

## 一、中文摘要

關鍵詞：埃及斑蚊，族群消長，鱗片鑑別，逢機聚合 DNA 多型性

埃及斑蚊為台灣南部住宅區最容易孳生的一種斑蚊，其幼蟲孳生於住宅內外之積水容器。成蟲喜停留於室內，故成為南部地區傳播登革熱最主要之病媒。實行孳生源的清除，各地區的埃及斑蚊是由少數個體繁殖出來有可能造成各小區域內形成遺傳特性不同的族群。一般埃及斑蚊的成蟲的飛行範圍約為 50-100 公尺，如果在附近找不到產卵的場所，雌蟲可能會擴大其分散的範圍。在孳生源清除的前後實地調查埃及斑蚊的特性可以了解該種防治方法對埃及斑蚊之生態及行為的影響。中央山脈的東、西兩側的同種生物間常有差異。故埃及斑蚊在東南部的族群的特性與西南部的族群也可能不同。

故本計畫自高雄市，台南市及台東市三個地區在適當距離設置誘卵器採集埃及斑蚊，調查族群的變化，將各族群的抽取樣本觀察其成蟲的鱗片特徵。個別萃取其染色體核酸，以數組引子使用逢機增殖核酸之多型性(RAPD-PCR)來偵測基因的差異，用卡方檢定族群間鱗片之形式及 RAPD-PCR 之頻度檢定調查地區的埃及斑蚊的特性與距離之相關性。由多次採得的埃及斑蚊之表型及 RAPD，推測是否有差異。

我們的調查結果顯示自四至十一月間高雄、台南兩市的埃及斑蚊之誘卵器的陽性率約為 40% - 75% 之間，誘卵器內斑蚊數與陽性率成正相關，在高雄市埃及斑蚊除八月外，均為優勢的蚊種。台南市在六月至九月間，白線斑蚊曾成為優勢的蚊種，十月以後埃及斑蚊增多已取得優勢之地位。台東市的誘卵器之陽性率稍低，其陽性率與斑蚊數亦呈正相關。斑蚊以白線斑蚊佔絕大多數。三個城市誘得之埃及斑蚊的鱗片形式 95% 以上是 CKM-1，即白色鱗片主要分布於第一腹節之背板。逢機聚合酶 DNA 的多形性 (RAPD-PCR) 則三個城市各自不同。由此推測孳生源之清除有效減少蚊子之散佈。

## 二、英文摘要

**Key words:** *Aedes aegypti*, population fluctuation, scale pattern, RAPD-PCR, banding patterns

*Aedes aegypti* L is a common species of mosquito of many residential areas in southern part of Taiwan. The larvae of this mosquito usually breed in various containers within or around the houses, and it adults has endophilic and endophagic habitats. Therefore, this mosquito becomes the main vector for dengue fever in these areas. Source reduction is an efficient and safe method in the control of *Ae. aegypti* and prevention of dengue fever transmission. This strategy may lead that production of *Ae. aegypti* carrying special genetic traits in natural populations because many of them are raised from a small group. Adults of *Ae. aegypti* approximately fly around within 50-100 meter. However, the availability of the oviposition sites may affect the moving distance of the females. In case the egg-laying sites are not available, the females may fly longer than this limitation. To investigate the genetic traits of mosquitoes in natural population could help us realizing the effects of source reduction on the ecology and behavior of *Ae. aegypti* in Taiwan. Central Mountain Range divides Taiwan into two main areas, western and eastern part, many organisms in these two areas are found to have distinguishable phenotypical or genotypic characters. This phenomenon may also occur in *Ae. aegypti*. In the project, *Ae. aegypti* was collected by setting ovitraps in Tainan, Kaohsiung and Taitung. We have examined the scale patterns for collected mosquitoes. Total DNA of mosquito was extracted individually and used as a template for random amplified DNA polymorphisms by polymerase chain reaction (RAPD-PCR) with 10-bp primers. The genetic variation is determined by the analyses of frequency of the scale patterns and the amplified fragments in each population.

Population density fluctuation had been shown during the period of investigation. A

positive correlation was also shown of ovitraps between the positive rate and number of eggs. Moreover, when a comparison was made for the number of patients and the positive rate of ovitrap, it also indicated a positive correlation. Most of the time, *Ae. aegypti* was a dominant species in Kaohsiung and Tainan. However, *Ae albopictus* was a predominant mosquito in Taitung. The scale pattern of the *Aedes aegypti* was found to be CKM 1 since the extra white scale only distributed in the first abdominal tergite. However, the mosquitoes from Taitung had more numerous white scale than that of Kaohsiung and Tainan. Different DNA banding patterns of mosquitoes were also derived by RAPD-PCR. The results showed that mosquitoes in each city had various banding patterns except the common bands, at the sizes of 1300 bp, 1100 bp and 500 bp. This indicated that *Ae. aegypti* contained special genetic traits due to the source reduction and pesticide application.

### 三、本文

登革熱自 1797 年以後便成為熱帶及亞熱帶地區最重要的病毒性傳染病 (Smith,1956)。近二十年間，在東南亞如印尼、泰國、馬來西亞、菲律賓等國家更是長期流行之地方性疾病(WHO,1995)。台灣在 1922-1945 年間曾數度大流行，大多數之情形都是自高雄開始逐漸向北蔓延至全島，此後近四十年未發生大流行 (葛,1989)。但 1981 年屏東縣琉球鄉之居民約有 80%感染登革熱 (謝等,1982; 林等,1986; 吳等,1986)，1987 年高雄有 1,387 名病例，1988 年高雄屏東等南部地區又有 10,420 名患者 (衛生署,1992)。1995 年在台北縣中和市(衛生署,1995 蘇和徐,1998)及台中市、1996 年在台北市亦出現本土性登革熱患者共約數百名之疫情(蘇及徐,1998)，1998-2000 年各地有又出現零星本土性登革熱病例。以近年來國人至東南亞旅遊之頻繁，登革熱流行之危機一直存在，因此登革熱及其病媒蚊之監測及防治一直是台灣地區公共衛生的重點之一。

埃及斑蚊及白線斑蚊是傳播登革熱二種主要之病媒蚊 (Gubler,1988)這兩種蚊蟲之幼期均易孳生於住宅內外之積水容器中 (Bancrofti,1906; Chen *et al.*,1971; 陸,1983; WHO,1986)。分析台灣地區近十五年來資料，埃及斑蚊在登革熱之流行方面有具有更為重要之地位，

調查顯示台灣之埃及斑蚊分布於北緯 24 度 50 分以南，由嘉義布袋以南，屏東縣恆春以北地區(Lien *et al.*,1966)。且沿海之鄉、鎮、市多於內陸之地區(Lien *et al.*,1992)。台灣地區前十年本土性登革熱疫區大多是有埃及斑蚊分布之地區，近五年北部亦有疫情傳出。調查顯示登革熱之流行與斑蚊密度指數有密切相關性(Hwang,1991 ; Hwang *et al.*,1995)。高雄市之斑蚊指數顯示埃及斑蚊較易於適應人口密集之地區，因而成為都市優勢種(Hwang and Hsu,1994)。1987 年至 1991 年台灣地區流行登革熱之疫區主要分布於台南、高雄、屏東。這些地區之患者住宅附近埃及斑蚊幼蟲指數均高於白線斑蚊。疫區患者住宅內採集成

蚊，埃及斑蚊約為白線斑蚊之七倍，此數據顯示埃及斑蚊屬內棲性蚊種，如果正值患者之病毒血症之時期，埃及斑蚊較易吸到帶病毒之血液(Hwang,1991; Hwang *et al.*,1995)。1987-1988 年在高雄之疫區內只有埃及斑蚊分離到登革熱之病毒（連，未發表資料）實驗室之傳病能力之研究顯示登革熱病毒在埃及斑蚊體內由唾液到達口吻及釋放出口吻之比例高於白線斑蚊 (Chen *et al.*,1993)。

埃及斑蚊之成蟲體色由黑色或褐色的幾丁質表皮與遍覆其上的鱗片所形成，由於鱗片有黑、銀白、白以及金色之差別，使成蟲體色有斑紋產生。腹部背板(abdominal tergum)以黑色的鱗片最多，但在每節之基端(basal band)與末端(apical band)由帶狀之白色鱗片形成帶狀；由於每節中段白色鱗片會數目不同，使腹部背板產生不同顏色。Mattingly (1957)便根據此一特徵區分出埃及斑蚊有下列三種形式(forms)，其形態以及在地球上分布情形如下：

(1) *Aedes aegypti aegypti* (以下簡稱 *Ae. a. aegypti*)

成蟲體色由淺至深棕色，腹部背板除了第一節具有白色鱗片之外，其他各節皆無白色鱗片。此型之埃及斑蚊分布於印度、馬來西亞、美洲沿太平洋地區、地中海沿岸。

(2) *Aedes aegypti formosus* (以下簡稱 *Ae. a. formosus*)

成蟲體色較深，其第一腹節背板除基端及末端外無白色鱗片存在，故體色較前者為黑。分布於非洲大陸之撒哈拉沙漠以南地區，北至蘇丹，此形式在南非僅零星分布於東海岸地區。

(3) *Aedes aegypti queenslandensis* (以下簡稱 *Ae. a. queenslandensis*)

腹部第一節背板基端之淺色帶延伸至後一節之前端形成近乎三角形，或連續性的中間軸線，在腹部其他部份之黑色鱗片夾著淺色之鱗片，或散布至腿節之黑色鱗片區，但個體間白色鱗片之數目變化很大，從少數幾片零星地散布在各節；至各節全為白色鱗片，均可檢查到。此型普遍分布於地中海沿岸、澳洲北部、美洲以及非洲沿海地區。這三個亞種在習性上亦不相同，*Ae. a. aegypti* 在亞洲之族群成蟲屬於家棲性，幼蟲孳生於住宅內或其周圍之容器內，但在其他地區亦

有野棲之特性，可以生長於各類型之天然積水區內。*Ae. a. queenslandensis* 則屬家棲性，在人們之住宅內或周圍產卵、發育及吸血。*Ae. a. formosus* 為野棲性，主要孳生於樹洞，發生的地點多與人類住宅距離很遠，也很少以人為吸血對象(Hill,1921; Lumsden, 1955; Mattingly,1956; Trips and Hauserman,1975; Mogi *et al.*,1989)。

台灣埃及斑蚊主要孳生於積水容器中，以前是以屋內儲水水缸為首，其密度的分布與住宅的種類有關(Chen *et al.*,1971)。其指數由高至低依序為貧民區商店及公寓。近年則偏向於輪胎，花盆，各式棄置的容器。台灣傳染病研究所(1986)報告顯示琉球鄉的容器內埃及斑蚊之幼蟲數本來高於白線斑蚊，但近年白線斑蚊有增加的趨勢，(Wang *et al.*,2000)。埃及斑蚊在高雄及屏東年高峰的時間略有不同，高雄之高峰期有二：5-7月及晚秋，屏東在6-7月及12月分別有一高峰期(陳,1989)。埃及斑蚊族群的消長與雨量、溫度呈顯著相關(黃,1991)分析登革熱流行與埃及斑蚊棲群消長呈顯著相關性，登革熱發生地區與埃及斑蚊密度呈顯著相關。稍早研究指出埃及斑蚊大部分為內棲性(Chen, 1971)，但近年來調查顯示埃及斑蚊有外生性增高之趨勢(Hwang and Hsu,1994)，由於都市化之發展，住宅周圍及建築空地中之各式容器、廢輪胎堆置點成為此蚊幼蟲主要孳生源，是1987-1991年南部地區登革熱發生疫區主要病媒蚊。埃及斑蚊比白線斑蚊更能適應都市化人口密集之地區，成為腦炎病毒之感受性不同，建立臺灣地區埃及斑蚊之族群結構乃成當務之急。

偵測同種生物不同族群間基因座之差異所用之方法有粒腺體限制酶譜(Kambhampati and Rai,1991)、DNA指印法(DNA fingerprinting)(Welsh and McClelland,1990)、聚合酶連鎖反應(簡稱PCR)(Mitchell *et al.*,1992)等方法，由於耐熱性聚合酶的開發及機器設計之改良及不需要使用放射性同位素等原因，使PCR之應用擴展到每個領域。其中方法之一的隨機增殖核酸多形性DNA(Random Amplified DNA-PCR, 簡稱RAPD-PCR)技術是1990年後研發之技術，是用G+C組成在60%以上之9-10核酸隨機排列而成的引子用到聚合

連鎖反應中(Welsh *et al.*,1991; Williams *et al.*,1990,1991)。此法之優點是只需極微量之 DNA 作為模板，即使為個體極小之生物亦可偵測個體間基因之差異。因為引子短，可能煉合到染色體多個片段上，故增幅後形成數個 DNA 片段組成之帶型，此技術已應用到數種昆蟲上(Black *et al.*,1992; Ballinger-Cratree, *et al.*,1992; Kambhampati *et al.*,1992; Puterka *et al.*,1993; Apostal *et al.*,1996，Gorrochotegue-Escalante *et al.*,2000, de Sousa *et al.*,2001)。此法另一特點是費時較短，且可同時偵測多個樣本。

登革熱是藉由埃及斑蚊及白線斑蚊吸血而傳播，目前台灣地區的埃及斑蚊發生於北迴歸線以南的縣市。病媒蚊指數顯示此蚊的發生與雨季有密切關係，其高峰多在雨季之後如每年之 5-10 月之間。此段時期也是國人來往東南亞之盛季，有鑑於鄰近的國家如菲律賓、泰國、緬甸、馬來西亞、新加坡，印尼等國登革熱病例每年有數千至數萬，登革熱由境外移入的機會很大。這些病患也極可能成為引發本土性登革熱的根源。

登革熱可能流行的區域內的埃及斑蚊通常有很強的家棲性，所以其孳生的環境與人類的住宅有關。它選擇的產卵的積水容器多位在住宅附近 100 公尺的範圍內。埃及斑蚊的卵之抗乾性不但是防治的一大困難，帶卵的各式容器也成為清除後再度入侵的來源。資料顯示不同地區的埃及斑蚊的傳病能力與其遺傳特性有關係 (Aitken *et al.*, 1977)。從 1979 –2000 年以同功異構酶的研究報告顯示埃及斑蚊有多型性存在 (Tabachnick and Powell, 1979, Powell *et al.*, 1980, de Sousa *et al.*, 2000)。用標記後釋放及再捕捉方法偵測埃及斑蚊成蟲的飛行距離約 50-500 公尺 (Sheppard *et al.*, 1969; Nayar 1981, Trips and Hausermann, 1986, Reiter *et al.*, 1995) 雌蚊及雄蚊為了吸血及交配，多在有人的地方活動 (Hartberg, 1971)。除此以外，雌性成蟲尋找產卵的行為可能成為決定此蚊分散的主要因素之一 (Reiter *et al.*,1995, Edman *et al.*, 1998)。

近年來，衛生及環保單位大力宣導孳生源的清除，由病媒斑蚊指數之調查顯示出此一措施對防治病媒及登革熱的傳播上產生了很大的成效 (Wang

et al., 2000)。此舉可能產生二個的現象：一、各地區的埃及斑蚊常是從少數個體繁殖出來的族群，所以各地的埃及斑蚊在各小區域形成的獨特的遺傳性之族群。二、因為雌蚊的產卵場減少，雌蚊為找尋產卵場迫使雌蚊的分散性擴大。調查各地區埃及斑蚊的特性可以推測各地族群的遺傳特性之異同埃及斑蚊分散的情形，而且可以了解及評估孳生源的清除對埃及斑蚊的生態習性及行為的影響。這些資料在分析登革熱的流行病學及的規劃病媒蚊的防治策略上均有很重要的意義。

故本計畫擬在台南市、高雄市，及台東市在適當距離內採集蚊蟲或設置誘卵器採集埃及斑蚊，進行鑑定此這些地區的表型特性，及遺傳特性及孳生源清除對埃及斑蚊的特性之影響。計畫中欲完成的工作項目包括：

- (一)、據其鱗片之表型特徵初步鑑定埃及斑蚊族群的差異。
- (二)、將埃及斑蚊各族群的每個樣本分別萃取其染色體核酸，以 30-40 組引子使用隨機增殖核酸多型性(RAPD-PCR)來偵測基因之差異，以鑑定各東，西兩個埃及斑蚊族群的特性之差異。
- (三)、比較孳生源清除前後，採得的埃及斑蚊之表型及 RAPD-PCR 是否有差異，並用卡方檢定推測與孳生源清除的相關性。



### (3) 材料及方法

#### 一、採集方法

為採集病媒蚊，我們在高雄市，台南市及台東市設置黑色誘卵器誘引雌蚊產卵，採集點之間的距離相隔五公里至 50 公里。記錄各採集點的其孳生環境。我們在高雄市的前鎮區，小港區及三民區共設置 45 個誘卵器，台南市的東區，南區，西區，北區，中區，安平區及安南區七個區設置 42 個誘卵器。產卵器內放入一張紙巾及清水。每星期將舊紙巾及水中的有幼蟲攜回實驗室，並放入新的紙巾。在實驗室內仔細計算舊紙巾所得之卵，然後加水讓幼蟲孵化，所有的幼蟲飼育至成蟲，鑑定其種類。屬於埃及斑蚊者先依下述的方法記錄鱗片及聚合酶快速核酸標記的形式。

#### 二、鏡檢

每一次每個採集點中所得之埃及斑蚊成蟲中逢機取出雌成蟲 20 隻，在其羽化後一天內在放大鏡下觀察及記錄其鱗片之形式，按白色鱗片之多寡及分布情形依 Hartberg *et al.*, (1986)之標準觀察其鱗片的形式隨後立刻個別冷凍於-70°C，每隻蚊子準備分開製備其染色體 DNA，以供作聚合酶快速核酸標記的檢定 (RAPD-PCR)之用。

#### 三、聚合酶快速核酸標記的檢定

##### 1. 製備染色體 DNA

本步驟是參考 Ballinger-Crabtree *et al.* (1992)之方法加以配合我們有之設備稍加修改而成。扼要說明如下：

每隻成蟲經-70°C冰凍 2-4 小時後，以微均質器磨碎，加入 300  $\mu$ l 之溶解液(其組成為 Tris-HCl pH 8 100 mM, NaCl 50 mM, EDTA 50 mM, SDS 1%, Sucrose 17%)，再加 5  $\mu$ l proteinase K (20mg/ml)，在 55°C 水浴中放置 1hr。再加上 43  $\mu$ l 之 KoAcetate 8M pH 8，在冰上放置 30 min.。在微離心機以 14000 rpm 離心 20 min.，保留上層液。再加入等體積之 phenol 於 4°C 輕搖 10 min.，再加入

等量 chloroform-IAA，以 14000 rpm 離心 5 min.，取上層液。重複一次 phenol/chloroform-IAA，去除殘留之蛋白質，加入 1/10 體積之 5M K-acetate (pH 5.6)，及 2 倍體積酒精，放置冰箱中 1 小時將 DNA 形成沈澱。取出以離心機用 14000 rpm 離心 10 min.，倒棄上清液加入等體積之 70%酒精沖洗再離心，保留下層物並於空氣中掠乾後加入 40-50  $\mu$ l 之 TE (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM)，取出少量(2  $\mu$ l)加水稀釋 50 倍後測 OD<sub>260</sub>。此染色體保存於冰箱中(4°C)備用保存。

## 2. 逢機增殖核酸多型性(RAPD-PCR)

本實驗將以 30-40 組引子進行 RAPD-PCR。反應之過程及放入成份如下：

1.取 50 ng 之染色體 DNA 加 2.5 mM dNTP (包含 dATP, dGTP, dCTP 及 dTTP)及合成的引子 15 ng/ $\mu$ l 及 2.5  $\mu$ l 10x *Taq* DNA polymerase buffer 及 0.5 units 之 *Taq* DNA polymerase，使每個反應之總體積達 25  $\mu$ l，上層加入 50  $\mu$ l 礦物油防止水分蒸發。

2.PCR 反應是以 Hybaid PCR 機器進行，反應所用程式：

94°C 4min. 1 次

94°C 1min.，36°C 1min.，72°C 2min. 45 次

72°C 5min. 1 次。

從所得的產物取 10  $\mu$ l 的溶液放入 1.5% 凝膠中，在電脈槽中以 50-volt 電壓跑 1-2 小時，再用 ethidium bromide 染色，在波長 254 nm 的紫外線不照相存檔。跑電泳時兩旁加入 100-2,000 bp 的標準 DNA 片段作為判定 RAPD-PCR 產物的參考。

## 三、分析方法

1、鱗片表型：在採集點的埃及斑蚊的各種鱗片形式的個體所佔比例(即頻度)用 SAS 中的鑑別性分析(discrimination analysis)及聚類分析是台南市及台東市的埃及斑蚊的差異。

2. 逢機增殖核酸多型 (RAPD-PCR)標記的分析：因凝膠電泳所看到逢機增殖核

酸多型 (RAPD-PCR)標記是許多的 DNA 片段，再現性高是很重要的。所以在選擇用於分析的 DNA 片段我們採用下列原則：

A、三次 PCR 出現的機率須大於 60%，一片段其大小之間差異不超過 50 bp。

B、同一採集點的不同的個體之間的機率須至少大於 60%。

合於以上原則者，才予採計。RAPD-PCR 所產生的 DNA 每個片段是代表一個基因座。兩地的蚊子在相同大小的 DNA 片出現則視為遺傳性相同 (similarity)。否則視為人同。經兩兩相比(pairwise comparison) 計算出相似指數 (similarity index)，相似性愈高者指數愈高者。由具有某一種 DNA 帶型的個體在所有樣本所的比例計算此類個體的頻率(frequency)，再用 RAPDBIOS (Black,1996) 估計基因頻率，由此可建構出分支圖。由逢機增殖核酸多型 (RAPD-PCR)標記的基因頻率是遵循孟德爾遺傳定律及哈溫平衡法則(Apostol et al., 1993. 1994)，所以以卡方分析法中相關性檢定它們距離的相關性(Wright, 1951; Weir and Cockerham, 1984; Lynch and Milligm, 1994; Excoffier, 2000)。逢機增殖 DNA 帶型的多型性 (random amplified DNA polymorphism-PCR, RAPD-PCR)

### (3) 結 果

由於衛生署及環保署的大力宣導民眾清除家中的積水容器，一般民眾都十分配合，所以孳生源不易尋找，我們乃在台南市及高雄市人口密度較高的的地區放置約 100 個誘卵器，每週取回誘卵器中所放置的產卵紙。一方面可引誘成蟲經常性產卵，以便取得實驗所需的材料。同時也可以大略了解斑蚊的消長，及其與病例發生的相關程度。

根據我們所的調查，高雄市，台南市及台東市這三個城市的誘卵器的陽性率其統計分析如圖一，圖二及圖三。高雄市自六月及七月後有升高的趨勢，其升高之幅度約有 20% - 30% 在七月底曾一度降到零，但一週後很快地回升到近 70%，八月份之調查均呈偏高之趨勢至九月初曾略為下降，十月份又再度上升，直到十一月份才又呈現下降之情形。南市全年中以六月中之陽性為最高，其他月份均在 30% - 60% 之間波動，九月、十月及十一月份才呈現下降到 40% 之情形由於台東市為非疫區，往返時間長，我們在九月底至十一月初在台東市放置 60 個誘卵器，平均陽性率為 40% 左右。我們也比較誘卵器與卵數之關係，兩者結果如圖四、圖五及圖六。多數情形誘卵器與產卵數之間呈正相關。

調查期間高雄、台南及高雄三市之誘卵器中埃及斑蚊及白線斑蚊之孳生情形不太相同，其結果如圖七、圖八及圖九。在高雄市之調查中，多數時間埃及斑蚊為優勢種，自六月~九月，白線斑蚊僅在六月下旬、七月至九月中及十月下旬有超過埃及斑蚊之情形。台南在調查前三個月曾經是台南之優勢種，自六月~九月白線斑蚊取而代之成為優勢種，此種情形自九月後又回復成為優勢種。由圖九來看，台東之斑蚊主要是埃及斑蚊孳生之比率及數目均很低。由於高雄市今年由於高雄市今年爆發十三年來最嚴重之登革熱疫情，我們也將前鎮、小港、三民等三區誘卵器之陽性率與病例發生作一比較，結果如圖十顯示兩者亦是正相關。

高雄市、台南市及台東市的誘卵器中採到之埃及斑蚊之腹部鱗片型式之調查結如表一。絕大多數均屬 CKM-1 即白色鱗片僅見於第一腹節之背板。第二腹節以後

除基帶外均為黑色鱗片。不過台東市之埃及斑蚊之第一腹節之白色鱗片特別豐厚。用聚合酶連鎖反應-DNA 帶之多形性 (RAPD-PCR) 來觀察高雄、台南及台東三個城市之埃及斑蚊之特性及其結果整理於表二及表三。表二可看到具有某一個 DNA 片段之個體之頻率。表三以頻率 30 % 為一標準，具有者以陽性代表低於 3 % 以陽性表示，除了 1300 bp、1100 bp、500 bp 為三市共有之 DNA 片段，其他三市之埃及斑蚊均不盡完全相同，由此可初步推測三市之埃及斑蚊均有其特殊之特性。

#### (4) 討 論

從我們的調查來看，斑蚊的消長在 40 % - 70 % 範圍內升降，孳生源的清除及藥劑的噴灑均可導致蚊蟲的減少，但一旦鬆懈防治的工作，在短期內即又增加。

為避免調查工作受到影響，我們放置誘卵器以接近民眾住宅之空間為主，由誘卵器平均產卵數值來看，斑蚊的族群密度可能不大，因此也可顯示防治工作之持續進行，仍然發揮了控制病媒蚊的數量。

由高雄市及台南市之斑紋種類來看，埃及斑蚊仍然是優勢的蚊種，這與埃及斑蚊之習性有關。埃及斑蚊遇到血源，會迅速地吸飽，因此繁殖能力較強。台南、高雄兩地之白線斑蚊幾乎在相同時期增高、其原因有待進一步的分析。

今年十月我們也同時在台東市設置誘卵器，結果發現台東市之埃及斑蚊之比率極低。我們也曾由台東北上都蘭、成功及花蓮，直接從孳生源採集蚊蟲帶回鑑定，結果全是白線斑蚊，也證實我們的假設，中央山脈減少埃及斑蚊向東分佈之機會，而埃及斑蚊再台東的零星分佈，其來源尚待釐清。從鱗片的分布上，我們發現高雄及台南之埃及斑蚊十分相似，台東之鱗片較為豐富，由逢機聚合酶 DNA 帶型之多型性來看，三個城市的埃及斑蚊各有其特性。由於我們所調查的高雄之前鎮、小港、三民三個區病例，在六月以後至十月間上升幅度很大，此段誘卵器之陽性率也呈較高之情形，因此誘卵器的確發揮了指標性作用。

## (5) 結論及建議

由於埃及斑蚊對都市環境已有極高之適應性，再有效安全的疫苗問世之前，登革熱的防治重點必須放在孳生源之清除及適量合理地運用殺蟲劑。設置誘卵氣勢一個監測病媒蚊變動很有效的方法，不僅可以評估孳生源清除的成效，也可以間接反映出殺蟲劑使用之狀況。

## (6) 參考文獻

- 行政院衛生署。1992。中華民國台灣省公共衛生概況。127 頁。
- 行政院衛生署。1995。民國 84 年台灣地區登革熱偵測年報。預防醫學研究所年報。8-9。
- 吳盈昌。1986。1981 年屏東琉球鄉之第二型登革熱流行。中華微免。10:203-211。
- 林和木、陳錦生、許清泉、鍾兆麟。1986。屏東縣琉球鄉登革熱病媒蚊密度調查。中華微免。19:42-47。
- 陳錦生。1989。登革熱病媒蚊之季節消長研究。行政院環境保護署第二屆病媒防治技術研討會論文集。29-42 頁。
- 陸寶麟。1983。白線斑蚊和埃及斑蚊防治研究第一集。105 頁。北京軍事醫學科學院微生物流行病研究所。
- 黃基森。1993。台灣登革熱流行區斑蚊生態集綜合防治。國立台灣大學植物病蟲害學研究所博士論文。151 頁。
- 葛應欽。1989。登革熱流行病學—登革熱在台灣之流行。高雄醫學科學雜誌。5:1-11。
- 謝維銓、陳明豐、許書刀、馬肇義、吳世勳。1982。1981 年在屏東琉球鄉流行的登革熱之研究。台灣醫誌。81:1388-1395。
- 蘇俞丞、徐爾烈、1998。登革熱防治北區服務團工作報告。高雄醫學科學雜誌。14:附冊 s58-s64。
- Aitken, T. H. G., W. G. Downes and R. E. Shope 1977. *Aedes aegypti* strain fitness for yellow fever virus transmission. Am. Trop. Med. Hyg. 26:985-989.
- Apostol, B. L., W. C. Black IV, B. R. Miller, P. Reiter and B. J. Beaty. 1993. Estimation of the number of full sibling families at an oviposition site using RAPD-PCR markers : applications to the mosquito *Aedes aegypti*. Theor. Appl. Gen. 86:991-1000.



- Apostol, B. L., W. C. Black IV, P. Reiter and B. R. Miller. 1994. Use of RAPD-PCR markers to estimate the number of *Aedes aegypti* families at oviposition sites in San Juan, Puerto Rico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 51 : 89 – 97.
- Apostol, B. L., W. C. Black IV, P. Reiter and B. R. Miller. 1996. Population genetics with RAPD-PCR markers : the breeding structure of *Aedes aegypti* in Puerto Rico. *Heredity.* 76 : 325 – 334.
- Ballinger-Crabtree, M. E., W. C. Black and B. R. Miller. 1992. Use of genetic polymorphisms detected by the random-amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) for differentiation and identification of *Aedes aegypti* subspecies and populations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 47: 893-901.
- Bancrofti, T. L. 1906. On the etiology of dengue fever. *Aust. Med. Gaz.* 25 : 17 – 18.
- Black, W. C. 1996. Fortran programs for analysis of RAPD-PCR data.  
([wcb4@lamar.colostate.edu](mailto:wcb4@lamar.colostate.edu))
- Black, W. C. IV., N. M. Duteau, G. J. Puterka, J. R. Neehols, J. M. Pottorini. 1992. Use of random amplified polymorphic DNA in polymerase chain reaction (RAPD-PCR) to detect DNA polymorphism in aphides. *Bull. Entomol. Res.* 82 : 151 – 159.
- Chen, W. J., H. L. Wei, E. L. Hsu and E. R. Chen. 1993. Vector competence of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera : Culocidae) to Dengue I virus on Taiwan : Development of the virus in orally and parentally infected mosquitoes. *J. Med. Entomol.* 30 : 524 – 530.
- Chen, Y. C. B. C. Ho. And K. L. Chan. 1971. *Aedes aegypti* L. and *Aedes albopictus* (Skuse) in Singapore 5. Observation in relation to dengue haemorrhagic fever. *Bull. Wld. Hld. Org.*

44 :651 – 658.

De Sousa, G. B., G. Aviles and C. N. Gardenal. 2000. Allozymic polymorphism in *Aedes aegypti* populations from Argentina. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 16: 206-209.

Edmen, J. D., T. W. Scott, A. Costero, A. C. Morrison, L. C. Harrington and G. G. Clark. 1998. *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) movement influenced by availability of oviposition sites. J. Med. Entomol. 35:578-583.

Excoffier, L. 2000. Arlequin, a software for population genetics data analysis (<http://anthro.unige.ch//arlequin>)

Gorrochotegui-Escalante, N. M. de Lourdes Munoz, I. Fernandez-Salas, B. J. Beaty and W. C. Black. 2000. Genetic isolation by distance among *Aedes aegypti* populations along the northeastern coast of Mexico. Am. J. Trop. Med. Hyg. 62: 200-209

Gubler, D. J. 1988. Dengue, pp223-260. In T. P. Monath (ed.), The arboviruses: epidemiology and ecology., vol. 2. CRC, Boca Raton, FL.

Hartberg, W. K., C. K. Meeks and K. R. William. 1986. A model for polygenic inheritance of abdominal tergal scale pattern in *Aedes aegypti*. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 2: 490-502.

Hill, G. F., 1921. Notes on some unusual breeding-places of *Stegomyia fasciata* Fabr. In Australia. Ann. Trop. Med. Parasitol. 15 : 19.

Hwang, J. S. 1991. Ecology of *Aedes* mosquitoes and their relationship with dengue epidemic in Taiwan area. Chinese J. Entomol. Special. 6 : 105 – 127.

Hwang, J. S. and E. L. Hsu. 1994. Investigations in the distribution and breeding habitats of dengue vectors in Kaohsiung City. Chinese J. Entomol. 14 : 233 – 244.

Hwang, J. S., H. H. Wu. and N. T. Chang. 1995. The breeding habitats of *Aedes*

- mosquitoes and the epidemic of dengue fever in Samin District, Kaohsiung City, Taiwan. *Chinese J. Entomol.* 15 : 215 – 225.
- Kambhampati, S., W. C. Black and K. S. Rai. 1992. RAPD-PCR of mosquito species and population ; techniques, statistical analysis and applications. *J. Med. Entomol.* 29 : 939 –945.
- Lien, J. C., P. Y. Hsieh. and H. M. Lin. 1966. On *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Taiwan. NAMRV-2 Symposium Taipei.
- Lien, J. C., Y. C. Wu., H. M. Hwang., C. L. Chung., T. Y. Yueh and L. C. Lu. 1992. Survey and control of dengue fever vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*, in Taiwan during 1987 – 1992. Dengue—A worldwide problem, a common strategy. Proceeding International Conference dengue and *Aedes aegypti* community based control. pp 185 – 195.
- Lumsden, W. H. R. 1955. An epidemic of virus disease in Southern Prouince, Tanganyika Jerrctory in 1952 – 1953. II : General description and epidemiology. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hgy.* 49 : 33.
- Lynch, M. and B. G. Milligan. 1994. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol.* 3 : 91 – 99.
- Mattingly, P. F. 1956. Species hybrids in mosquitoes. *Trans. R. Eut. Soc. Lmd.* 108 : 21.
- Mattingly, P. F. 1957. Genetical aspects of the *Aedes aegypti* problem I. Taxonomy and bionomics. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 51 : 392 – 408.
- Mitchell, S. E., S. K. Narang, A.F. Cockbun, J. A. Seawright and M. Goldenthal. 1992. Mitochondrial and ribosomal DNA variation among members of the *Anopheles quadrimaculatus* (Diptera : Culicidae) species complex. *Genome.* 35 : 939 –

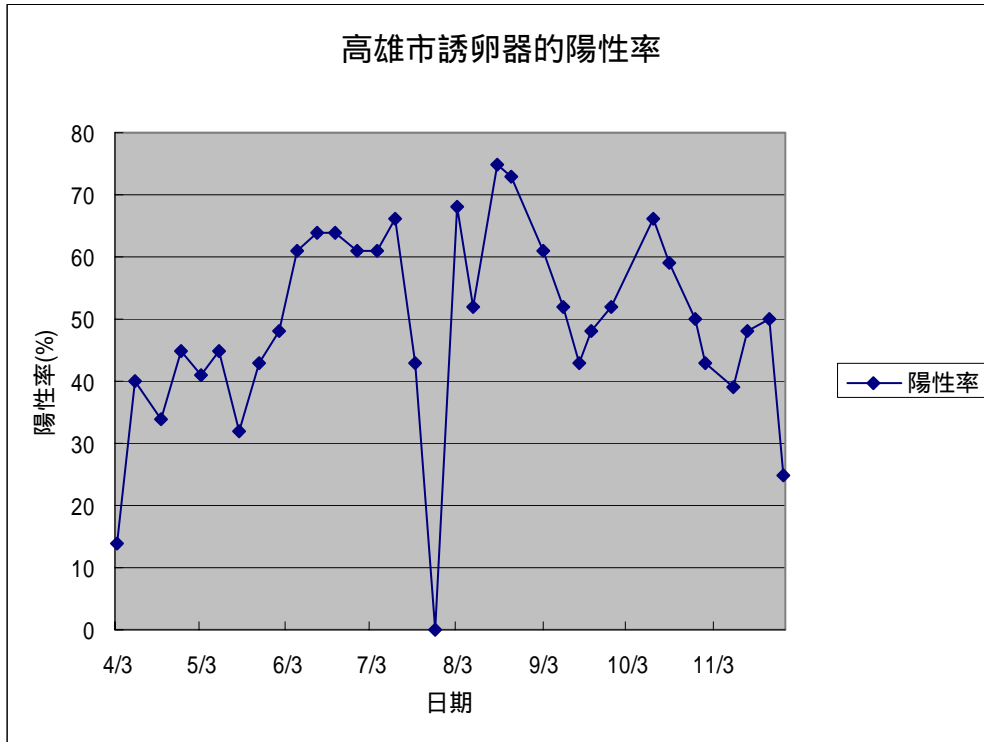
950.

- Mogi, M., W. Choochote, T. Okazawa, C. Khamboonruang and P. Suwanpanit. 1989. Scale pattern variations of *Aedes aegypti* in Chiang Mai, Northern Thailand. J. Am. Mosq. Con. Assoc. 5(4) :529 –533.
- Nayar, J. K. 1981. *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) observation on dispersalsurvival, insemination, ovarian development and oviposition characteristics of a Florida population. J. Fla. Anti-Mosq. Control Assoc. 7:52-55.
- Powell, J. R. and W. J. Tabachnick. 1980. Genetics and the origin of a vector population : *Aedes aegypti*. A case study. Science : 1385 – 1387.
- Puterka, G. J., W. C. Black IV, W. M. Steiner and R. L. Buston. 1993. Genetic variation and phylogenetic relationships among worldwide collections of the Russian Wheat Aphid. *Diuraphis moxia* (Mordvilko), inferred from allozyme and RAPD-PCR markers. Heredity. 70 : 604 – 618.
- Reiter, P., M. A. Amador, R. A. Anderson and G. G. Clark. 1995. Short report: Dispersal of *Aedes aegypti* in an urban area after blood feeding as demonstrated by rubidium-marked eggs. Am. J. Trop. Med. Hyg. 52: 177-179.
- SAS Institute 1998. SAS user's guide: statistics. Clary, NC. SAS institute.
- Sheppard, P. M. , W. W. Macdonald, R. J. Tonn and B. Grab. 1969. The dynamics of an adult population of *Aedes aegypti* in relation to dengue haemorrhagic fever in Bangkok. J. Anim. Ecol. 43:661-702.
- Smith, C. E. G. 1956. The history of dengue in tropical Asia and its probable relation to the mosquito *Aedes aegypti*. Med. Hyg. 59 : 243 – 251.
- Tabachnick and Powell, J. R. 1979. A world-wide survey of genetic variation in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. Genet. Res. Comb. 34: 215-229.
- Trips, M. and W. Hauserman. 1975. Demonstration of differential domesticity of

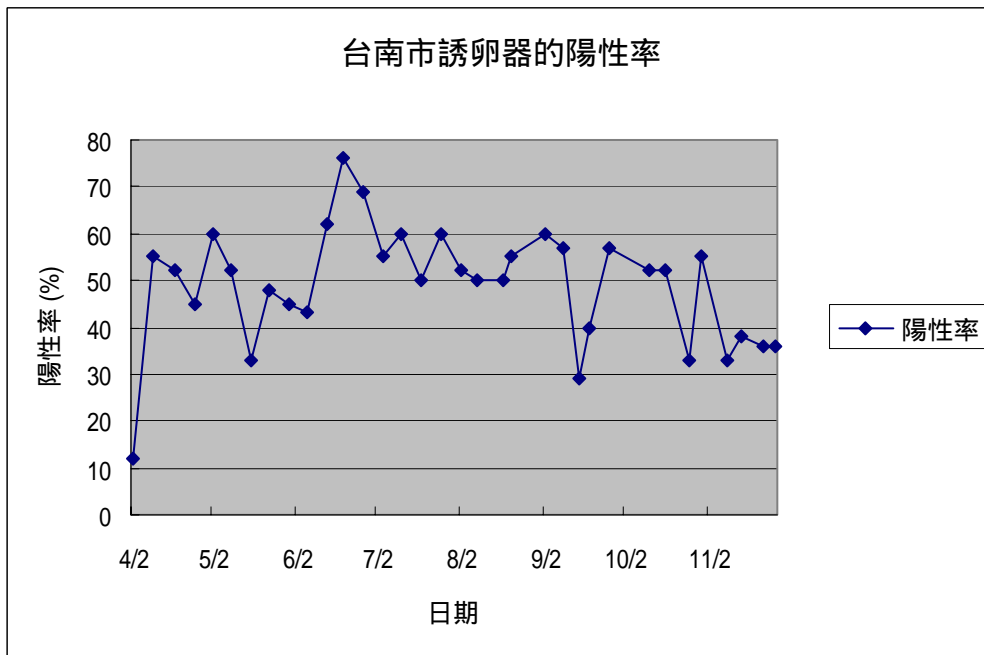
- Aedes aegypti* (L.) (Diptera : Culicidae) in Africa by mark-release-recapture. Bull. Entomol. Res. 65 : 199 – 208.
- Trips, M. and W. Hausmann. 1986. Dispersal and other population parameters of *Aedes aegypti* in an African fillage and their possible significance in epidemiology of vector-borne diseases. Am. J. Trop. Med. Hyg. 35: 1263-1279.
- Wang, C. H., N. T. Chang, H. H. Wu and C. M. Ho. 2000. Integrated control of the dengue vector *Aedes aegypti* in Liu-Chiu Village, Ping-Tung County, Taiwan. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 16: 93-99.
- Weir, B. S. and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution. 38 : 1358 – 1370.
- Welsh, J. and M. McClland. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acid Res. 18 : 7213 – 7218.
- WHO. 1986. Dengue and dengue haemorrhagic fever in South-East Asia region. WHO. Nkly. Epidem. Rec. 61 : 205 pp.
- WHO. 1995. Report of the consultation on key issues in dengue vector control toward the operationalization of a global strategy. WHO, Geneva, 6 – 10 June 1995.
- Williams, J. G. S., A. R. Kubelik, K. J. Livak, J. A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acid Res. 18 : 6531 – 6535.
- Williams, J. G. S., M. K. Hanafey, J. A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA marker. Methods Enzymol. 218 : 704 – 740.
- Wright, S. 1951. The genetic structure of populations. Ann. Eugen. 15 : 323 – 354.

(7) 圖，表

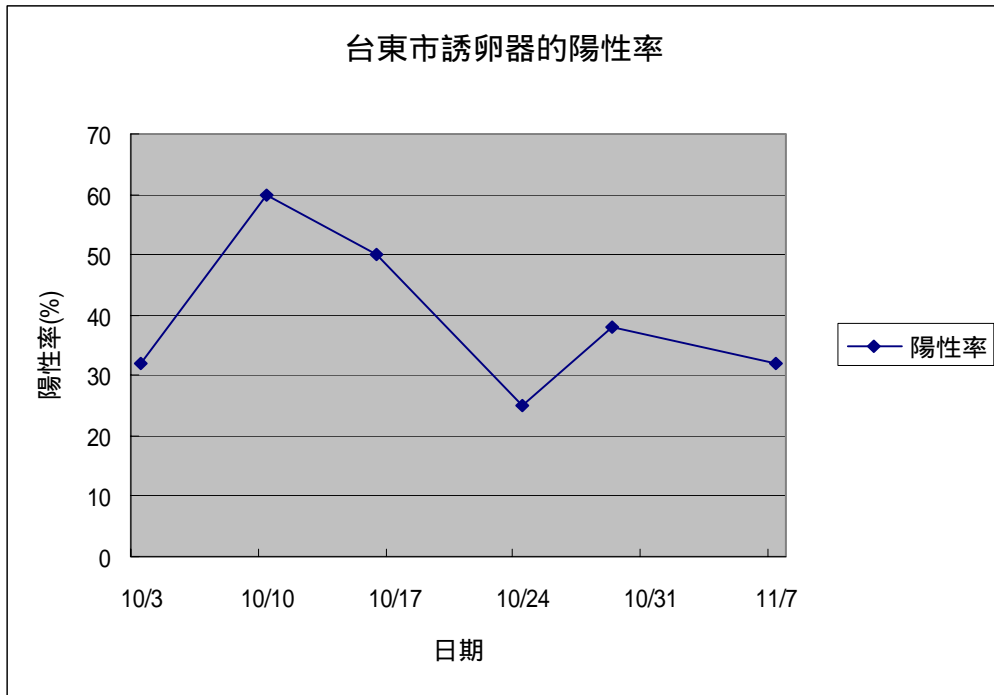
圖一、高雄市所放置的誘卵器中的陽性率



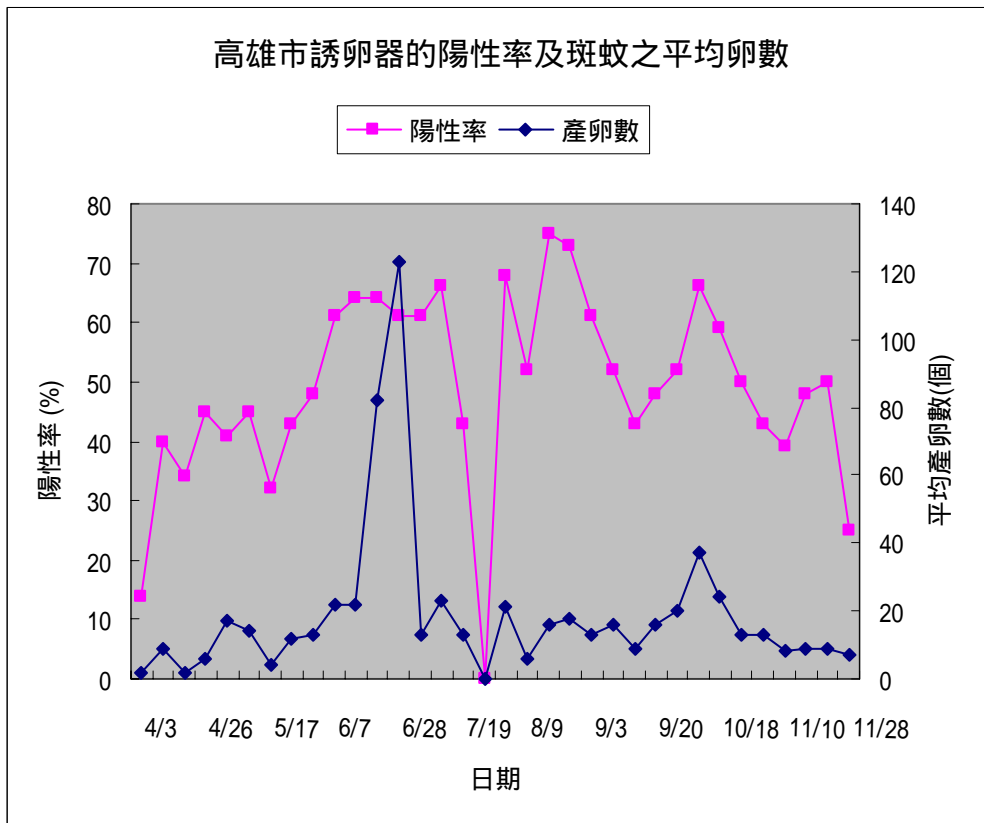
圖二、台南市所放置的誘卵器中的陽性率



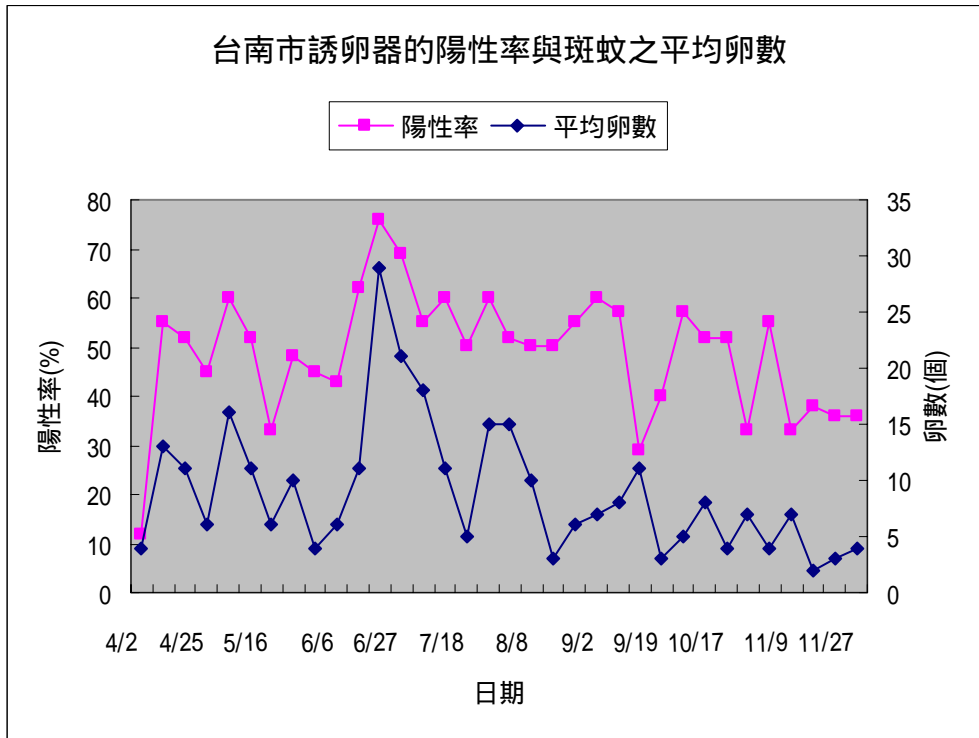
圖三、台東市所放置的誘卵器中的陽性率



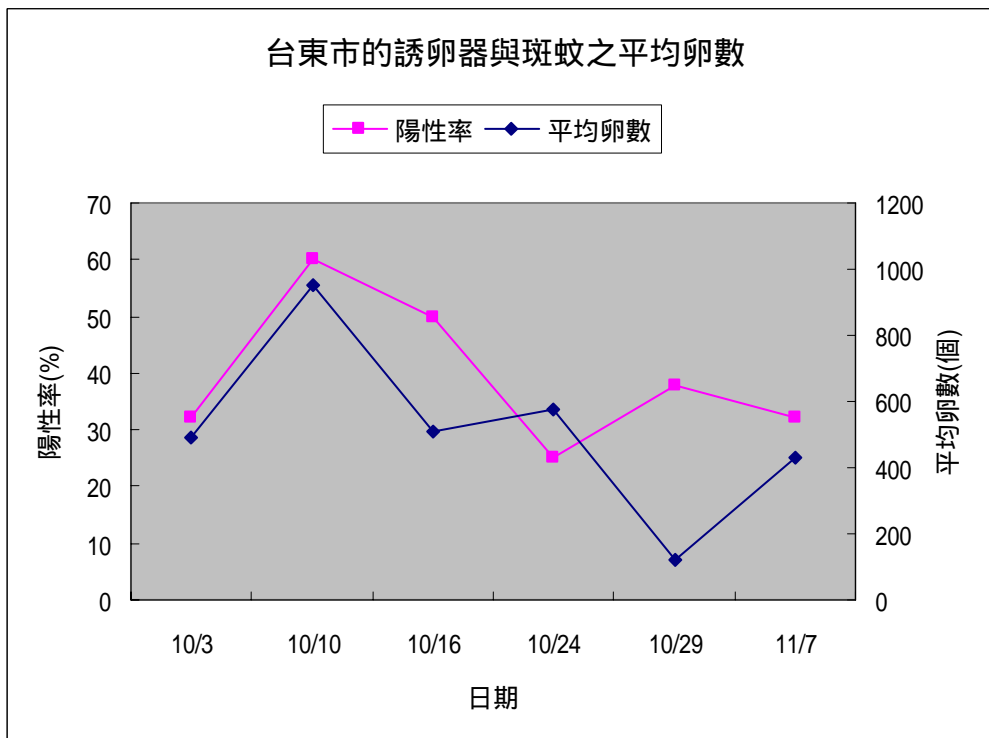
圖四、高雄市所放置的誘卵器的陽性率與斑蚊的產卵數之比較



圖五、台南市所放置的誘卵器的陽性率與斑蚊的產卵數之比較

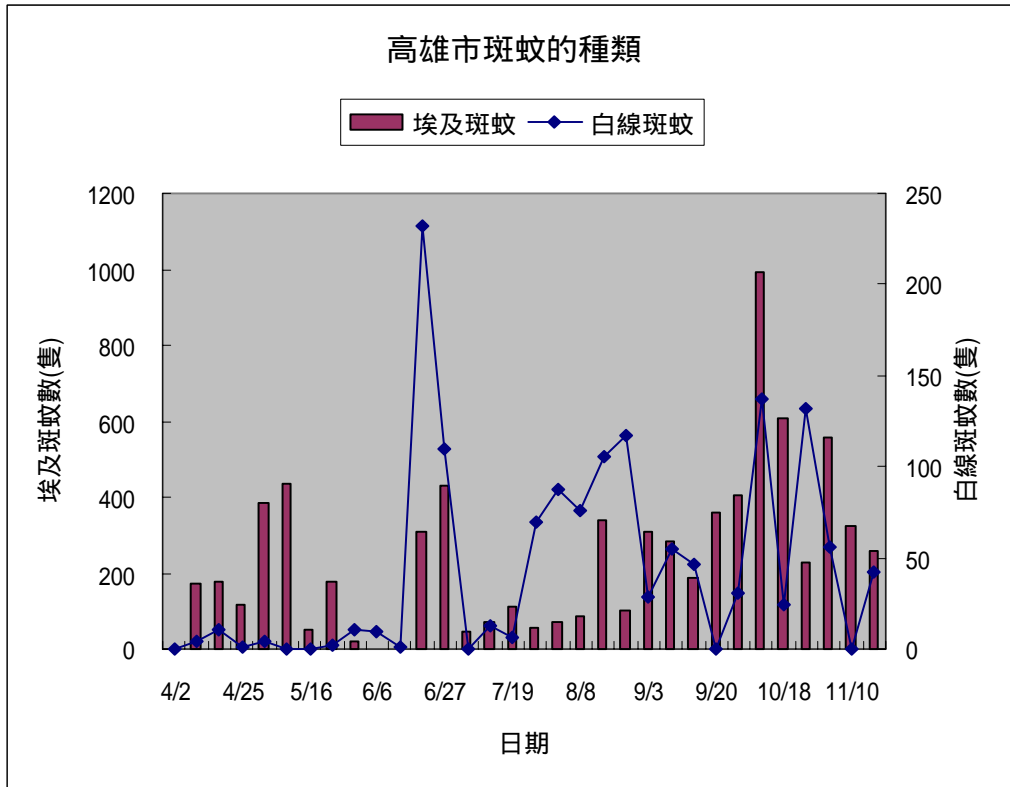


圖六、台東市所放置的誘卵器的陽性率與斑蚊的產卵數之比較

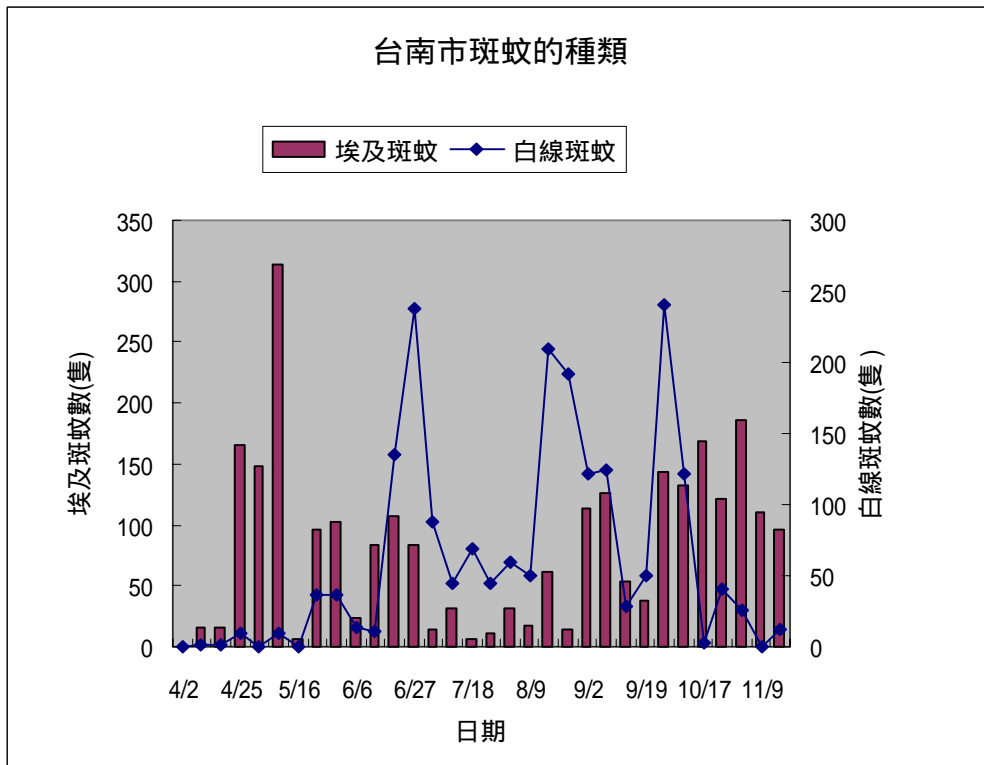




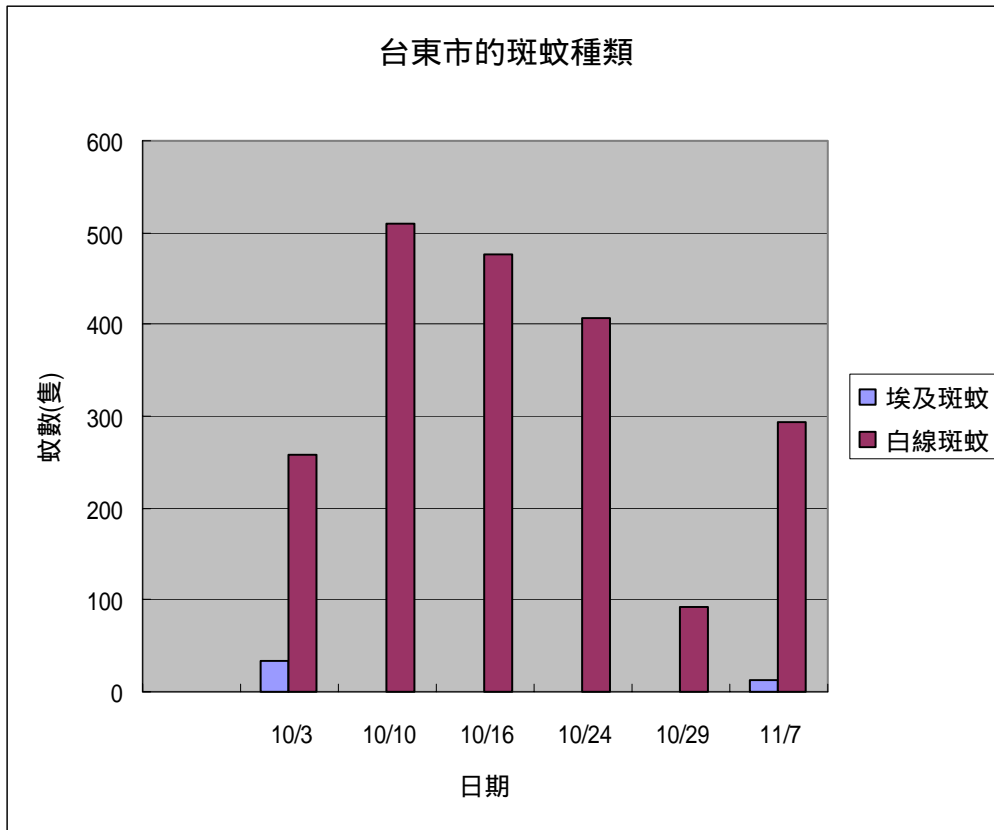
圖七、高雄市的誘卵器中埃及斑蚊及白線斑蚊的孳生情況



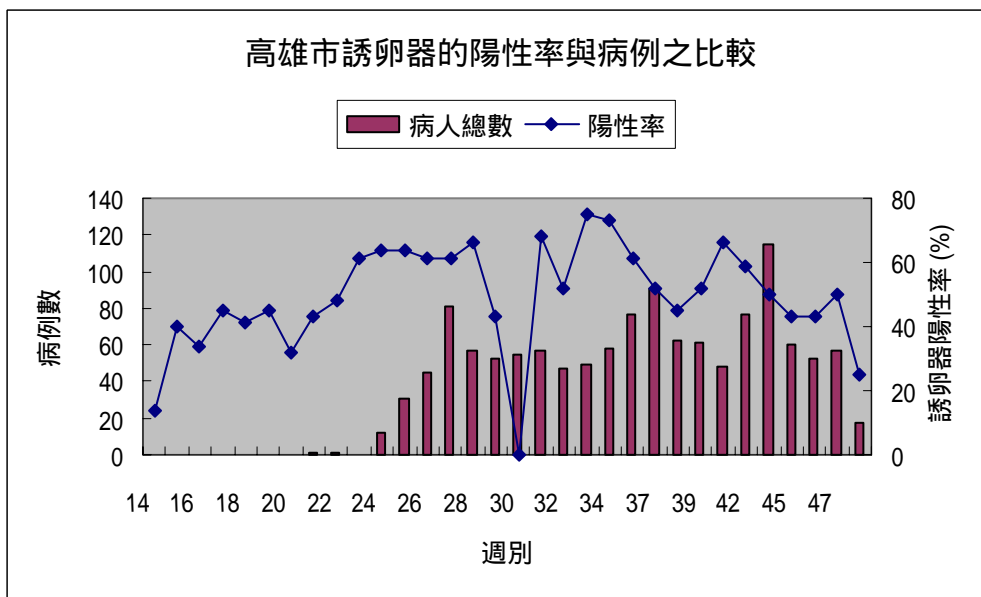
圖八、台南市的誘卵器中埃及斑蚊及白線斑蚊的孳生情況



圖九、台東市的誘卵器中埃及斑蚊及白線斑蚊的孳生情況



圖十、高雄市的誘卵器的陽性率與登革熱患者的比較



表一、 高雄市，台南市及台東市的埃及斑蚊的鱗片型式

鱗片型式	高雄市		台南市		台東市	
	雌性(%)	雄性(%)	雌性(%)	雄性(%)	雌性(%)	雄性(%)
CKM 1	98	99	98	99	98	99
CKM 2	1	1	1	1	1	1
CKM 3	1	1	1	0	1	0
合計	100	100	100	100	100	100

表二、高雄市，台南市及台東市的埃及斑蚊的逢機聚合 DNA 多型性

(RAPD-PCR)的帶型 (一)

引子 A2	片段 (bp)	個體 (%)			引子 B3	片段 (bp)	個體 (%)		
		高雄 市	台南 市	台東 市			高雄 市	台南 市	台東 市
	2600	0	0	0		2600	21	0	40
	2500	0	0	0		2500	5	0	40
	2400	0	0	0		2400	5	0	0
	2300	5	25	0		2300	16	0	0
	2200	29	13	0		2200	16	14	10
	2100	10	63	0		2100	58	29	50
	2000	33	38	0		2000	16	0	70
	1900	10	0	0		1900	0	0	60
	1800	43	0	0		1800	5	0	0
	1700	48	25	10		1700	11	29	0
	1600	19	50	0		1600	11	14	20
	1500	76	38	10		1500	11	43	30
	1450	10	38	20		1450	26	43	0
	1400	24	13	60		1400	53	29	10
	1350	5	0	0		1350	26	0	0
	1300	67	75	60		1300	11	0	10
	1250	0	13	20		1250	0	0	0
	1200	38	25	20		1200	47	71	0
	1100	100	75	60		1100	47	0	90
	1050	0	25	30		1050	0	14	0
	1000	0	0	10		1000	0	29	10
	950	0	13	0		950	0	0	0
	900	14	13	0		900	37	14	70
	850	19	25	80		850	11	0	0
	800	100	13	60		800	37	29	100
	750	5	63	50		750	32	29	0
	700	5	0	0		700	26	43	30
	600	10	0	0		600	63	14	0
	500	10	0	0		500	58	43	100
	400	0	0	0		400	68	100	0

表三、高雄市，台南市及台東市的埃及斑蚊的逢機聚合 DNA 多型性

(RAPD-PCR)的帶型 (二)

引子 A2	片段 bp	陽性 (+)/陰性(-)			引子 B3	片段 bp	陽性(+)/陰性(-)		
		高雄 市	台南 市	台東 市			高雄 市	台南 市	台東 市
	2600	-	-	-		2600	-	-	+
	2500	-	-	-		2500	-	-	+
	2100	-	+	-		2100	+	-	+
	2000	-	-	-		2000	-	-	+
	1800	+	-	-		1800	-	-	-
	1700	+	-	-		1700	-	-	-
	1600	-	+	-		1600	-	-	-
	1500	+	-	-		1500	-	+	+
	1400	-	-	+		1400	+	-	-
	1300	+	+	+		1300	-	-	-
	1200	+	-	-		1200	+	+	-
	1100	+	+	+		1100	+	-	+
	1000	-	-	+		1000	-	-	-
	900	-	-	-		900	+	-	+
	800	+	-	+		800	+	-	+
	700	-	+	+		700	-	+	+
	600	-	-	-		600	+	-	-
	500	-	-	-		500	+	+	+
	400	-	-	-		400	+	+	-

封面	
一、中文摘要	( 1 )
二、英文摘要	( 2 )
三、本文	
(1) 前言	( 4 )
(2) 材料及方法	( 9 )
(3) 結果	( 12 )
(4) 討論	( 14 )
(5) 結論與建議	( 15 )
(6) 參考文獻	( 16 )
(7) 圖，表	( 22 )

共( 29)頁