

狩猎庫蚊生理年齡与班氏絲虫传播关系*

何桂銘 容 瓊

(中山医学院寄生虫学教研组)

国内外絲虫病之研究資料甚多，其中涉及蚊方面之內容亦屢見不鮮，最近 Laurence (1963)更以阳性蚊体内所含各期絲虫幼虫比例推算出蚊之每日死亡率。唯自蚊之生理年齡來分析其与傳病关系者甚少，仅見于 Samarawickrema (1962) 及 Wharton (1959)。自苏联 Детинова 以卵巢小管膨大測定按蚊之生理年齡后，疟疾之有关流行病学研究得以深入发展，为防治該病提出許多有价值的資料。其后，学者們将此法应用于其他蚊种，亦証明以卵巢小管膨大數測定蚊子年齡在曼蚊 (Bertram & Samarawickrema, 1958)、庫蚊及伊蚊 (Colless, 1958) 均有重要意义。为此，我們进行了庫蚊生理年齡与其体内絲虫感染情况的研究，希借此对深入研究絲虫病流行病学有进一步的了解。我們的工作共分二部分，一部分是自實驗室觀察狩猎庫蚊能否自卵巢小管膨大確定蚊子年齡，第二部分是流行区蚊体絲虫感染情况調查。調查是在 1963 年 5—6 月在广东省阳江县平崗墟进行的。本文为根据實驗室材料及野外調查結果整理成的報告。

方 法

(一) 實驗室觀察 自野外孳生地取狩猎庫蚊蛹在實驗室羽化出成蚊。將成蚊分批入籠，飼養于室溫或相当于室溫之溫箱內，以小白鼠為食餌使之吸血。取出飽吸血液之蚊，喂葡萄糖水待血液消化。將血液消化完毕 (謝氏 VI—VII 期) 之蚊逐只放入含有少量池塘水之指管中，蓋以紗布使產卵；產卵后按批數及產卵次數分放入籠，照上法繼續進行第二、三、四次之吸血產卵。取部分產卵后 12 小時以上之蚊 (未再吸血者) 解剖，分離出卵巢，將卵巢小管逐條拉出，觀察卵巢小管膨大數，以確定與雌蚊在實驗室產卵次數之符合率。從實驗室觀察，我們最少觀察 15 條，最多觀察 61 條卵巢小管。但是，卵巢小管的數目均在 30 以內即出現合乎產卵次數之卵巢小管膨大數目。第四次產卵后之蚊不再使吸血，全部解剖觀察。觀察法為將卵巢放於一滴含有少量 1% 中性紅之生理鹽水中解剖，如此卵巢着紅色，卵巢小管內之顆粒着色尤深且反光，確定膨大數較迅速及準確。

(二) 野外觀察 蚊之來源為清早不加選擇地在墟鎮逐家人房捕捉的狩猎庫蚊。撫回實驗室經鑑定后，于即日上、下午解剖觀察。解剖之對象為全部吸血后不久，胃部仍具鮮血，卵巢未見明顯發育 (謝氏 II—III 期) 之蚊。解剖時將蚊編號，逐只蚊分離出卵巢，加中性紅生理鹽水解剖觀察卵巢小管膨大數，借此確定每蚊的生理年齡；並將各蚊之胃血，頭、腹及胸肌分別置於玻片上，在生理鹽水中撕碎，加蓋玻片檢查。其後逐蚊按編號登記結果 (包括蚊之生理年齡及絲虫幼虫感染情況)。

* 本文由陳心陶教授指導及審閱，謹此致謝；并由李樹桃同志參加部分采集及解剖工作。

本文野外現場觀察蒙廣東省陽江縣防疫站及陽江縣平崗衛生院多方協助，謹此致謝。

結果及討論

(一) 實驗室觀察 解剖實驗室飼養之不同生理年齡狩獵庫蚊產卵後情況，結果如表1。自表1可見，解剖之蚊其卵巢小管膨大數目之增加與蚊之生理年齡相符，即此情況與接蚊相同(Детинова, 1949)——每產卵一次，產卵後其卵巢小管即具一粒膨大，因此，不同年齡之蚊其卵巢小管膨大數目能代表產卵次數，故以卵巢小管膨大數目確定蚊之生理年齡，經實驗證明亦適用於狩獵庫蚊。但隨著蚊子生理年齡之增加，符合該產卵次數之卵巢小管膨大數目相應減少。例如第一次產卵者，其卵巢小管多具1粒膨大；而至第四次產卵後具4粒膨大者雖有但不多，有些解剖29個卵巢小管，其中有7個符合產卵次數，但也有解剖32個小管，僅有1個符合（32個為觀察數，但發現卵巢小管有4粒膨大者為在30個之前）。此可能為每次吸血後卵巢濾泡發育數量不同，Детинова (1955)曾在羽斑接蚊觀察到每次吸血後並非全部濾泡進行發育，不發育的濾泡在產卵後，其小管不具膨大。生理年齡較高之蚊，濾泡發育數量較少，產卵量亦少。因此產卵次數較多之蚊，其卵巢小管膨大數目之變化較大。此外，膨大數目亦因蚊種及每只蚊之個體差異而有不同。因此，解剖卵巢小管數必須較接蚊適當增加以能確切說明蚊齡，在狩獵庫蚊建議以30個為觀察每蚊之最低標準。

表1 實驗室觀察狩獵庫蚊卵巢小管膨大與生理年齡關係

產卵 次數	解剖卵巢 小管數(解 剖蚊數)	卵巢小管膨大數						卵管膨大 符 合 率 (%)	結 果
		0	1	2	3	4	其他		
一 次	1136(35)	92	1044					91.90	全部蚊符合生理年齡
二 次	226(6)	6	159	61				26.99	同 上
三 次	49(2)	1	22	21	5			10.20	同 上
四 次	548(18)	1	180	200	108	46	13 [△]	8.39	同 上

[△] 此13只为產卵後不久的卵巢小管

在觀察過程中，我們嘗試用 Colless (1958) 以顯微鏡在蓋玻片下直接觀察狩獵庫蚊卵巢小管的膨大，我們認為這種方法區分新羽化與已產卵雌蚊是可以的，但進一步確定已產卵雌蚊的產卵次數則不及解剖觀察卵巢小管準確。

實驗室飼養狩獵庫蚊每個生殖營養環所需時間：各批觀察結果與溫度之升降有很大差異，根據我們實驗室觀察初步結果，如果溫度在25°C左右時，半數以上的蚊經4日血液消化完畢產卵。一般產卵後至再次找到吸血對象時需經一定時間，故每個生殖營養環在25°C左右時約需4.5—5日。

以實驗室每個生殖營養環所需時間聯繫現場材料，按當時氣溫為21.1—33.3°C(五月)及22.6—34.3°C(六月)分析，一般吸血均在夜間進行，次日被捕解剖，如此計算其新羽化第一次吸血後的壽命，則第一次吸血後狩獵庫蚊在自然界生存之日期為一日，第二次吸血後為5.5—6日，第三次吸血則為11—12日，如果在外界日夜溫度相差較大，尋找產卵場所及吸血對象較困難時，則壽命當更較此數字為長。

(二) 野外蚊蟲觀察 解剖狩獵庫蚊1,121只，其中陽性217只(陽性率為19.36%)。所感染之各期幼蟲以微絲蚴期為最多，臘腸期、感染前期及感染期則依次遞減，且此分布

与蚊之生理年龄密切相关。自表2可见，新羽化第一次吸血之次日几全部阳性蚊仅见微丝蚴，其中仅一只含有刚形成的腊肠期，该只蚊为清早捕捉，午后解剖者，此情况符合微丝蚴入蚊体后发育至腊肠期所需时间。在第二次吸血后，即距其初次吸血5.5—6日后，此时初次吸入之微丝蚴已发育至腊肠期，甚至蜕皮后形成感染前期（此可能为寻找产卵场所或再次吸血对象过程之时间延长，致体内丝虫继续发育），而第二次吸血时吸入之丝虫幼虫则仍处于微丝蚴期，因此在第二次吸血后依丝虫幼虫进入蚊体之不同时间，我们在不同蚊体可見有微丝蚴、腊肠期或感染前期三种时期之幼虫，且自第二次吸血后，可見有混合感染不同期幼虫。而第三次吸血时除该次吸入微丝蚴外，由于此时至少距离初次吸血11—12日，前两次所吸入之丝虫幼虫则继续发育，因此在蚊体所見之丝虫幼虫除第二次所見之三种时期外，尚可在体腔甚至口吻見到甚活跃之感染期幼虫。此次现场观察材料以生理年龄计算蚊体丝虫幼虫发育时间，无论是微丝蚴、腊肠期、感染前期或感染期均与Kobayashi（1940）实验室观察班氏丝虫幼虫在狩猎库蚊体内之变化相符。但Lie（1960）调查结果，有些蚊虫其卵巢小管尚未见有膨大，体内即有感染期幼虫，我们认为很难想象这种情况有存在的可能。

根据我们的材料，可以看出随着蚊生理年龄的增加，蚊虫的丝虫阳性率亦相应上升（表2），而且此阳性率的上升也是有规律的。如：微丝蚴之感染率在各个生理年龄第一至第四次吸血后之蚊体中分别为13.66%、12.15%、15.62%及23.33%，根据统计分析 $\chi^2 = 5.624$, P在0.20与0.10之间，四者差异不显著。即每蚊不論年龄，当其吸血时均有同等之机会从病人血液吸到微丝蚴。由于阳性蚊所含微丝蚴之比例数相近，我们继之就发现到第二次至第四次吸血后，各年龄的感染腊肠期百分比分别为7.29%、6.70%及8.33%， $\chi^2 = 0.191$, P在0.90与0.95之间，差异不显著。同样自第三次及第四次吸血后，蚊体内含感染前期的百分比各为6.70%及10.0%， $\chi^2 = 0.7566$, P在0.50与0.30之间，差异不显著，而含感染期者则分别为2.33%及3.33%， $\chi^2 = 0.236$, P在0.70及0.50之间，差异亦不显著，说明皆具相近之数量。因此在第一次吸血后阳性率较低，此阳性率几乎即是微丝蚴之阳性率；第二次吸血后阳性率增加，所增之百分比主要由于腊肠期及少量感染前期，而第三次吸血后，则又比第二次吸血增加了感染前期及感染期。第四次以后之吸血，含幼虫之百分比仍在上升，此时我们可以发现由于蚊虫年龄之增加，吸血机会增加，感染机会亦多，因此蚊虫年龄越长，重复感染者亦多。

表2 阳江县野外采集的狩猎库蚊丝虫感染情况

生 理 年 龄	解剖 蚊数	阳 性 数 (阳性%)	含各期丝虫幼蚊数 (阳性%)				
			微丝蚴	腊肠期	感染前期	感染期	重复感染
未产过卵(初次吸血)	549	76(13.84)	75(13.66)	1(0.18)			
第一个生殖营养环完成(二次吸血)	288	57(19.79)	35(12.15)	21(7.29)	3(1.04)		2(0.69)
第二个生殖营养环完成(三次吸血)	224	60(26.79)	35(15.62)	15(6.70)	15(6.70)	5(2.23)	8(3.57)
*第三个生殖营养环完成(四次吸血)	60	24(40.00)	14(23.33)	5(8.33)	6(10.0)	2(3.33)	3(5.00)
	1121	217(19.36)	159(14.18)	42(3.75)	24(2.14)	7(0.62)	13(1.07)

* 包括第四、五个生殖营养环者 10 只

狩猎庫蚊感染班氏絲虫幼虫后，对蚊虫生存率的影响見表 3。根据我們的材料分析，以阳性雌蚊每經過一个生殖营养环的生存率計算，并以阴性蚊每經相应的一个生殖营养环的生存率为对照。阴性对照蚊为表 2 中每个齡期之解剖蚊数減去阳性蚊数。以此計算出在第一、二、三、四次吸血时阴性蚊数各为 473、231、164 及 30。以前后連接二次吸血蚊数求得百分比，即为每經過一个生殖营养环的生存率。如第二次吸血蚊数 231 与第一次吸血蚊数 473 之比，所得之 48.84% 即为經過第一个生殖营养环阴性对照蚊之生存率。以此类推其他，并按同理求得阳性蚊之生存率。唯計算阳性蚊生存率过程，为了解絲虫各幼虫期对阳性蚊各生理年龄之影响，我們仅以由于第一次吸血时吸入微絲蚴之蚊，根据幼虫在蚊体之发育过程来推算蚊經各个生殖营养环之生存率，故在第二次及以后各次吸血时而被感染者以及重复感染之蚊均不列入計算。按此要求，我們根据表 2 推算出未产过卵者，即第一次吸血时吸入絲虫幼虫者共 76 蚊。第二次吸血之蚊（該蚊已完成第一个生殖营养环）在第一次吸血吸入之絲虫幼虫已发育至腊腸期，甚至感染前期，故該次吸血之阳性蚊应仅包括含此二期之蚊（見表 2，前者为 21 只，后者为 3 只，即 24 只），唯其中有一只蚊含腊腸期及感染前期二期幼虫，故实际蚊数应減去此只，即 23 只。第三次吸血时，蚊体内之絲虫幼虫繼續发育至感染前期，甚至感染期，按上法推算，含感染前期之蚊为 15 只，含感染期者为 5 只，二者共計 20 只，此数应減去其中同时感染此二期者 2 只，故实际数应为 18 只。此数即为第一次吸血时之阳性蚊，經過二个生殖营养环后生存之蚊数。繼之計算出第四次吸血时阳性蚊体内之絲虫幼虫全部发育至感染期，故阳性蚊数即为表中之 2 只。以所得之每次吸血时之阳性蚊数，按照阴性对照蚊每个生殖营养环生存率之計算方法，即得出每个生殖营养环之阳性蚊生存率。

表 3 狩猎庫蚊生存率与絲虫感染及蚊齡关系

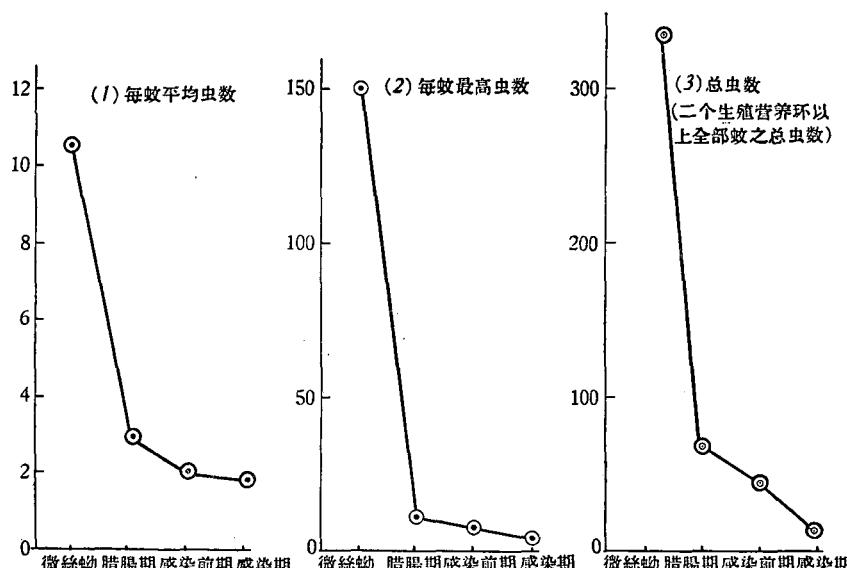
生 理 年 齡	阳 性 蚊 每 个 生 殖 营 养 环 生 存 率	阴 性 对 照 蚊 每 个 生 殖 营 养 环 生 存 率	率 差 异 显 著 性
新羽化至第一个生殖营养环完成	$\frac{23}{76} = 30.26\%$	$\frac{231}{473} = 48.84\%$	3.73 (差异显著)
第二个生殖营养环	$\frac{18}{23} = 78.26\%$	$\frac{164}{231} = 71.00\%$	1.06 (差异不显著)
第三个生殖营养环	$\frac{2}{18} = 11.11\%$	$\frac{30}{164} = 18.29\%$	0.95 (差异不显著)

調查的材料說明从新羽化經第一次吸血至第一次产卵后，阳性蚊經過第一个生殖营养环，当时体内之絲虫幼虫为微絲蚴发育至腊腸期，蚊之生存率为 30.26%，而阴性对照蚊为 48.84%，經統計学分析，两者差异显著，說明我們觀察的地区，絲虫幼虫在这个发育阶段对被感染的昆虫寄主的生存率是有影响的。但是經過第二个生殖营养环——在此期间幼虫从腊腸期发育至感染前期及感染期(无微絲蚴重复感染者)——阳性蚊之生存率与对照組差异不显著(二者各为 78.26% 及 71.00%)，說明对蚊之生存率无显著影响。第三个生殖营养环后，体内全部幼虫发育至感染期(无微絲蚴、腊腸期及感染前期重复感染者)，在此过程阳性蚊之生存率与对照組比較，差异亦不显著。自此結果看，我們認為班氏絲虫幼虫对蚊生存率的影响主要在于微絲蚴初入蚊之时，因此吸入微絲蚴后，蚊之死亡率增高，其后影响明显減少，甚至生存率与阴性蚊无明显差別。此情况与 Jordan 等(1962)之实验

室觀察相似，亦符合埃及伊蚊(Kershaw et al. 1953)及其他蚊虫受犬絲虫影响結果。在埃及伊蚊受感染后，前5日(微絲蚴至馬氏管过程)及感染期幼虫形成后死亡率高，而中間期間死亡率低。此外，蚊虫吸入其体内微絲蚴的数目亦直接影响于蚊之生存。

自每蚊感染微絲蚴期与其他各期数量比較，分析蚊对絲虫幼虫发育之影响，我們可看到：自阳性蚊每蚊平均虫数比較，具微絲蚴者平均每蚊含10.54条，携带腊腸期者仅为2.95条，携带感染前期及感染期者更少(各为2.08及1.86条)。另自感染蚊体各期之最高数量比較，含微絲蚴最多之一蚊有151条，而含腊腸期者最多只有12条，携带感染前期及感染期之蚊，虫之最高量各为8条及5条(图(1)、(2))。此外，我們还选择了經過二个生殖营养环以上的全部阳性蚊(因为此类蚊体内可具备各期的絲虫幼虫)，計算其体内絲虫数目之变化。結果，含微絲蚴总数为337条，腊腸期为68条，感染前期为45条，感染期为13条(參見图(3))。自以上各情况看來，微絲蚴入蚊后，在发育过程数量大減，虽然病人血中微絲蚴数达一定量时会致蚊死亡，这可能是由于微絲蚴入蚊体后随粪便排之于体外或被消灭。另外从自然界狩猎庫蚊之生理年龄看，随着蚊龄之增长，蚊数相应递減，因此，蚊之自然死亡过程，部分蚊体内絲虫幼虫亦必然随之消灭。自蚊体最高虫数看，携带微絲蚴者一般数量較多，唯发育至腊腸期时则最多只达12条，且一般只有1—4条，繼續发育过程，自每蚊平均数来看，变化似較平稳，唯仍逐漸減少。因此一旦微絲蚴入蚊体后，必有可能因蚊体之作用而部分死亡，此亦以初入蚊之短时內变化最大。待腊腸期形成后則似較适应，而彼此間之影响均較少。自图(3)我們还可以联系到幼虫之数量变化，且說明最后形成感染期之机会甚少。按材料分析，感染期幼虫与侵入蚊体之微絲蚴数目之比例为13:337(图(3)資料)即3.86%。虽然，这比例与当地病人血液含微絲蚴量、調查的季节及其他因素有关，但无可否認，微絲蚴入蚊体后，发育过程遇障碍甚多，极大量幼虫被消灭，形成感染期者只为极小部分。

潛在性传絲虫蚊与生理年龄的关系 自表2看來，解剖1,121只蚊中，携带感染期幼



虫者只为 0.62%，但均分布于生理年龄較高之蚊，即在第一、二个生殖营养环时叮咬人，由于蚊体該时无感染期幼虫，故不使人受感染；直至第三次吸血时才有可能将体内发育之感染期幼虫感染于健康者。若蚊子年龄較大时才吸入微絲蚴，则传播之时期更迟。因此，我們可以肯定传播絲虫在当时气候条件下具流行病学意义之狩猎庫蚊为第三个生殖营养环开始。我們解剖 1,121 只蚊，属此类者 284 只，即潛在性傳絲虫蚊为 25.34%。

狩猎庫蚊孳生地广泛，在我省广大农村适合狩猎庫蚊孳生之环境甚多。因此該蚊在全年虽有季节高峯，但各月均有一定数量，且此蚊与人关系密切，极嗜人血（蔡尚达等，1957），栖息人房。故只要有病人之环境，絲虫病就会通过狩猎庫蚊之叮刺活动而散播。在阳江携带感染期絲虫蚊占 0.62%，即每受叮咬百余次即有机会可能受感染，而潛在性傳絲虫蚊达 25.34%，說明受传染之威胁相当大。但自另一角度看，即感染性蚊之寿命及体内含感染期幼虫之数量（一般只有 1—2 条），两者能否保証蚊体内之感染期幼虫均能通过叮咬过程传播于人仍为一問題。

小 結

1. 自实验室飼养狩猎庫蚊的材料，証明該蚊卵巢小管的膨大数与产卵次数相符。随着蚊虫生理年齡的增加，卵巢小管膨大数的符合率則減少。根据实验觀察結果，每只蚊解剖觀察卵巢小管最少不应低于 30 个。

2. 自絲虫病流行地区人房捕捉狩猎庫蚊，觀察蚊之生理年齡与体内絲虫幼虫发育关系，結果微絲蚴至其后各期幼虫之发育时间与前人之实验室觀察情况相似。

3. 在阳江县取狩猎庫蚊 1,121 只解剖，阳性者 217 只，阳性率为 19.36%。阳性率在各个生理年齡之蚊非均匀分布。但由于吸血次数增加，得感染之机会亦因之增加，因此感染率是随蚊子年龄增大而上升的，第一次吸血者感染率为 13.84%，第二次吸血者为 19.79%，第三次吸血者为 26.79%，第四至六次者为 40.0%。携带成熟感染期幼虫之机会也因此而有不同，直至第三次吸血时才有可能将所携带之感染期絲虫幼虫传播于人。

4. 分析絲虫幼虫与蚊二者之相互关系。初步認為在感染初期無論是絲虫对蚊或蚊对絲虫影响均較大，經過一个生殖营养环后，蚊之生存率与阴性蚊无大差异，每蚊体内之虫数亦相对稳定。

参 考 文 献

- 蔡尚达等 1957 广州市流行性乙型脑炎媒介的研究。微生物学报 5:369。
 Bertram, D. S. & W. A. Samarawickrema 1958 Age determination for individual *Mansonioides* mosquitoes. *Nature* 182:444.
 Colless, D. H. 1958 Recognition of individual nulliparous and parous mosquitoes. (Correspondence) *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 52:187.
 Jordan, P. & K. D. Goatly 1962 Bancroftian filariasis in Tanganyika: A quantitative study of the uptake, fate and development of microfilariae of *Wuchereria bancrofti* in *Culex fatigans*. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 56:173.
 Kershaw, W. E. et al. 1953 Studies on the intake of microfilariae by their insect vectors, their survival and their effect on the survival of their vectors. I. *Dirofilaria immitis* and *Aedes aegypti*. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 47:207.
 Kobayashi, H. 1940 On the development of the Microfilaria bancrofti in the body of the mosquito (*Culex fatigans*). *Acta Jap. Med. Trop.* 2:63.

- Laurence, B. R. 1963 Natural mortality in two filarial vectors. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 28:229.
- Lie, K. J. et al. 1960 *Wuchereria bancrofti* infection in Djakarta, Indonesia. A study of factors influencing its transmission. *Ind. Jour. Malar.* 14:339.
- Samarawickrema, W. A. 1962 Follicular relics in wild-caught *Culex fatigans* Wiedemann in Ceylon. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 27:637.
- Wharton, R. H. 1959 Age determination in *Mansonioides* mosquitoes. *Nature*. 184:830.
- Детинова, Т. С. 1949 Физиологические изменения яичников у самок *Anopheles maculipennis*. *Мед. Паразит* XVIII:410.
- Детинова, Т. С. 1955 Плодовигость обыкновенного малярийного камара *Anopheles maculipennis*. *Мед. Паразит* XXIV:6.

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE PHYSIOLOGICAL AGE OF CULEX FATIGANS AND ITS TRANSMISSION OF WUCHERERIA BANCROFTI

Ho KWEI-MING AND JUNG KUAN

(Chung Shan Medical College)

This paper deals with the physiological age of laboratory-reared *Culex fatigans* as determined by the change of ovarioles and its bearing on the transmission of *Wuchereria bancrofti* in the endemic area.

The changes of ovarioles of *C. fatigans* after ovulations were observed and recorded. The results show that there was no dilatation (follicular relic) of the ovariole in the nulliparous, and after each ovulation there appeared one dilatation in the majority of ovarioles. So the maximal number of follicular dilatations agreed with the physiological age of the mosquitoes. However, there shows the tendency that the older the physiological age the lower the coincident rate of the follicular dilatations with the former. Judging from the analysis on the data so far obtained, it is suggested that in each dissected mosquito not less than 30 ovarioles should be examined to ensure reliable results.

In the endemic area of bancroftian filariasis, newly engorged *C. fatigans* were caught from human habitations in the morning, and dissected on the same day. A total of 1,121 females were dissected, of these 217 or 19.36% were found infected. The infective rate of the nulliparous was 13.84%; of the parous with one dilatation, 19.79%; with two dilatations, 26.79%; with three to five dilatations, 40.0%. Obviously, the infective rate rose as the physiological age increased. As early as after the third engorgement the infective bancroftian larvae were already formed. It seems that mosquitoes may be potentially dangerous after the second gonotrophic cycle, and that biting prior to this is probably epidemiologically insignificant.

An analysis of the host-parasite relationship between the development of the *W. bancrofti* larvae and the gonotrophic physiology of the mosquito was made and discussed.