti et al.(1971)及 Baker(1999) 進行。
- b. 蜱種分子鑑定方式則是參考 Beati and Keirans (2001)。以 12S rDNA 及 16S rDNA 為基因標的。將採集所得蜱蟲放入 2ml 圓底 eppendorf tube，加入 200  $\mu$ l 的 MEM 培養液、1mm 及 2mm 鋼珠利用 TissueLyser 以每秒 30 下共 2.5 分鐘將蟲體打散，經離心 10,000rpm 10 分鐘，取上清液再以 Qiagen QIAamp DNA 純化試劑萃取核酸。接續利用特定專一性引子對 12S rDNA -T1B/T2A 與 16S rDNA-16S+1/16S-1(表二)分別增幅蜱蟲 12S rDNA 與 16S rDNA 基因片段，隨之取 PCR 增幅產物進行定序，定序完成後再至 NCBI 網站利用 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 進行序列比對。

## 3. 病原體 SFTSV 及 Borrelia 檢測

- a. 鼠組織核酸萃取。方式概述如下，取 30mg 自誘捕所得鼠類之肝、

肺、心、腎或脾等組織與 6 顆鋼珠放入 2ml 之圓底 eppendorf tube，接續進行前述萃取蟬核酸相同的前處理步驟，以萃取病原 RNA 及 DNA。

- b. 偵測病原。前述取自蟬蟲與鼠組織萃取之核酸分別以反轉錄－聚合酶鏈鎖反應(RT-PCR)或是聚合酶鏈鎖反應(PCR) 分子診斷方法，檢測發熱伴血小板減少綜合症病毒、萊姆病伯氏疏螺旋體及巴貝氏原蟲，使用 QuantiTect SYBR Green RT-PCR Kit (QIAGEN) 及 SapphireAmp® Fast PCR Master Mix (Takara Bio) 為反應試劑並依據其標準操作方法進行分析：視檢測樣品取 5  $\mu$ L RNA/DNA 核酸萃取液做模板，加入專一性引子組（如表三），並依據所使用試劑製造業者的操作手冊，加入其他所需試劑，調整反應總體積至 25 $\mu$ L，進行特定基因片段增幅反應。

#### 四、結果與討論

##### (一)、埃及斑蚊抗藥性基因型監測與其對殺蟲劑之抗藥性和感受力分析

###### 1. 收集及監測南部埃及斑蚊 vgsc 抗藥性基因型

持續監測國內野外埃及斑蚊的 vgsc 抗藥性基因型趨勢，由圖一可知，野外的基因型仍以帶有 vgsc 突變的基因型為主，其中占最多數者為 PGVD/SVCD (43%) (分別表示 vgsc 在 989-1016-1534-1763 位置之胺基酸，斜線前後代表兩條單倍體，底線者為突變)，已連續 3 季達為野外主要基因型，且有持續上升趨勢，其次為 PGFD/PGFD，占野外族群的 23%，第三者為 SVCD/SVCD (14%)，該基因型於 2018 年為野外的主要族群 (~31%)，而後則呈下降的趨勢，另 SVCD/SGFY 及 SGFY/PGFD 則頻率相對較低，然而本年度的監測顯示仍沒有採集到未含有 vgsc 突變位點的埃及斑蚊，這已

是連續 7 季在野外沒有測到野外不帶 *vgsc* 突變的埃及斑蚊。PGVD/SVCD 及 PGFD/PGFD 國外有文獻指出其和抗藥性有關，而後者更被廣泛認為表現較強抗性，而本研究結果顯示帶有該二基因型的野外族群上升，因抗藥性基因的消長跟選汰壓力有關，推測因今（2023）年國內發生登革熱大流行，化學防治所使用的除蟲菊精殺蟲劑將導致帶抗藥性的蚊蟲被篩選出來，而使野外所占比例上升。SVCD/SVCD 在本研究中則顯示自 2018 年後有下降的趨勢，該突變基因在過去被認為抗藥性的表現相對較弱，顯示該基因型在野外環境中的競爭性較弱，而逐漸變少。因野外蚊蟲抗藥性基因的表現與病媒蚊的抗性有關，應持續監測其變化。

## 2. 建立國內具有特定 *vgsc* 基因型的埃及斑蚊

參考先前研究，建立具有特定 *vgsc* 基因型的埃及斑蚊品系(Kasai et al., 2019)。本研究先建立具 S989P+V1016G 同型合子 (PGhomo) 和具有 F1534C 同型合子 (Chomo) 的埃及斑蚊。因本研究已於高雄三民區埃及斑蚊偵測到 S989P+V1016G 同型合子和 F1534C 同型合子基因型，因此以該區埃及斑蚊進行 *vgsc* 基因型篩選，並將具有 S989P+V1016G 同型合子和 F1534C 同型合子的埃及斑蚊雜交，以得 S989P+V1016G+F1534C (PGCheter)，建立完成之品系以 PCR 放大 *vgsc* 片段並送定序確認其基因型組合 (圖二)，並持續於實驗室繼代。另因今年度無法於野外採集到 989P、V1016G、F1534C 及 D1763 均沒有突變的埃及斑蚊，因此使用民國 77 所採集之高雄三民區實驗室品系埃及斑蚊 (KHSM77，該四個位點沒有突變) 作為藥劑測試之對照組。

## 3. 野外主要 *vgsc* 基因型 PGCheter 及 PGhomo 對第滅寧之抗性試驗

第滅寧為臺南、高雄、屏東常用防治病媒蚊藥劑之共同成份，以

WHO 建議之生物性檢測方法對所建立之純品系埃及斑蚊進行測試 (PGhomo 及 PGCheter)，並以 KHSM77 無突變基因型敏感品系當作對照組。由結果顯示，不帶有特定 vgsc 突變之埃及斑蚊暴露於 0.015% 及 0.0075% 之第滅寧 1 小時及 24 小時，均有效 (100%) 擊昏並殺死敏感品系埃及斑蚊 (如圖三)。然而，當以帶有 PGCheter 之埃及斑蚊接觸 0.015% 及 0.0075% 的第滅寧時，1 小時的擊昏率分別顯著下降至 0% 及 2%，24 小時死亡率分別顯著下降至 14.1% 及 8.1%，而當以帶有 PGhomo 埃及斑蚊接觸 0.015% 及 0.0075% 的第滅寧時，1 小時的擊昏率分別顯著下降至 5% 及 0%，而 24 小時死亡率分別顯著下降至 4% 及 3%，PGhomo 於暴露 0.015% 的第滅寧之 24 小時的死亡率顯著低於 PGCheter (14.1% v.s 4%)，PGhomo 於暴露 0.0075% 的第滅寧之 24 小時的死亡率亦低於 PGCheter (8.1% v.s 3%)，且此結果顯示 PGhomo 較 PGCheter 對第滅寧有較高抗性。本結果顯示 PGhomo 和 PGCheter 對第滅寧有抗性且前者的抗性較後者為強，與過去文獻結果相同 (Achee et al., 2019)。而依據野外調查結果顯示，於 2023 年 10 月，PGVD/SVCD 及 PGFD/PGFD，分別占野外族群的 43% 及 23%，表示有超過六成的野外蚊蟲，其對第滅寧有較高抗性，然而，尚需考量此研究所依據 WHO 評估方法與野外化學防治之熱噴法不同，且本結果亦指出，提高殺蟲劑有效成份濃度可以提高對抗性蚊蟲的死亡率，因此防治時仍應進行殺蟲劑之藥效試驗，並於防治時進行成效評估。再者，本研究所使用之有效成份為對第滅寧，對於其他殺蟲劑之有效成份對抗性蚊蟲的效果應再行評估，最後，本研究選用了目前野外前二大 vgsc 基因型進行試驗，其餘基因型對殺蟲劑的反應如何，也待更進一步釐清。

## (二)、病媒蟬蟲調查

## 1. 蜱蟲鑑定

本計畫蒐集 2019 至 2023 年間，在(1)北部臺北市內湖區的菜園、(2)南投縣仁愛鄉的畜牧草地、(3)嘉義縣東石鄉的紅樹林、(4)屏東縣內埔鄉國家免疫馬匹畜牧場及外圍、(5)臺東縣太麻里鄉、(6)外島，台東縣蘭嶼鄉等國內北、中、南、東等 6 個地點，採集共 2,459 隻野生蜱蟲，其包含 112 成蟲、56 若蟲及 2,290 幼蟲，經型態鑑定，分屬微小扇頭蜱 (*Rhipicephalus microplus*) 1,774 隻、鑷型扇頭蜱 (*R. haemaphysaloides*) 3 隻、豪豬血蜱 (*Haemaphysalis hystricis*) 403 隻、褐黃血蜱 (*H. flava*) 19 隻、日島血蜱 (*H. mageshimaensis*) 277 隻(表四)，對於型態相同且採自同地點之蜱蟲，搭配隨機抽樣進一步以基因序列 (12s rRNA 及 16s rRNA) 確認蜱蟲種類 (圖四)。

## 2. 蜱蟲帶病原檢驗

針對上述 2,459 隻野生蜱蟲進行發熱伴血小板減少綜合症病毒 (Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus, SFTSV)、伯氏疏螺旋體 (*Borrelia burgdorferi*, 萊姆病致病原)、巴貝氏原蟲 (*Babesia* spp., 巴貝氏原蟲症 (Babesiosis) 致病原) 等 3 種蜱媒傳染病致病原分生檢測，檢驗結果 SFTSV 及 *B. burgdorferi* 皆陰性，惟檢出 14 件巴貝氏原蟲核酸陽性，整體檢出率為 2.47%，最小檢出率 (Minimum infection rate, MIR) 為 0.57% (表四)，另因所採用之巴貝氏原蟲分子檢測工具，亦可檢測分類為同屬的泰勒原蟲，檢出 1 件泰勒原蟲，整體檢出率為 0.18%，最小檢出率 (Minimum infection rate, MIR) 為 0.04% (表四)，此 14 株巴貝氏原蟲中，依其 18S rRNA 基因分型，可分為雙芽巴貝氏原蟲，*B. bigemina*、牛巴貝氏原蟲，*B. bovis* 及另一發現於日本北海道浣熊體內但尚未命名的原蟲種 (unnamed *Babesia* spp., 下稱 *Babesia* sp.-Hokkaido-raccoon-like)

(圖五)，其中 *B. bigemina* 及 *B. bovis* 是自南投縣仁愛鄉牧牛草地上的微小扇頭蜱檢出，而 unnamed *Babesia* spp. 則是自臺北市內湖區菜園的豪豬血蜱檢出 (表五)，至於併同檢出的泰勒原蟲，同以其 18S rRNA 基因分型，結果為呂氏泰勒原蟲，*Theileria luwenshuni* (圖五)，該原蟲是自臺東縣蘭嶼鄉羊隻放牧草地上的日島血蜱檢出 (表五)。

## 五、重要研究成果及具體建議

- (一)、本研究了解國內野外埃及斑蚊的 *vgsc* 抗藥性基因型趨勢，其中占最多數者為 PGVD/SVCD (43%)，已連續 3 季達為野外主要基因型，且有持續上升趨勢，其次為 PGFD/PGFD，占野外族群的 23%，第三者為 SVCD/SVCD (14%)，該基因型於 2018 年為野外的主要族群 (~31%)，而後則呈下降的趨勢，而未含有 *vgsc* 突變位點的埃及斑蚊已連續 7 季沒有在野外被偵測到。因野外蚊蟲抗藥性基因型的表現與病媒蚊的防治息息相關，應持續監測其變化，以有效採取控制病媒蚊之策略。
- (二)、依據野外調查結果及生物檢測顯示，於 2023 年 10 月，帶有 PGVD/SVCD 及 PGFD/PGFD，占超過野外蚊蟲 6 成，其對第滅寧的抗性較高，然而，需考量此研究所依據 WHO 評估方法與野外化學防治之熱噴法不同，野外防治所用之藥物成份與本實驗所用亦可能有所差異，因此仍應於實務防治時對所選用之藥劑進行有效濃度的測試及防治之成效評估。
- (三)、使用殺蟲劑勢必會對病媒蚊產生選汰壓力，然而在有登革熱病例時，使用殺蟲劑殺死帶病毒雌蚊是必要的，因此，為減少過多的選汰壓力，平時仍應宣導以環境管理及孳生源清除為主之病媒控制策

略。

- (四)、在 2019-2021 年收集的蜱蟲檢體中暫未檢出 SFTSV 及 *B. burgdorferi*，但自其中檢出巴貝氏原蟲（下稱 *Babesia* spp.），其種類（species）繁多，已知至少有超過 100 種巴貝氏原蟲種，其中有多種對於家禽及家畜具感染威脅，另已至少有 6 種被報告具人畜共通傳染性。本研究觀察到，*B. bigemina* 及 *B. bovis* 皆存在南投縣仁愛鄉的畜牧環境中，*B. bovis* 及 *B. bigemina* 感染人類的相關報導有限，雖其人畜共通感染性的證據尚不充足，惟對於牛隻畜牧經濟的衝擊，則相當顯著，仍可見其具國內公共衛生之重要性。
- (五)、本計畫自豪豬血蜱檢出 1 株 *Babesia* spp.，其 18S rRNA 序列，高度相似於一群尚未命名的日本原蟲種，值得注意的是，本研究檢出此未命名種 *Babesia* sp. 的地點亦為臺灣首例蜱媒傳染病 SFTS 本土個案的發病前活動地，依據該 SFTS 本土個案病毒序列分析結果，顯示屬日本株；然如併同本計畫所調查結果，臺灣北部及日本九州兩地，具備高度同源的 *Babesia* sp.-Hokkaido-raccoon-like，支持了蜱蟲或蜱媒病原跨境交流的現象。
- (六)、本計畫基於基因序列的分子生物學證據，發現豪豬血蜱攜帶臺灣新紀錄種巴貝氏原蟲 *Babesia* sp.-Hokkaido-raccoon-like，另於蘭嶼鄉，確定存在日島血蜱且帶有 *T. luwenshuni*，亦屬臺灣新紀錄種，得以更進一步瞭解國內蜱蟲及所帶寄生蟲的分布，盼對國內蜱媒傳染病在病原及病媒的防治，有所助益。
- (七)、本計畫於執行期間，摘取蜱媒病原在國際間跨境傳播的部分成果，公開發表於國際期刊 *Ticks and Tick-borne Diseases* (DOI: 10.1016/j.ttbdis.2023.102284，摘錄如下圖)，速訊提供國內外防疫參考。



Contents lists available at ScienceDirect

## Ticks and Tick-borne Diseases

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ttbdis](http://www.elsevier.com/locate/ttbdis)

Short communication

First molecular detection of a novel *Babesia* species from *Haemaphysalis hystricis* in Taiwan

Pai-Shan Chiang, Yi-Wen Lai, Han-Hsuan Chung, Yung-Ting Chia, Chien-Cheng Wang, Hwa-Jen Teng, Shiu-Ling Chen\*

Center for Diagnostics and Vaccine Development, Centers for Disease Control, Ministry of Health and Welfare, No. 6, Linsen S. Road, Taipei City 10050, Taiwan

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Tick  
*Babesia*  
 SFTSV  
*Borrelia*  
 Taiwan

## ABSTRACT

Newly recorded ticks and emerging tick-borne pathogens have recently been reported in subtropical and tropical East Asia. In this study, a total of 1,615 ticks (259 *Haemaphysalis hystricis*, 1334 *Rhipicephalus microplus*, 19 *H. flava*, and 3 *R. haemaphysaloides*) were collected by flagging from vegetation in Taiwan during 2019–2021. All 1,615 captured tick samples tested negative for SFTSV and *Borrelia*, but 12 of 356 tick samples tested positive for PCR amplification of a fragment of the 18S rRNA gene of *Babesia* spp., with an infection rate of 3.37% (12/356) and a minimum infection rate of 0.74% (12/1,615). Among the 12 detected *Babesia* spp., 11 were identified as *Babesia bigemina* in *R. microplus*, and the other one, detected in *H. hystricis*, was classified as an unnamed novel *Babesia* sp. Interestingly, the 18S rRNA sequence from the isolate detected in *H. hystricis* shared 98.79% to 99.50% identity with those of recent isolates from Japan, China and Nigeria. The exact origin of the *Babesia* species is not known, but the findings highlight the importance of international cooperation and the exchange of information on ticks and tick-borne pathogens. This represents a rare report of a *Babesia* sp. identified in *H. hystricis*, a tick species that has been proposed as a novel vector for some *Babesia* spp. This study supports *H. hystricis* as a possible vector of *Babesia* spp.



## 六、參考文獻

- AS B. Mites and ticks of domestic animals. London: The Stationery Office; 1999
- Achee, N. L., Grieco, J. P., Vatandoost, H., Seixas, G., Pinto, J., Ching-Ng, L., Vontas, J. 2019. Alternative strategies for mosquito-borne arbovirus control. *PLoS Negl Trop Dis*, 13(1), e0006822. doi:10.1371/journal.pntd.0006822
- Beati L, Keirans JE. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera Rhipicephalus and Boophilus (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *J Parasitol*. 2001;87(1):32-48.
- Catterall, W. A. 2000. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 26(1), 13-25.
- Cao WC, Zhao QM, Zhang PH, Yang H, Wu XM, Wen BH, et al. Prevalence of *Anaplasma phagocytophila* and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes persulcatus* ticks from northeastern China. *Am J Trop Med Hyg*. 2003;68(5):547-50.
- Chang, C., Shen, W.-K., Wang, T.-T., Lin, Y.-H., Hsu, E.-L., & Dai, S.-M. 2009. A novel amino acid substitution in a voltage-gated sodium channel is associated with knockdown resistance to permethrin in *Ae. aegypti*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 39(4), 272-278.
- Chang, S. F., Huang, J. H., & Shu, P. Y. 2012. Characteristics of dengue epidemics in Taiwan. *J Formos Med Assoc*, 111(6), 297-299. doi:10.1016/j.jfma.2011.12.001
- Chang, S. F., Yang, C. F., Hsu, T. C., Su, C. L., Lin, C. C., & Shu, P. Y. 2016. Laboratory-Based Surveillance and Molecular Characterization of Dengue Viruses in Taiwan, 2014. *Am J Trop Med Hyg*, 94(4), 804-811. doi:10.4269/ajtmh.15-0534
- Chen, W. J. 2018. Dengue outbreaks and the geographic distribution of dengue vectors in Taiwan: A 20-year epidemiological analysis. *Biomed J*, 41(5), 283-289. doi:10.1016/j.bj.2018.06.002
- Chung, H.-H., Cheng, I.-C., Chen, Y.-C., Lin, C., Tomita, T., & Teng, H.-J. 2019. Voltage-gated sodium channel intron polymorphism and four mutations comprise six haplotypes in an *Ae. aegypti* population in Taiwan. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(3), e0007291.
- Chung, H.-H., Tsai, C.-H., Teng, H.-J., & Tsai, K.-H. 2022. The role of voltage-gated sodium channel genotypes in pyrethroid resistance in *Ae. aegypti* in Taiwan. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 16(9), e0010780.

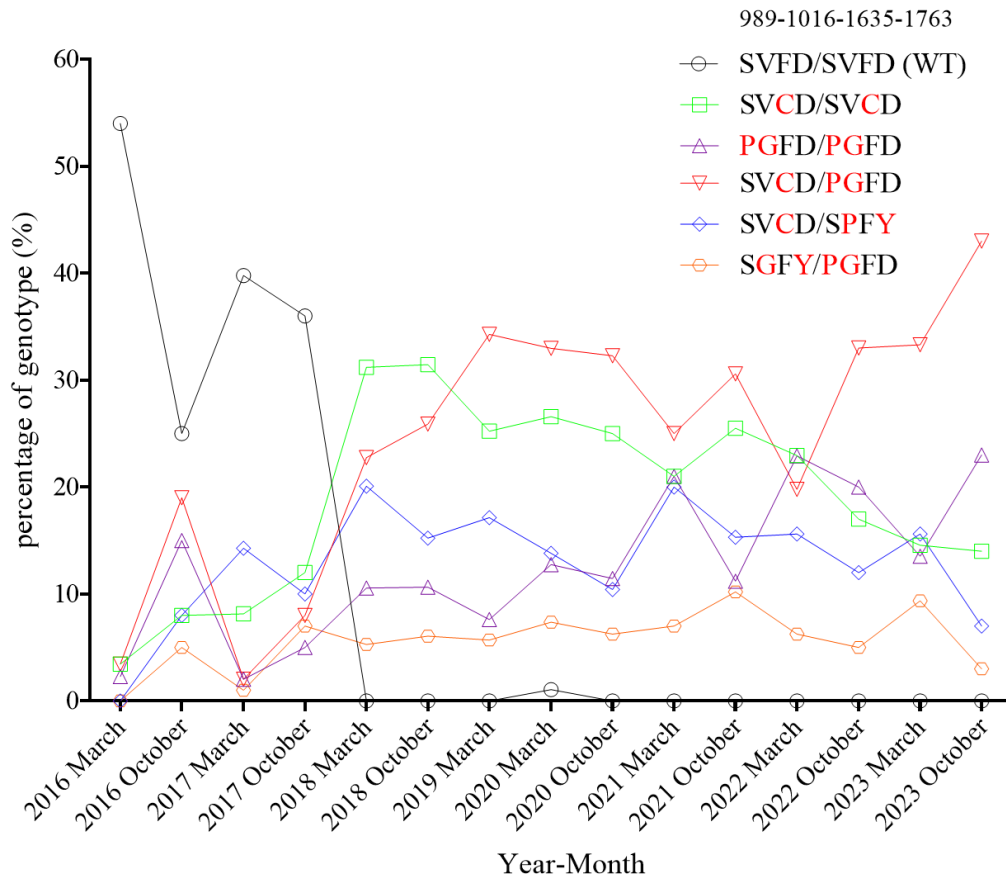
- Coipan CE, van Duijvendijk GLA, Hofmeester TR, Takumi K, Sprong H. 2018. The genetic diversity of *Borrelia afzelii* is not maintained by the diversity of the rodent hosts. *Parasit Vectors*.11(1):454.
- Cosme, L. V., Gloria-Soria, A., Caccone, A., Powell, J. R., & Martins, A. J. 2020. Evolution of *kdr* haplotypes in worldwide populations of *Ae. aegypti*: Independent origins of the F1534C *kdr* mutation. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14(4), e0008219.
- Dong, K., Du, Y., Rinkevich, F., Nomura, Y., Xu, P., Wang, L., Zhorov, B. S. 2014. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. *Insect Biochem Mol Biol*, 50, 1-17.  
doi:10.1016/j.ibmb.2014.03.012
- Du, Y., Nomura, Y., Satar, G., Hu, Z., Nauen, R., He, S. Y., Dong, K. 2013. Molecular evidence for dual pyrethroid-receptor sites on a mosquito sodium channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110(29), 11785-11790.  
doi:10.1073/pnas.1305118110
- Guzman, M. G., Halstead, S. B., Artsob, H., Buchy, P., Farrar, J., Gubler, D. J., Peeling, R. W. 2010. Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol*, 8(12 Suppl), S7-16. doi:10.1038/nrmicro2460
- Hayasaka D, Shimada S, Aoki K, Takamatsu Y, Uchida L, Horio M, et al. 2015. Epidemiological Survey of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus in Ticks in Nagasaki, Japan. *Trop Med Health*. 43(3):159-64.
- Heylen D, Tijssse E, Fonville M, Matthysen E, Sprong H. 2013. Transmission dynamics of *Borrelia burgdorferi* s.l. in a bird tick community. *Environ Microbiol*. 15(2):663-73.
- Hirata, K., Komagata, O., Itokawa, K., Yamamoto, A., Tomita, T., & Kasai, S. 2014. A single crossing-over event in voltage-sensitive Na<sup>+</sup> channel genes may cause critical failure of dengue mosquito control by insecticides. *PLoS Negl Trop Dis*, 8(8), e3085.  
doi:10.1371/journal.pntd.0003085
- Hovius JW, de Wever B, Sohne M, Brouwer MC, Coumou J, Wagemakers A, et al. 2013. A case of meningoencephalitis by the relapsing fever spirochaete *Borrelia miyamotoi* in Europe. *Lancet*. 382(9892):658.
- Hu J, Li Z, Cai J, Liu D, Zhang X, Jiang R, et al. A Cluster of Bunyavirus-Associated Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome Cases in a Coastal Plain Area in China, 2015: Identification of a Previously Unidentified Endemic Region for Severe Fever With Thrombocytopenia Bunyavirus. *Open Forum Infect Dis*. 2019;6(6):ofz209.
- Im JH, Baek J, Durey A, Kwon HY, Chung MH, Lee JS. 2019. Current Status of Tick-Borne Diseases in South Korea. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 19(4):225-33.

- Jiao Y, Qi X, Liu D, Zeng X, Han Y, Guo X, et al. 2015. Experimental and Natural Infections of Goats with Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus: Evidence for Ticks as Viral Vector. *PLoS Negl Trop Dis*. 9(10):e0004092.
- Jin K, Koh YJ, Ahn SK, Cho J, Lim J, Song J, et al. 2021. Hard Ticks as Vectors Tested Negative for Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in Ganghwa-do, Korea during 2019-2020. *Korean J Parasitol*. 59(3):281-9.
- Kasai, S., Caputo, B., Tsunoda, T., Cuong, T. C., Maekawa, Y., Lam-Phua, S. G., Komagata, O. 2019. First detection of a Vssc allele V1016G conferring a high level of insecticide resistance in *Aedes albopictus* collected from Europe (Italy) and Asia (Vietnam), 2016: a new emerging threat to controlling arboviral diseases. *Eurosurveillance*, 24(5), 1700847.
- Kasai, S., Ng, L. C., Lam-Phua, S. G., Tang, C. S., Itokawa, K., Komagata, O., Tomita, T. 2011. First detection of a putative knockdown resistance gene in major mosquito vector, *Aedes albopictus*. *Japanese journal of infectious diseases*, 64(3), 217-221.
- Kim SY, Kim TK, Kim TY, Lee HI. 2020. Geographical Distribution of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Ticks Collected from Wild Rodents in the Republic of Korea. *Pathogens*. 9(11).
- Lin, C., Wang, C.-Y., & Teng, H.-J. 2014. The study of dengue vector distribution in Taiwan from 2009 to 2011. *Epidemiology Bulletin*, 30(15), 150-150.
- Lin TL, Ou SC, Maeda K, Shimoda H, Chan JP, Tu WC, et al. 2020. The first discovery of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in Taiwan. *Emerg Microbes Infect*. 9(1):148-51.
- Lin, Y., Wu, H., Hsu, E., Chang, N., & Luo, Y. 2012. Insecticide resistance in *Ae. aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) larvae in southern Taiwan. *Formos. Entomol*, 32, 107-121.
- Liu S, Chai C, Wang C, Amer S, Lv H, He H, et al. 2014. Systematic review of severe fever with thrombocytopenia syndrome: virology, epidemiology, and clinical characteristics. *Rev Med Virol*. 24(2):90-102.
- Masatani T, Hayashi K, Andoh M, Tateno M, Endo Y, Asada M, et al. 2017. Detection and molecular characterization of *Babesia*, *Theileria*, and *Hepatozoon* species in hard ticks collected from Kagoshima, the southern region in Japan. *Ticks Tick Borne Dis*. 8(4):581-7.
- Narahashi, T. 1996. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacology & toxicology*, 79(1), 1-14.
- Oh SS, Chae JB, Kang JG, Kim HC, Chong ST, Shin JH, et al. 2016. Detection of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus

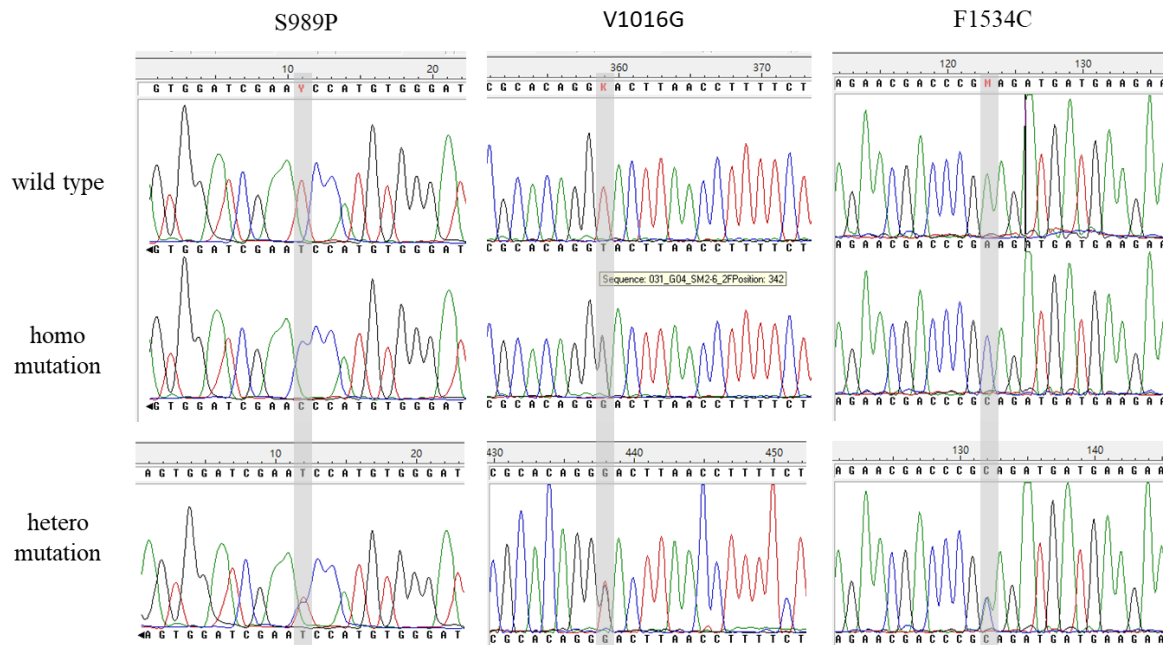
- from Wild Animals and Ixodidae Ticks in the Republic of Korea. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 16(6):408-14.
- Onyiche TE, Răileanu C, Fischer S, Silaghi C. 2021. Global Distribution of Babesia Species in Questing Ticks: A Systematic Review and Meta-Analysis Based on Published Literature. *Pathogens.* 10(2).
- Organization, W. H. 2022a. Standard operating procedure for impregnation of filter papers for testing insecticide susceptibility of adult mosquitoes in WHO tube tests.
- Organization, W. H. 2022b. Standard operating procedure for testing insecticide susceptibility of adult mosquitoes in WHO bottle bioassays.
- Peng SH, Yang SL, Tang SE, Wang TC, Hsu TC, Su CL, et al. 2020. Human Case of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection, Taiwan, 2019. *Emerg Infect Dis.* 26(7):1612-4.
- Plernsub, S., Saingamsook, J., Yanola, J., Lumjuan, N., Tippawangkosol, P., Sukontason, K., Somboon, P. 2016. Additive effect of knockdown resistance mutations, S989P, V1016G and F1534C, in a heterozygous genotype conferring pyrethroid resistance in *Ae. aegypti* in Thailand. *Parasites & Vectors,* 9, 1-7.
- Saavedra-Rodriguez, K., Urdaneta-Marquez, L., Rajatileka, S., Moulton, M., Flores, A. E., Fernandez-Salas, I., Black, W. C. t. 2007. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Ae. aegypti*. *Insect Mol Biol,* 16(6), 785-798. doi:10.1111/j.1365-2583.2007.00774.x
- Sato Y, Mekata H, Sudaryatma PE, Kirino Y, Yamamoto S, Ando S, et al. 2021. Isolation of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus from Various Tick Species in Area with Human Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Cases. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 21(5):378-84.
- Smith, L. B., Kasai, S., & Scott, J. G. 2016. Pyrethroid resistance in *Ae. aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. *Pestic Biochem Physiol,* 133, 1-12. doi:10.1016/j.pestbp.2016.03.005
- Smith, L. B., Kasai, S., & Scott, J. G. 2018. Voltage-sensitive sodium channel mutations S989P + V1016G in *Ae. aegypti* confer variable resistance to pyrethroids, DDT and oxadiazines. *Pest Manag Sci,* 74(3), 737-745. doi:10.1002/ps.4771
- van den Berg, H., Zaim, M., Yadav, R. S., Soares, A., Ameneshewa, B., Mnzava, A., Ejov, M. 2012. Global trends in the use of insecticides to control vector-borne diseases. *Environ Health Perspect,* 120(4), 577-582. doi:10.1289/ehp.1104340

- Wang S, Li J, Niu G, Wang X, Ding S, Jiang X, et al. 2015. SFTS virus in ticks in an endemic area of China. *Am J Trop Med Hyg.* 92(4):684-9.
- Wu, H., Lin, Y., Pai, H., Hsu, E., Chang, N., & Luo, Y. 2014. Insecticide resistance status in *Ae. aegypti* (L.) adults from Southern Taiwan. *Form. Entomol.* 33, 253-270.
- Xing X, Guan X, Liu L, Zhan J, Jiang H, Liu L, et al. 2016. Natural Transmission Model for Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome Bunyavirus in Villages of Hubei Province, China. *Medicine (Baltimore).* 95(4):e2533.
- Xing Y, Liu J, Niu G, Ding S, Gong L, Liu J. 2015. [Epidemiological investigation of predominance tick and the infectious status of severe fever thrombocytopenia syndrome virus in Penglai and Laizhou counties, Shandong province]. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 49(11):993-7.
- Yamaguti N V, Tipton J, Keegan HL, Toshioka S. Ticks of Japan, Korea, and the Ryukyu islands: Brigham Young Univ; 1971.
- Yoshikawa T, Fukushi S, Tani H, Fukuma A, Taniguchi S, Toda S, et al. 2014. Sensitive and specific PCR systems for detection of both Chinese and Japanese severe fever with thrombocytopenia syndrome virus strains and prediction of patient survival based on viral load. *J Clin Microbiol.* 52(9):3325-33.
- Yun SM, Lee YJ, Choi W, Kim HC, Chong ST, Chang KS, et al. 2016. Molecular detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome and tick-borne encephalitis viruses in ixodid ticks collected from vegetation, Republic of Korea, 2014. *Ticks Tick Borne Dis.* 7(5):970-8.
- Zhang YZ, He YW, Dai YA, Xiong Y, Zheng H, Zhou DJ, et al. 2012. Hemorrhagic fever caused by a novel Bunyavirus in China: pathogenesis and correlates of fatal outcome. *Clin Infect Dis.* 54(4):527-33.
- Zhu L, Yin F, Moming A, Zhang J, Wang B, Gao L, et al. 2019. First case of laboratory-confirmed severe fever with thrombocytopenia syndrome disease revealed the risk of SFTSV infection in Xinjiang, China. *Emerg Microbes Infect.* 8(1):1122-5.
- 杜武俊 林, 吳懷慧, 祁偉廉. 2019. 台灣地區新興蜱媒傳染病與病媒蜱分布調查與風險評估研究報告. 臺北: 衛生福利部疾病管制署.
- 鄭國藩, 姜. 1991. 中國經濟昆蟲志第三十九冊蜱蟎亞綱硬蜱科. 北京: 科學出版社.

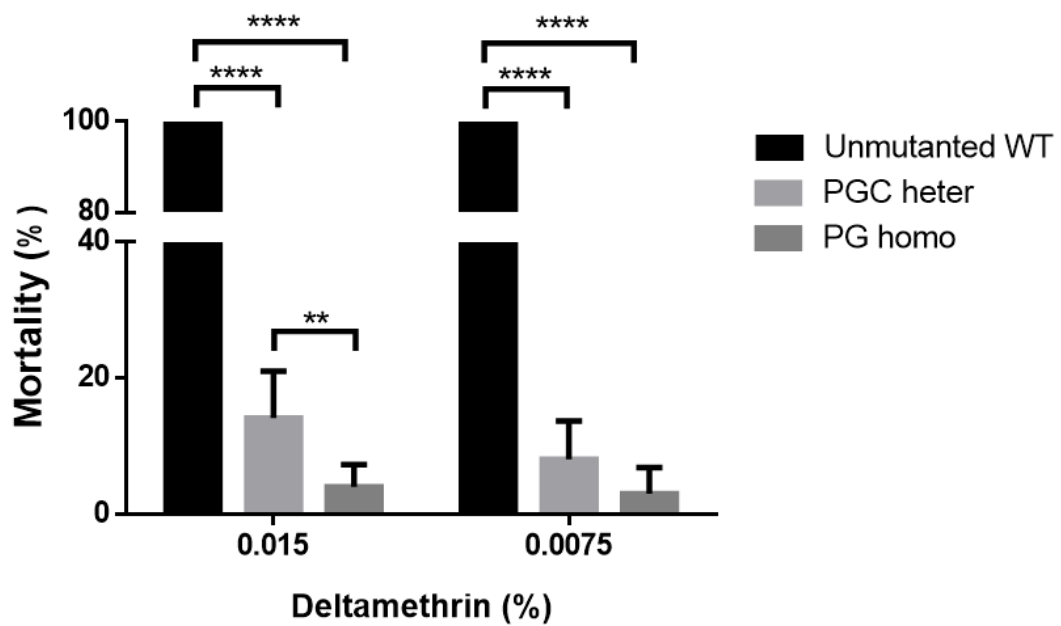
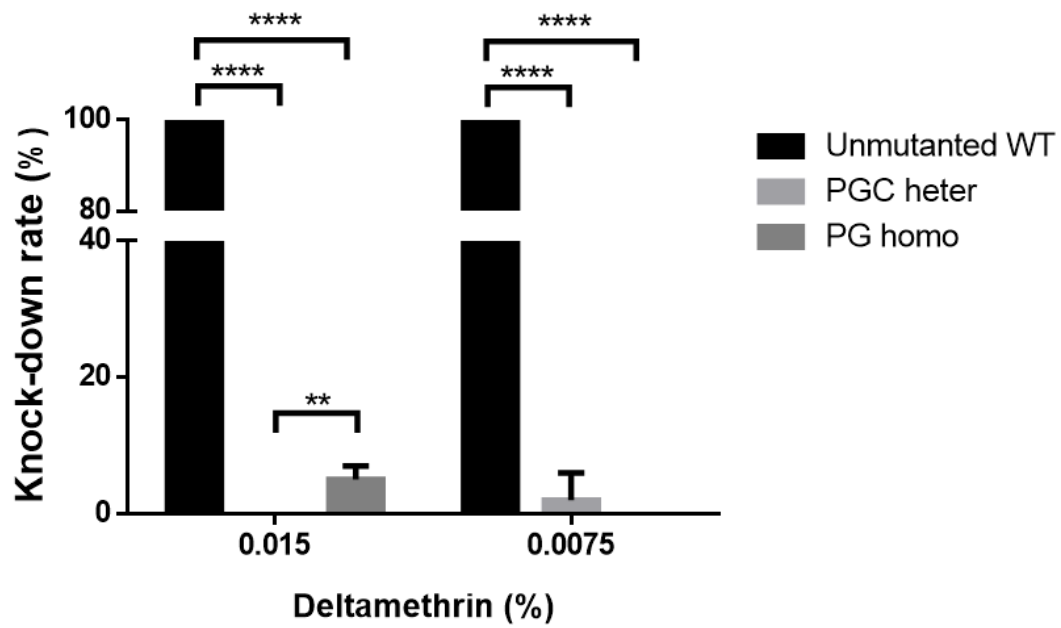
## 七、圖表



圖一、臺灣埃及斑蚊 *vgsc* 基因型之時序性分析。各季之基因型小於 1% 或過去 8 年的累積基因型小於 3% 則不列入。英文字母分別表示 *vgsc* 在 989-1016-1534-1763 位置之胺基酸，斜線前後代表兩條單倍體，紅字者為突變位點。

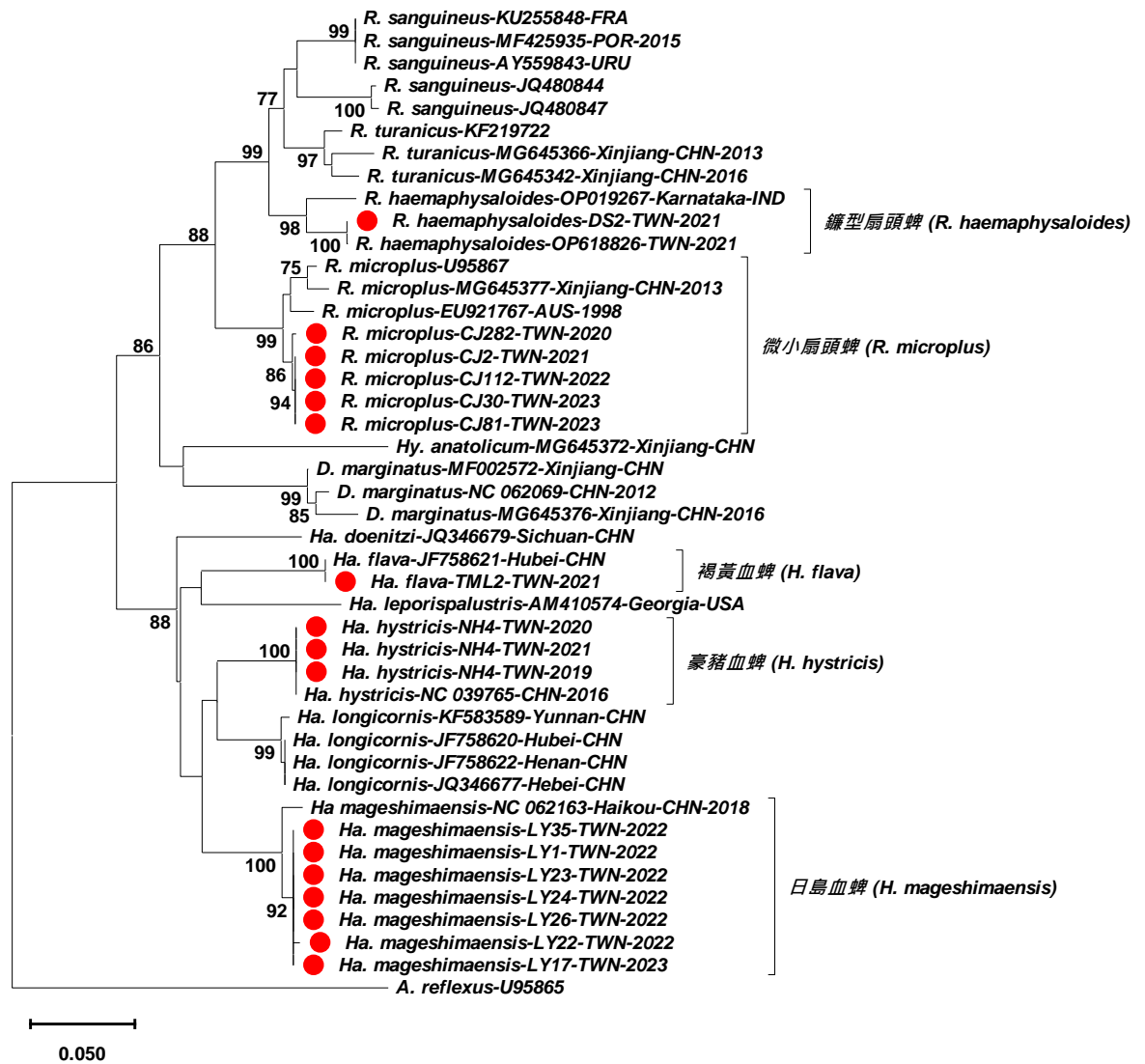


圖二、定序確認埃及斑蚊 *vgsc* 基因型 S989P+V1016G(PGhomo)、F1534C(Chomo) 及 S989P+V1016G+F1534C 異型合子 (PGCheter)，抗藥性突變位點以灰色標示。

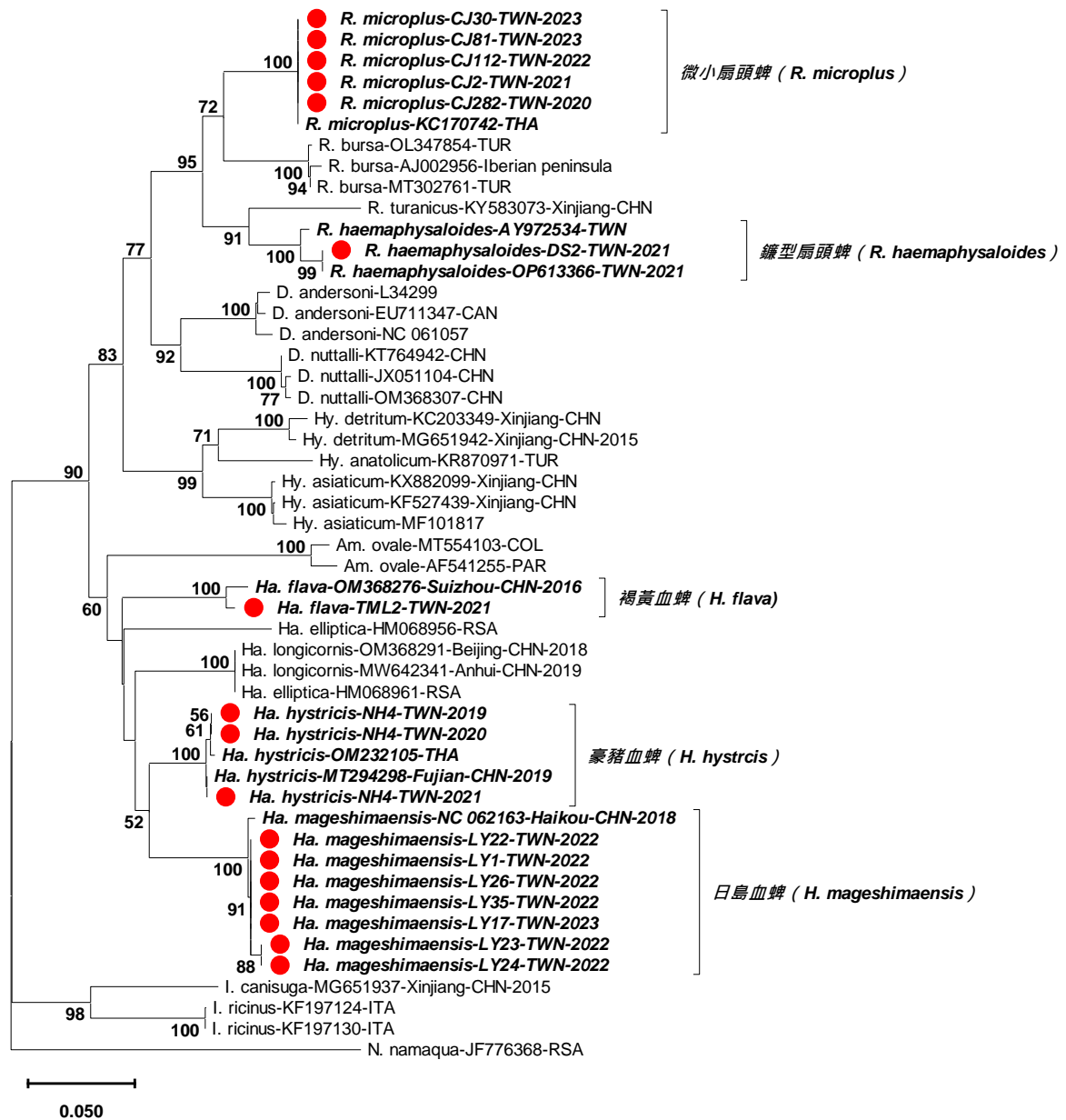


圖三、PGCheter 及 PGhomo 對第滅寧之抗性試驗。黑色柱狀圖為未帶有 *vgsc* 抗藥性突變基因之對照組；淺灰色 PGCheter 埃及斑蚊品系；深灰色為 PGhomo 埃及斑蚊品系。上圖為處理藥劑 1 小時之擊昏率；下圖為處理藥劑 24 小時之後死亡率。



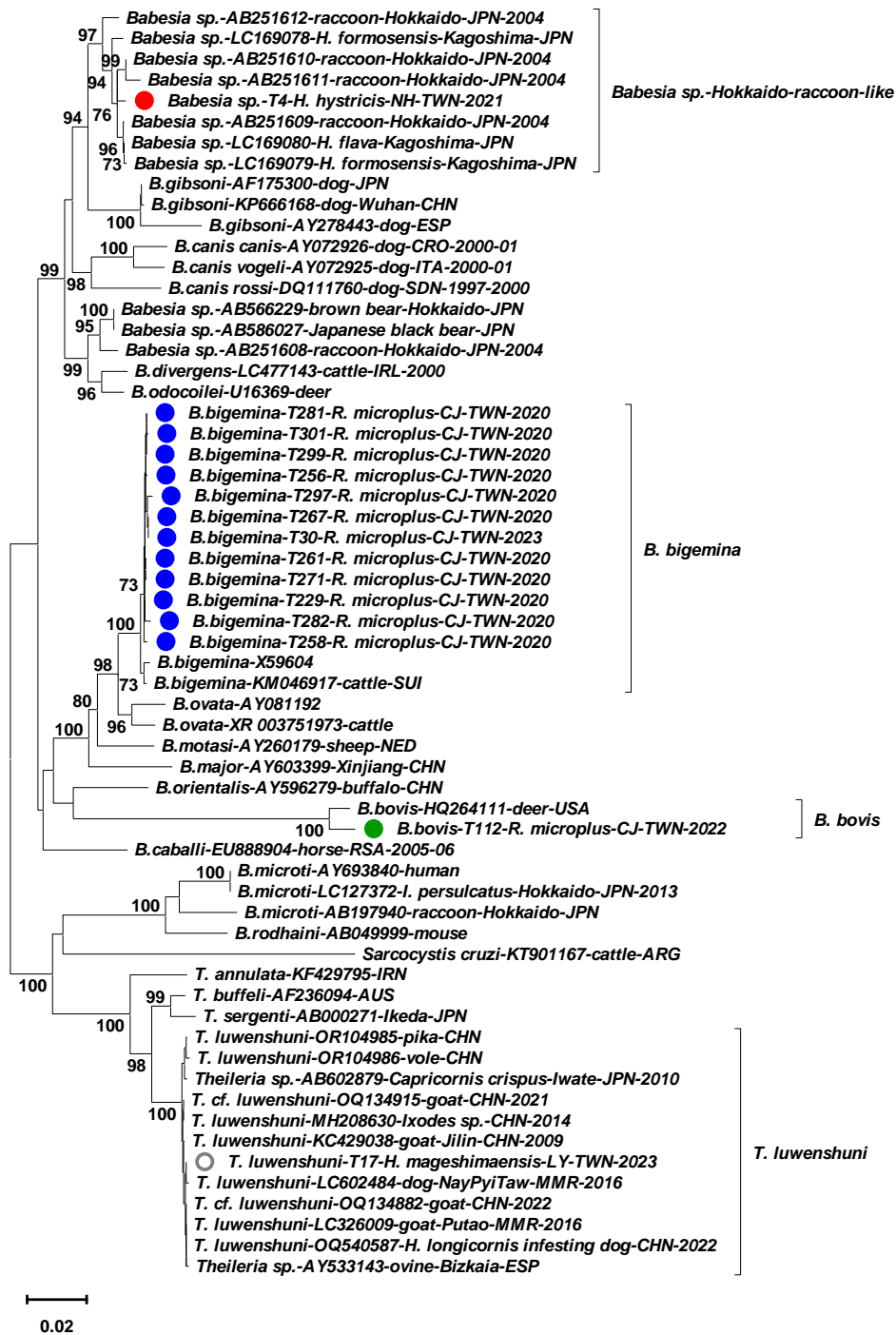


圖四、捕獲蜱蟲的分子分型。(A) 依據 12S rRNA 基因序列的親緣分析關係 Neighbor-joining phylogenetic tree based on partial 16S rRNA sequences (A) and partial 12S rRNA sequences (B) of ticks. Bootstrap values (>70%) are shown as percentages derived from 1,000 sampling at the nodes of the tree. Scale bar denotes the number of nucleotide substitutions per site along the branches. Red dots indicate ticks collected in this study. Ticks' 16S rRNA and 12S rRNA nucleotide sequences analyzed are about 450-nt long, from positions 6,937 to 7,362 based on *H. hystricis* mitochondrion complete sequence (NC\_039765), and about 350-nt long, from positions 6,930 to 7,355 based on *H. mageshimaensis* mitochondrion complete sequence (NC\_062163), respectively. Abbreviations: AUS, Australia; CAN, Canada; CHN, China; COL, Colombia; ITA, Italy; PAR, Paraguay; POR, Portugal; RSA, Republic of South Africa; THA, Thailand; TUR, Turkey; TWN, Taiwan; URU, Uruguay; USA, United States of America. *A.*, *Argas*; *D.*, *Dermacentor*; *Ha.*, *Haemaphysalis*; *Hy.*, *Hyalomma*; *R.*, *Rhipicephalus*; *Am.*, *Amblyomma*; *I.*, *Ixodes*; *N.*, *Nuttalliella*.



圖四、捕獲蜱蟲的分子分型。(B)依據 16S rRNA 基因序列的親緣分析關係

Neighbor-joining phylogenetic tree based on partial 16S rRNA sequences (A) and partial 12S rRNA sequences (B) of ticks. Bootstrap values (>70%) are shown as percentages derived from 1,000 sampling at the nodes of the tree. Scale bar denotes the number of nucleotide substitutions per site along the branches. Red dots indicate ticks collected in this study. Ticks' 16S rRNA and 12S rRNA nucleotide sequences analyzed are about 450-nt long, from positions 6,937 to 7,362 based on *H. hystricis* mitochondrion complete sequence (NC\_039765), and about 350-nt long, from positions 6,930 to 7,355 based on *H. mageshimaensis* mitochondrion complete sequence (NC\_062163), respectively. Abbreviations: AUS, Australia; CAN, Canada; CHN, China; COL, Colombia; ITA, Italy; PAR, Paraguay; POR, Portugal; RSA, Republic of South Africa; THA, Thailand; TUR, Turkey; TWN, Taiwan; URU, Uruguay; USA, United States of America. *A.*, *Argas*; *D.*, *Dermacentor*; *Ha.*, *Haemaphysalis*; *Hy.*, *Hyalomma*; *R.*, *Rhipicephalus*; *Am.*, *Amblyomma*; *I.*, *Ixodes*; *N.*, *Nuttalliella*.



圖五、檢出巴貝氏原蟲及泰勒原蟲在 18S rRNA 基因的親緣分析關係

Neighbor-joining phylogenetic tree based on partial 18S rRNA sequences of *Babesia* spp. Bootstrap values (>70%) are shown as percentages derived from 1,000 sampling at the nodes of the tree. Scale bar denotes the number of nucleotide substitutions per site along the branches. Red and blue dots indicate *Babesia* spp. and *B. bigemina* detected in this study, respectively. Phylogenetic relationship of *Babesia* spp. 18s rRNA sequences analyzed are 1,415nt long, from positions 146 to 1,560 based on the complete sequence of *B. odocoilei* 18S rRNA (U16369). Abbreviations: ARG, Argentina; AUS, Australia; AUT, Austria; CRO, Croatia; CHN, China; ESP, Spain; IRL, Ireland; IRN, Iran; ITA, Italy; JPN, Japan; MMR, Myanmar; NED, Netherlands; RSA, Republic of South Africa; SDN, Sudan; SUI, Switzerland; TWN, Taiwan; USA, United States of America. *B.*, *Babesia*; *H.*, *Haemaphysalis*; *I.*, *Ixodes*; *R.*, *Rhipicephalus*; *T.*, *Theileria*.

表一、蚊蟲抗藥性基因用於核酸增幅及定序之引子

Primer Name	Sequence	Mutation site
AaSCF20(F)	5'-GACAATGTGGATCGCTTCCC-3'	S989P, V1016G (PCR)
AaSCR21(R)	5'-GCAATCTGGCTTGTTAACTTG-3'	
AaSCF3(F)	5'-GTGGAACTTCACCGACTTCA-3'	S989P, V1016G (Sequencing)
AaSCR22(R)	5'-TTCACGAACTTGAGCGCGTTG-3'	
AaSCF7(F)	5'-GAGAACTCGCCGATGAACTT-3'	F1534C (PCR)
AaSCR7(R)	5'-GACGACGAAATCGAACAGGT-3'	
AaSCR8(R)	5'-TAGCTTTCAGCGGCTTCTTC-3'	F1534C (Sequencing)
AlSCF6(F)	5'-TCGAGAAGTACTTCGTGTCG-3'	D1763Y (PCR)
AlSCR8(R)	5'-AACAGCAGGATCATGCTCTG-3'	
AlSCF7(F)	5'-AGGTATCCGAACGTTGCTGT-3'	D1763Y (Sequencing)

表二、蜚蠊種類分子鑑定所使用的引子

<b>Primer Name</b>	<b>Sequence</b>	<b>Target gene</b>
T1B	5'-AAACTAGGATAGATACCCT-3'	12S rDNA
T2A	5'-AATGAGAGCGACGGGCGATGT-3'	
16S+1	5'-CTGCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGTGG-	16S rDNA
16S-1	5'-CCGGTCTGAACTCAGATCAAGTA-3'	

表三、檢測蜱媒病原體所用引子

Primer Name	Sequence	Target gene
<b>(A) SFTSV</b>		
SFTS-1F	5'-GGAAACTGGRAGAGAGAACT-3'	NS protein gene
SFTS-1R	5'-GAAGTGAACAAGTGGTGGTT-3'	
SFTSV-SF	5'-ACCTCTTTGACCCTGAGTTWGACA-3'	NP protein gene
SFTSV-SR	5'-CTGAAGGAGACAGGTGGAGATGA-3'	
<b>(B) <i>Borrelia</i> spp.</b>		
23SN1-F	5'-ACCATAGACTCTTATTACTTTGAC-3'	ribosomal RNA intergenic spacer (non-coding region)
23SC1-R	5'-TAAGCTGACTAATACTAATTACCC-3'	
23SN2-F	5'-ACCATAGACTCTTATTACTTTGACCA-3'	
5SCB-R	5'-GAGAGTAGGTTATTGCCAGGG-3'	
<b>(C) <i>Babesia</i> spp.</b>		
BmF1	5'-GCGATGTATCATTCAAGTTTCTG-3'	18S ribosomal RNA of Apicomplexa (screening primer)
BmR1	5'-TGTTATTGCCTTACACTTCCTTGC-3'	
BmF2	5'-ACGGCTACCACATCTAAGGAAGGC-3'	
BmR2	5'-TCTCTCAAGGTGCTGAAGGA-3'	
BTH 18S 1st F	5'-GTGAAACTGCGAATGGCTCATTAC-3'	18S ribosomal RNA of <i>Babesia</i> spp. (specific primer)
BTH 18S 1st R	5'-AAGTGATAAGGTTACAAAACCTTCCC-3'	
BTH 18S 2nd F	5'-GGCTCATTACAACAGTTATAGTTTATTTG-3'	
BTH 18S 2nd R	5'-CGGTCCGAATAATTCACCGGAT-3'	

表四、蜱蟲帶巴貝氏原蟲檢出率

年	地區	蜱蟲隻數(蜱生活史階段)	PCR 檢驗件數 (隻數或池數)	PCR 陽性數	檢出率	最小檢出率 (Minimum infection rate, MIR)
<b>(A)微小扇頭蜱 (<i>R. microplus</i>)</b>						
2020	仁愛鄉/南投縣	763 隻 (幼蟲)	77 件/池 <sup>a</sup>	11	14.10%	1.44%
2021	仁愛鄉/南投縣	571 隻(1 若蟲、570 幼蟲)	30 件(29 池 <sup>a</sup> 、1 隻 <sup>b</sup> )	0	0	0
2022	仁愛鄉/南投縣	310 隻 (50 成蟲、3 若蟲、257 幼蟲)	79 件(26 池 <sup>a</sup> 、53 隻 <sup>b</sup> )	1	0	0
2023	仁愛鄉/南投縣	130 隻 (50 成蟲、80 幼蟲)	58 件(8 池 <sup>a</sup> 、50 隻 <sup>b</sup> )	1	1.72%	0.77%
小計		1,774 隻 (100 成蟲、4 若蟲、1,670 幼蟲)	244 件(140 池 <sup>a</sup> 、104 隻 <sup>b</sup> )	13	5.33%	0.73%
<b>(B)鑷型扇頭蜱 (<i>R. haemaphysaloides</i>)</b>						
2021	東石鄉/嘉義縣	3 隻 (成蟲)	3 件/隻 <sup>b</sup>	0	0	0
<b>(C)豪豬血蜱 (<i>H. hystricis</i>)</b>						
2019	內湖區/臺北市	4 隻 (1 成蟲、3 若蟲)	4 件/隻 <sup>a</sup>	0	0	0
2020	內湖區/臺北市	226 隻 (4 成蟲、21 若蟲、201 幼蟲)	226 件/隻 <sup>a</sup>	0	0	0
2021	內湖區/臺北市 臺北市	29 隻 (3 成蟲、1 若蟲、25 幼蟲)	9 件(5 池 <sup>a</sup> 、4 隻 <sup>b</sup> )	1	11.10%	3.45%
小計		259 隻 (8 成蟲、25 若蟲、226 幼蟲)	239 件(5 池 <sup>a</sup> 、234 隻 <sup>b</sup> )	1	0.42%	0.39%
<b>Count.</b>						

**Count.**

<b>(D)褐黃血蜱 (<i>H. flava</i>)</b>						
2021	太麻里鄉， 臺東縣	19 隻 (1 成蟲、3 若蟲、15 幼蟲)	7 件(3 池 <sup>a</sup> 、4 隻 <sup>b</sup> )	0	0	0
<b>(E)日島血蜱 (<i>H. mageshimaensis</i>)</b>						
2022	蘭嶼鄉/臺東縣	277 隻 (6 若蟲、271 幼蟲)	36 件 (30 池 <sup>a</sup> 、6 隻 <sup>b</sup> )	0	0	0
2023	蘭嶼鄉/臺東縣	126 隻 (1 成蟲、17 若蟲、108 幼蟲)	36 件 (11 池 <sup>a</sup> 、18 隻 <sup>b</sup> )	0	0	0
小計		403 隻 (1 成蟲、23 若蟲、379 幼蟲)	72 件 (41 池 <sup>a</sup> 、24 隻 <sup>b</sup> )	0	0	0
<b>(F)細股花蜱 (<i>A. cordiferum</i>)</b>						
2023	內埔鄉/臺東縣	1 隻 (若蟲)	1 件/隻 <sup>a</sup>	0	0	0
<b>總計</b>		<b>2,459 隻(112 成蟲、56 若蟲、2,290 幼蟲)</b>	<b>566 件 (189 池<sup>a</sup>、370 隻<sup>b</sup>)</b>	<b>14</b>	<b>2.47%</b>	<b>0.57%</b>



表五、檢出的巴貝氏原蟲及泰勒原蟲與其蜱蟲宿主

(A) 巴貝氏原蟲

巴貝氏原蟲分子分型種別 (原蟲株)	蜱種	蜱生活史階段	蜱蟲採樣地點	年
unnamed <i>Babesia</i> spp. (N4-21)	豪豬血蜱 ( <i>H. hystricis</i> )	幼蟲	菜園 (內湖區，臺北市)	2021
<i>Babesia bigemina</i> (T229-20)	微小扇頭蜱 ( <i>R. microplus</i> )	幼蟲	牛隻畜牧草地 (仁愛鄉，南投縣)	2020
<i>Babesia bigemina</i> (T256-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T258-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T261-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T267-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T271-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T281-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T282-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T297-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T299-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T301-20)		幼蟲		2020
<i>Babesia bigemina</i> (T30-23)		微小扇頭蜱 ( <i>R. microplus</i> )		成蟲 (雌)
<i>Babesia bovis</i> (T112-22)	微小扇頭蜱 ( <i>R. microplus</i> )	幼蟲	牛隻畜牧草地 (仁愛鄉，南投縣)	2022

### 參、經費支用情形

項 目	本年度核定金額	支 用 狀 況
替代役研究 助理人事費	325,000 元	已支 100%，325,000 元
業務費	1,100,000 元	已支 100%，1,100,000 元
總計	1,425,000 元	已支 100%，1,425,000 元

(篇幅不足，請自行複製)

第 頁

## 112 年度科技研究計畫期末執行進度審查意見回復表

計畫名稱：臺灣主要蚊及蜚媒監測調查與特性分析

計畫主持人：陳秀玲

填報日期：112 年 12 月 22 日

序號	審查意見	辦理情形說明	修正處 頁碼
1	方法可行性高，程序正確。	謝謝委員。	無
2	研究結果對病媒傳染病之防控有助益。	謝謝委員。	無
3	研究方法正確適當，結論及建議具實用價值，具創新及可行性，對施政有明顯助益。	謝謝委員。	無
4	建議補充說明野外斑蚊的突變代號，不然不易理解為何不使用國內確實已存在之抗藥斑蚊進行藥敏試驗，而需另外進行斑蚊配種。且直接針對既存之斑蚊進行藥敏試驗應更能提供公衛單位進行藥物選擇之參考依據？	<p>謝謝委員指導。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 已補充突變代號於計畫，並以底線代表突變位點之胺基酸。</li> <li>2. 本研究以配種方式自野外埃及斑蚊中分離出目前野外占絕大多數基因型之純品系，以了解其對藥物之反應，期望未來藉由監測 vgsc 抗藥性基因推知野外蚊蟲對藥物之敏感性情形，以精準用藥，並互補傳統對既存之斑蚊進行藥敏試驗在飼養蚊蟲之時效及人力上的限制。</li> <li>3. 至於藥效試驗，地方政府目前仍對當地既存斑蚊進行藥敏試驗。</li> </ol>	p8, p18, p30

序號	審查意見	辦理情形說明	修正處 頁碼
5	或許能以實務上化學防治之濃度情境進行後續抗藥性與擊昏率之檢測。	謝謝委員指導。 本試驗所使用之濃度亦參考時下藥劑之濃度，本試驗所用其一濃度 0.0075%，與其中一款市售藥物仿單之 2.8% 有效成份，稀釋 320~640 倍，為 0.0088%~ 0.0044%，接近。	無
6	未見於報告中呈現投稿情形。	本研究於蜚蟲調查與其帶病原分析已投稿，並順利被接受刊出，相關資訊補充於文中。 另埃及斑蚊抗藥性基因監測部分業完成初稿，投稿中。	p23-24

備註：如有修正期末報告內容，請註明頁碼，並務必於 112 年 12 月 22 日前至 GRB 系統完成資料抽換。