

# 台中地區蚊類及街犬感染犬心絲蟲之調查

鍾成侑<sup>1</sup> 張時獻<sup>1</sup> 董光中<sup>2</sup> 李衛民<sup>2</sup> 鄭豐邦<sup>2</sup> 杜武俊<sup>4</sup>  
曾秋隆<sup>2</sup> 鍾楊聰<sup>2</sup> 王俊秀<sup>2</sup> 周明智<sup>3</sup> 王凱淞<sup>1\*</sup>

## 摘要

目的：本研究自2002年三月至2004年九月，針對台中地區犬心絲蟲寄生病媒蚊的感染率進行研究調查。

方法：研究初期，創建一套生物性誘蚊捕集器，誘集不同時間出沒之蚊種，以顯微鏡解剖或貝氏分離幼蟲法檢查病媒蚊。以誘蚊產卵方式調查病媒蚊之族群數量。所收集之街犬血液以血液厚片篩檢、PCR及Nested PCR進行確定檢測。

結果：主要之蚊種為熱帶家蚊(87.75%)，其次為糠蚊(11.83%)及白線斑蚊(0.42%)。結果於1,877隻熱帶家蚊及9隻白線斑蚊中未檢出犬心絲蟲微絲蟲，兩者帶原率為0。日間病媒蚊誘集方面，白線斑蚊的成蟲誘集數量明顯偏低，誘蚊產卵方式調查病媒蚊之族群數量，其調查結果至目前為止誘蚊產卵率為0。另外於台中地區所捕獲之32隻街犬，進行血液厚片鏡檢結果，血液中含有微絲蟲的數量為0，街犬全血萃取DNA進行PCR檢查結果有2隻呈陽性反應，感染率為6.25%，Nested PCR檢測結果有8隻呈陽性反應，感染率為25%。

結論：台中地區為街犬犬心絲蟲高陽性率，但血液中微絲蟲低帶原率，導致病媒蚊感染率偏低。

關鍵詞：誘蚊捕集器、病媒蚊、街犬、犬心絲蟲

<sup>1</sup> 中山醫學大學 健康管理學院 公共衛生學系

<sup>2</sup> 國立中興大學 獸醫學院 獸醫學系

<sup>3</sup> 中山醫學大學 醫學院 醫學系

<sup>4</sup> 國立中興大學 農業暨自然資源學院昆蟲學系

\* 通訊作者：王凱淞

通訊地址：402 台中市南區建國北路一段110號

電話：04-24730022 轉 11799



## 前言

犬心絲蟲為一人畜共通傳染病<sup>[1]</sup>，藉由家蚊屬(*Culex* spp.)、斑蚊屬(*Aedes* spp.)及瘧蚊屬(*Anopheles* spp.)等病媒蚊傳播<sup>[2,3]</sup>。此類病媒蚊皆存在台灣本土<sup>[4]</sup>；其最主要帶原之病媒蚊為熱帶家蚊(*Culex quinquefasciatus*)<sup>[5]</sup>。早期犬心絲蟲只被認為分佈於溫暖的沿海地區，至今犬心絲蟲證明也能夠存在於島嶼及寒冷氣候中<sup>[6]</sup>。台灣地處於亞熱帶地區、溫暖潮濕，平均溫度約在25°C，屬於病媒蚊最適生存環境<sup>[4]</sup>，而台中市一年之中，熱帶家蚊雌蚊族群之高峰期出現在10至隔年4月<sup>[7]</sup>，Lai等(2001)在1997-1998年於台中地區針對熱帶家蚊感染犬心絲蟲所做之調查發現，熱帶家蚊感染率為4.28%、白線斑蚊為3.74%<sup>[8]</sup>。顯示冬春季時，熱帶家蚊為台中市街犬感染犬心絲蟲之重要病媒，然而季節因子影響街犬與病媒之相關性仍未釐清。

郭等(1995)針對台北市夏季棄犬感染犬心絲蟲症調查發現，陽性率為53.3%<sup>[9]</sup>，Wang(1997)調查台灣北部地區街犬心絲蟲症，其陽性率高達55%<sup>[10]</sup>。顯示，台北地區流浪犬感染率正不斷提升中。梁(1996)針對台北市寵物犬週邊血液含犬心絲蟲之調查發現陽性率為5.5%<sup>[11]</sup>，Fan(2001)之調查發現陽性率為13.8%<sup>[12]</sup>，顯示台北地區寵物犬心絲蟲感染率也正提升中。台中市地區，楊等(1987)對中興大學家畜醫院之患犬所做微絲蟲檢驗之陽性率為16.8%<sup>[13]</sup>，丁(1995)於台中市進行流浪犬收容所之街犬感染犬心絲蟲調查，陽性率為70.2%<sup>[14]</sup>。台中市地區最近研究報告中發現，1999年流浪犬患有犬心絲蟲之感染率為55.9%<sup>[15]</sup>。2001年流浪犬心絲蟲感染之陽性率為53.6%<sup>[16]</sup>。

國外感染犬心絲蟲症人畜共通疾病之

研究調查報告顯示，在歐洲有超過270個感染絲狀蟲症的人畜共通病例，其中有10例為犬心絲蟲症<sup>[2]</sup>。美國喬治亞州紀念醫學中心之外科、放射科及病理學科，於1992、1995及1996年共發現四個患有犬心絲蟲的病例<sup>[17]</sup>，在澳洲的Fremantle醫院胸腔心臟外科，也曾有一病例報告<sup>[18]</sup>，Sringfellow等(2002)在澳洲Westmead醫院傳染病及微生物學科會發現一絲狀蟲症病例感染於患者之眼窩<sup>[19]</sup>。台灣本島於1993年，台北榮民總醫院發現第一例感染犬心絲蟲症病例<sup>[20]</sup>，於2003年，台北孫中山癌症中心也發現台灣第二位病例<sup>[21]</sup>。可見犬心絲蟲症為一發生率持續上升中之全球性人畜共通傳染病。

## 材料與方法

### 1. 鍾氏誘蚊捕集器

鍾氏誘蚊捕集器(Chung's mosquito trap)每組材料包括一個長18cm、寬18cm、高76cm的支架，一個風扇，一個網袋，一個蓄電池，一組定時器，長爪沙鼠(*Meriones unguiculatus*)兩隻，捕鼠籠一個。首先將支架組合，再將風扇裝於側面，並套上網袋，風扇之電源接於定時器，定時器預先設置在開3分鐘關5分鐘，定時器再接上電源，將鼠籠放入兩隻長爪沙鼠，並將鼠籠以開口朝上的方式插入支架頂端，使鼠籠底部與風扇最下緣切齊，誘蚊捕集器之設置；兩組捕集器需間隔10公尺以上。

### 2. 病媒蚊之捕集及檢驗

病媒蚊捕集時間：夜間為20:00至隔日8:00，日間則為8:00至18:00，每次捕蚊使用一至兩組鍾氏誘蚊捕集器，於台中地區9處進行捕蚊，分別為大度山(E: 120°34'47" N: 24°08'37")、高工路(E: 120°39'



38" N: 24°06'46")、文化中心(E: 120°39'54" N: 24°08'24")、街犬收容所(E: 120°39'15" N: 24°08'04")、長青公園(E: 120°40'12" N: 24°10'19")、中山公園(E: 120°41'04" N: 24°08'34")、大坑(E: 120°34'46" N: 24°08'52")、大里立人高中(E: 120°41'27" N: 24°06'24")、崇倫國中(E: 120°39'28" N: 24°7'57")，其中大坑及大肚山地區分類為郊區，其他為台中地區，每處誘蚊捕集為三重複以上。捕蚊9處地點中，除大里立人高中外，皆依照台中市行政區域劃分。

當捕獲之蚊子數目小於80隻時，解剖蚊子所使用的材料有解剖顯微鏡一台，每三隻蚊子使用一片載玻片，解剖鑷子兩支，碎冰及食鹽水。首先將剛捕到之蚊子冰於4°C冷藏5-60分鐘，待蚊子皆冰昏後，將之全部倒入碎冰，使蚊子保持麻醉狀態，並一隻一隻挑起，每個載玻片上先滴上三滴食鹽水分散在載玻片上，每滴食鹽水上放入一隻蚊子，於顯微鏡下，用解剖鑷子開始解剖檢驗。

### 3. 貝氏分離幼蟲法(Baermann's method for isolating nematode larvae)

當捕獲之蚊子數大於等於80隻時，即使用本分離法。材料包括有拭鏡紙兩張、30×30cm紗網一塊、玻璃漏斗一個、透明管一個、生理食鹽水、碎冰及加熱板一台。取一拭鏡紙，將全數蚊子放置於拭鏡紙上，將另一張拭鏡紙蓋於上方，將蚊子全數壓至體液流出，將拭鏡紙與蚊子放置於紗網上，並放入漏斗，漏斗下方接一沈澱管，沈澱管下方以軟木塞塞住，漏斗內加入生理食鹽水至離漏斗口四分之一處，漏斗內加入冰塊至離漏斗九分滿處，斗柄插入37°C水中，淹至斗柄一半深，靜置一小時，拔去軟木塞使沈澱液流入培養

皿中，在顯微鏡下觀察培養皿中有無犬心絲蟲<sup>[22]</sup>。

### 4. 誘蚊產卵

誘蚊產卵器所使用之器材為500ml免洗碗，並以磨砂紙將平滑之內壁摩擦至粗糙，且免洗碗內壁需於碗身一半處平均四個方位挖洞，以防雨水滿出，碗內加入事先瀑氣不含氯之有機水至打洞處，隨即放置於台中地區九處（同捕蚊器設置處），每個地區放置15個誘蚊產卵器，放置時間為48小時。

### 5. 街犬血液採集

選擇台中地區大於一歲之成犬，以23號針頭及3cc針筒，自前肢靜脈採血3cc，隨即將針筒內之血液注入EDTA tube，並記錄毛色、毛長、體長及犬種，毛色若為黑色或褐色，分類為深色，白色或黃色分類為淺色。毛長小於等於3cm者分類為短毛狗，大於3cm者分類為長毛狗。體長(鼻尖至肛門)小於75cm者，分類為小型犬，大於等於75cm者分類為大型犬。街犬之品種若為兩種或兩種以上混種，分類為混種犬，其餘分類為純種犬。

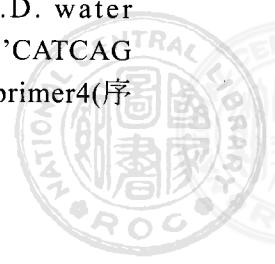
### 6. 街犬血液鏡檢

將每隻街犬採集24小時以內之血液取10μl置於載玻片上，蓋上蓋玻片，在光學顯微鏡下觀察有無犬心絲蟲微絲蟲之存在。

### 7. 檢體DNA之萃取及巢式PCR (Nested PCR)放大

以NucleoSpin Blood (MACHEREY-NAGEL Inc. USA)從所採集之全血中，分離出微絲蟲之DNA<sup>[23]</sup>。

每個PCR tube中加入D.D. water 34μl，再加入primer3(序列為:5'CATCAG GTGATGATGTGATGAT3')及primer4(序



列為:5' TTGATTGGATTTAACGTATCAT TT 3')各1μl，再加入4μl的DNA，最後加入buffer 10μl。本研究所使用時間溫度的條件：每個cycle為94°C 1min, 62°C 30sec, 72°C 30sec，一共35個cycle<sup>[24]</sup>。PCR完成後取2μl DNA繼續跑巢式PCR(Nested PCR)，使用不同的primer，分別為primer 1(序列為:5' CGTCTGGTTGAG GGTCAATATC3')及primer 2(序列為:5' CGGGTAATCACGACTGAGTTGA 3')，量各為1μl，D.D. water 取36μl，buffer 維持10μl。跑巢式PCR的時間溫度條件同PCR。電泳結果；在agarose上出現的條帶為0.3Kbp者，判斷為陽性<sup>[24]</sup>。

#### 8. PCR及Nested PCR專一性測試

取含指狀絲狀蟲(*Setaria digitata*)微絲蟲之牛血及犬心絲蟲檢測陽性之狗血6c.c. (取自中興大學獸醫系附設家畜醫院門診篩檢陽性之血液)，進行血液鏡檢、PCR及Nested PCR檢測。

#### 9. 電泳(Agarose electrophoresis)

TAE(Tris Acetate EDTA)50× 稀釋成0.5×，取70ml 0.5× TAE 置入三角錐瓶，加入0.56g agarose，微波助溶，水浴冷卻

至微溫，加入EtBr(螢光顯影劑)2.4μl，倒入槽內，等待凝固備用。將Gel置於電泳槽(BRL Life Technologies. Inc.)以110 Volts跑電泳，將不同大小之DNA片段分離，並檢查0.466Kbp之存在與否。

## 結果

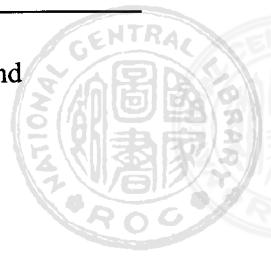
本研究針對台中地區，夜間所捕獲之病媒蚊類及其他飛行昆蟲種類(Table 1.)，包括熱帶家蚊(*Culex quinquefasciatus*)、白線斑蚊(*Aedes albopictus*)、糠蚊(*Culicoides austeni*)、蛾蚋(*Psychoda spp.*)及其他，在夜間誘集病媒蚊帶原犬心絲蟲數量方面，平均每捕蚊器每次所誘捕之熱帶家蚊雌蚊 $37.77 \pm 73.68$ 隻，熱帶家蚊雄蚊 $1.33 \pm 1.85$ 隻，白線斑蚊雌蚊 $0.06 \pm 0.30$ 隻，白線斑蚊雄蚊 $0.13 \pm 0.51$ 隻，糠蚊 $0.79 \pm 2.44$ 隻，蛾蚋 $4.63 \pm 8.18$ 隻，及其他 $3.25 \pm 3.74$ 隻，其中熱帶家蚊及白線斑蚊帶原犬心絲蟲陽性率皆為0。台中地區日間平均每捕蚊器每次所誘集到之病媒蚊帶原犬心絲蟲數量，熱帶家蚊及白線斑蚊皆為0，非吸

Table 1. The number of captured fly insects and vectors with *D. immitis* in the night time in Taichung area.

Species	Total Number	♀		♂		Infection Rate (%)
		+	-			
<i>Culex quinquefasciatus</i>	$39.10 \pm 75.02$	$0 \pm 0$	$37.77 \pm 73.68$	$1.33 \pm 1.85$		0
<i>Aedes albopictus</i>	$0.19 \pm 0.81$	$0 \pm 0$	$0.06 \pm 0.30$	$0.13 \pm 0.51$		0
<i>Psychoda spp.</i>	$0.79 \pm 2.44$					
<i>Culicoides austeni</i>	$4.63 \pm 8.18$					
Others*	$3.25 \pm 3.74$					

The number of *Culex quinquefasciatus* was counted from total (1877) / times (48)

\* The fly insects; except *Culex quinquefasciatus*, *Aedes albopictus*, *Psychoda spp.* and *Culicoides austeni*.



血之糠蚊、蛾蚋及其他之誘集數分別為 $1.15\pm1.56$ 、 $0.00\pm0.00$ 及 $0.67\pm1.15$ 隻。

在台中地區夜間季節性消長方面，熱帶家蚊雌蚊最大捕獲量出現在冬季，平均每捕蚊器每次捕獲量 $76.19\pm110.30$ 隻，其次為春季 $63.00\pm65.00$ 隻，夏季 $7.90\pm3.72$ 隻捕獲量最低，熱帶家蚊雄蚊捕獲最大量為冬季的 $1.94\pm2.89$ 隻，白線斑蚊於秋、冬及春季平均捕獲量皆為0，雌蚊最大量出現在夏季的 $0.30\pm0.63$ 隻，雄蚊夏季 $0.60\pm1.02$ 隻為最多，糠蚊平均捕獲最大量出現在秋季 $8.56\pm12.71$ 隻，蛾蚋平均最大捕獲量為夏季的 $3.30\pm4.63$ 隻(Table 2.)。在熱帶家蚊雌蚊每月(除四月外)平均捕獲量之分佈圖(Fig. 1.)中發現，台中地區全年熱帶家蚊消長，於3月至10月為最低捕獲量，最低峰出現在6月，10月以後熱帶家蚊捕獲量開始上升，10月至隔年3月捕獲量最大，最高峰出現在1月份，平均捕獲量大於300隻。

本研究將台中市夜間街犬收容所所捕獲之病媒蚊與台中其他地區做一比較(Table 3.)，發現熱帶家蚊及白線斑蚊帶原犬心絲蟲之陽性率皆為0，但是在熱帶家

蚊雌蚊之捕獲量方面，台中市街犬收容所只有 $0.67\pm1.03$ 隻，台中其他地區捕獲量高達 $43.07\pm77.41$ 隻，白線斑蚊雌蚊捕獲量方面，台中其他地區所捕獲的 $0.07\pm0.32$ 隻高於台中市街犬收容所的 $0.00\pm0.00$ ，台中市街犬收容所糠蚊捕獲量為 $9.67\pm2.29$ 隻，高於台中其他地區的 $3.90\pm8.48$ ，蛾蚋方面，台中市街犬收容所捕獲量為 $0.00\pm0.00$ 隻，台中其他地區為 $0.90\pm2.59$ 隻，其他之捕獲量，台中市街犬收容所為 $1.33\pm0.52$ 隻，台中其他地區為 $3.52\pm3.93$ 隻。台中市街犬收容所與其他地區日間誘集病媒蚊及其感染犬心絲蟲數量之比較，其熱帶家蚊、白線斑蚊及蛾蚋捕獲量皆為0，糠蚊方面，台中市街犬收容所為 $1.33\pm1.53$ 隻，高於台中其他地區為 $1.13\pm1.62$ 隻，其他之捕獲量台中市街犬收容所為 $0.33\pm0.58$ 隻，台中其他地區為 $0.71\pm1.23$ 隻。

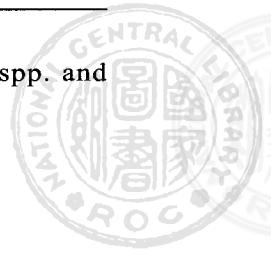
台中區域及郊區夜間誘集病媒蚊及其感染犬心絲蟲數量之比較；熱帶家蚊及白線斑蚊帶原犬心絲蟲之陽性率皆為0，在台中區域，熱帶家蚊雌蚊平均捕獲量 $42.19\pm77.84$ 隻，高於郊區之 $6.83\pm5.81$ 隻，白線斑蚊

Table 2. The number of insects and vectors was captured in the night time in Taichung area.

	Spring(Feb-Apr)	Summer(May-Jul)	Autumn(Aug-Oct)	Winter(Nov-Jan)
<i>Culex quinquefasciatus</i> ♀	$63.00\pm65.00$	$7.90\pm3.72$	$8.56\pm9.96$	$76.19\pm110.30$
<i>Culex quinquefasciatus</i> ♂	$1.17\pm0.68$	$1.40\pm0.77$	$0.75\pm1.02$	$1.94\pm2.89$
<i>Aedes albopictus</i> ♀	$0.00\pm0.00$	$0.30\pm0.63$	$0.00\pm0.00$	$0.00\pm0.00$
<i>Aedes albopictus</i> ♂	$0.00\pm0.00$	$0.60\pm1.02$	$0.00\pm0.00$	$0.00\pm0.00$
<i>Psychoda</i> spp.	$0.00\pm0.00$	$3.30\pm4.63$	$0.31\pm0.68$	$0.00\pm0.00$
<i>Culicoides austeni</i>	$7.67\pm4.34$	$1.10\pm1.07$	$8.56\pm12.71$	$1.75\pm1.95$
Others*	$1.83\pm2.$	$460.90\pm0.91$	$4.63\pm4.53$	$3.88\pm3.74$

The number of insects and vectors was counted by total captured/ times (48).

\* The fly insects except *Culex quinquefasciatus*, *Aedes albopictus*, *Psychoda* spp. and *Culicoides austeni*.



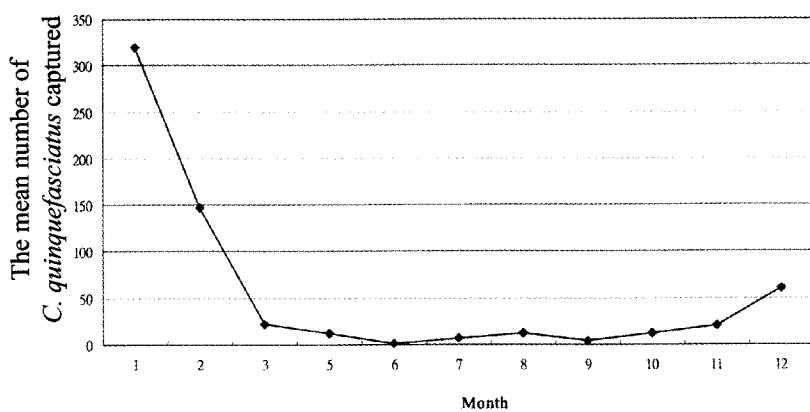


Fig. 1. The population dynamics of *C. quinquefasciatus* in a whole year (except Apr).

Table 3. The number of insects and vectors was compared with the stray dog collect and care center and the other areas in the night time in Taichung area.

Species	Stray Dog C.C. Center	Other Areas
<i>Culex quinquefasciatus</i> ♀	0.67±1.03	43.07±77.41
<i>Culex quinquefasciatus</i> ♂	0.00±0.00	1.52±1.90
<i>Aedes albopictus</i> ♀	0.00±0.00	0.07±0.32
<i>Aedes albopictus</i> ♂	0.00±0.00	0.14±0.54
<i>Psychoda</i> spp.	0.00±0.00	0.90±2.59
<i>Culicoides austeni</i>	9.67±2.29	3.90±8.48
Others	1.33±0.52	3.52±3.93

Table 4. The number of insects and vectors was compared with city areas and outskirts in the night time in Taichung area.

Species	Taichung area	Outskirts
<i>Culex quinquefasciatus</i> ♀	42.19±77.84	6.83±5.81
<i>Culex quinquefasciatus</i> ♂	1.40±1.95	0.83±0.61
<i>Aedes albopictus</i> ♀	0.07±0.32	0.00±0.00
<i>Aedes albopictus</i> ♂	0.14±0.54	0.00±0.00
<i>Psychoda</i> spp.	0.79±2.59	0.83±0.93
<i>Culicoides austeni</i>	3.48±4.01	12.67±20.21
Other	2.74±3.00	6.84±6.34

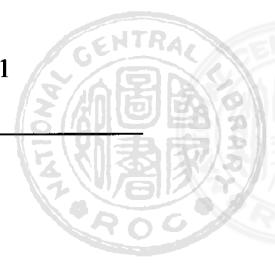


Table 5. The number of insects and vectors was compared with districts in the night time in Taichung city.

Species\Areas	Southern	Western	Northern	Central	Nantun	Hsitan	Beitun
<i>Culex quinquefasciatus</i> ♀	118.92±115.22	19.67±15.49	5.83±2.98	14.50±7.63	0.67±1.03	12.00±1.73	1.67±1.15
<i>Culex quinquefasciatus</i> ♂	3.08±2.9	0.50±0.45	1.50±0.77	0.67±0.26	0.00±0.00	1.33±0.29	0.33±0.29
<i>Aedes albopictus</i> ♀	0.00±0.00	0.00±0.00	0.50±0.77	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
<i>Aedes albopictus</i> ♂	0.00±0.00	0.00±0.00	0.83±1.29	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
<i>Psychoda</i> spp.	0.00±0.00	0.00±0.00	0.83±0.52	0.00±0.00	0.00±0.00	1.33±1.15	0.33±0.29
<i>Culicoides austeni</i>	3.75±4.58	0.67±1.03	1.50±1.18	2.50±2.37	9.67±2.29	1.33±2.31	24.00±25.11
Others	5.92±3.51	1.00±0.89	1.00±1.18	3.33±2.21	1.33±0.52	1.33±1.15	12.33±2.89

Table 6. The 32 captured street dogs with *Dirofilaria immitis* was detected by microscopy examined , PCR and Nested PCR assay

Method of assay	Total	Body hair		Species		Color			Size*	
		Long	Short	Pure	Mongrel	Dark	Light	Non Detected	Small	Big
microscopy examined (+)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
microscopy examined (-)	32	2	30	3	29	13	17	2	12	20
PCR(+)	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2
PCR(-)	30	2	28	3	27	11	17	2	12	18
Nested PCR(+)	8	0	8	0	8	4	3	1	3	5
Nested PCR(-)	24	2	22	3	21	9	14	1	9	15

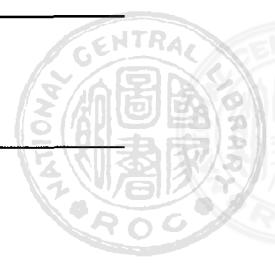
(-) Negative

(+) Positive

\* The size was classified by the body length(from nose end to anus) with scale of 75 cm.

Table 7. The specificity to the *D. immitis* detection from microscopy examined, PCR and Nested PCR methods.

Method of assay	<i>S. digitata</i>	<i>D. immitis</i>
microscopy examined	+	-
PCR	-	-
Nested PCR	-	+



雌蚊為台中區域之 $0.07\pm0.32$ 隻，亦高於郊區之 $0.00\pm0.00$ 隻，但在糠蚊平均捕獲量方面，台中區域所捕獲之數量為 $3.48\pm4.019$ 隻，低於郊區之 $12.67\pm20.21$ 隻，蛾蚋捕獲量在台中區域的 $0.79\pm2.59$ 隻，低於郊區的 $0.83\pm0.93$ 隻，其他平均捕獲量，台中區域 $2.74\pm3.00$ 隻，亦低於郊區 $6.84\pm6.34$ 隻(Table 4.)。台中區域及郊區日間誘集病媒蚊及其感染犬心絲蟲數量之比較；熱帶家蚊、白線斑蚊及蛾蚋捕獲量皆為0隻，糠蚊所捕獲之數量，為台中區域 $1.38\pm1.69$ 隻，郊區 $0.33\pm0.82$ 隻，其他捕獲量為台中區域 $0.71\pm1.27$ 隻，郊區 $0.50\pm0.84$ 隻。

針對台中市各行政區域夜間誘集飛行性昆蟲及病媒蚊感染犬心絲蟲數量之比較(Table 5.)發現，南區、西區、北

區、中區、南屯區、西屯區及北屯區之熱帶家蚊帶原犬心絲蟲之陽性率皆為0，熱帶家蚊平均捕獲量最大之地區為南區的 $118.92\pm115.22$ 隻，其次為西區及中區的 $19.67\pm15.49$ 及 $14.50\pm7.63$ 隻，白線斑蚊雌蚊捕獲量最大的區域為北區 $0.50\pm0.77$ 隻，糠蚊捕獲最多之區域為北屯區 $24.00\pm25.11$ 隻，西屯區所捕獲之蛾蚋 $1.33\pm1.15$ 隻為最多，其他所捕獲方面，亦為北屯區之 $12.33\pm2.89$ 隻為最多。台中市各行政區域日間誘集病媒蚊及其感染犬心絲蟲數量之比較發現，南區、西區、北區、中區、南屯區、西屯區及北屯區之熱帶家蚊、白線斑蚊及蛾蚋捕獲量皆為0，糠蚊平均捕獲量最高之地區為西區的 $2.67\pm2.31$ 隻，其他之捕獲量，亦為西區的 $3.00\pm1.73$ 隻為最高。

本研究針對台中地區病媒蚊產卵率之

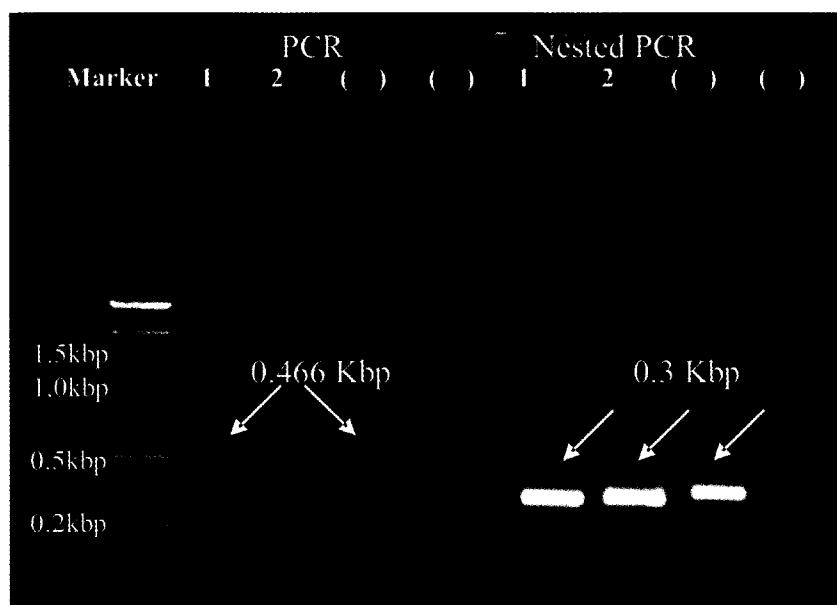
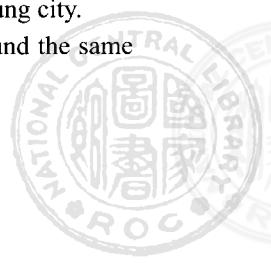


Fig. 3a. The result of PCR and Nested PCR detecting sample 1-2 from street dogs in Taichung city. Lane 1 was found a band of 0.466 Kbp after the PCR; lane 1 and lane 2 were found the same bands of 0.3 Kbp after the Nested PCR.  
 (+): positive control, (-): negative control.



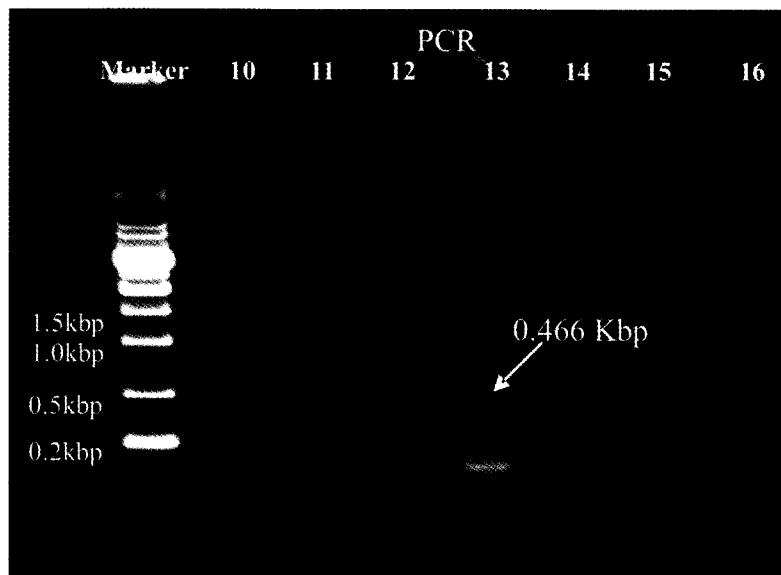


Fig. 3b. The result of PCR detecting sample 10-16 from street dogs in Taichung city. Lane 13 was found a band of 0.466 Kbp.

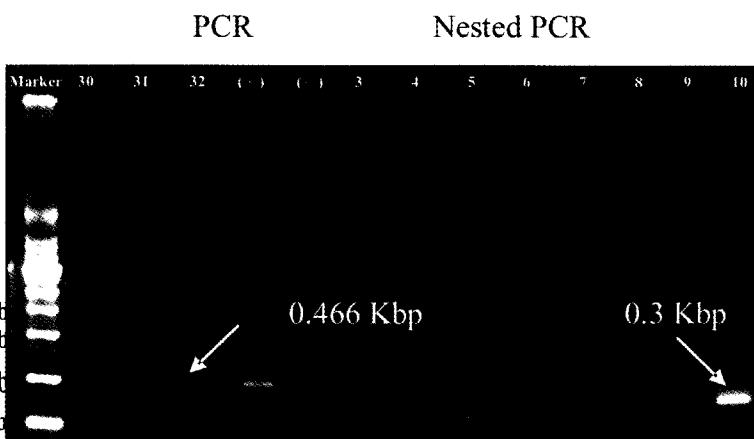


Fig. 3c. The result of PCR detecting sample 30-32 and Nested PCR detecting sample 3-10 from street dogs in Taichung city.  
Lane 10 was found a band of 0.3 Kbp.  
(+): positive control, (-): negative control



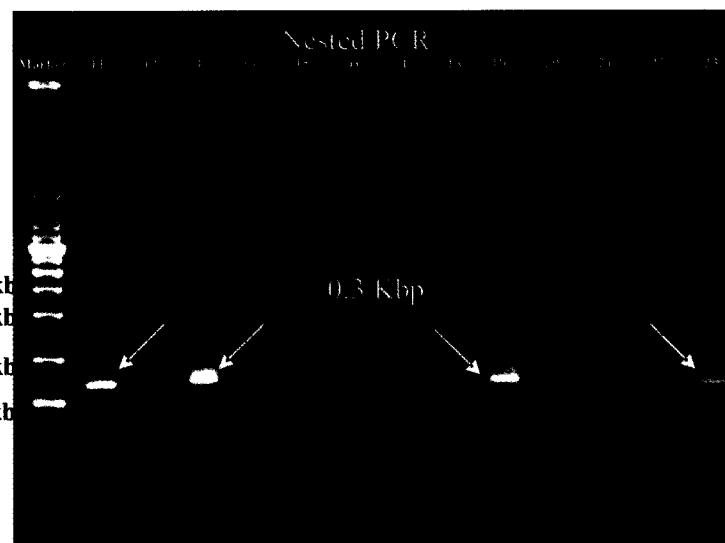


Fig. 3d. The result of Nested PCR detecting sample 11-23 from street dogs in Taichung city. Lane 11, 13, 19 and 23 were found bands of 0.3 Kbp.

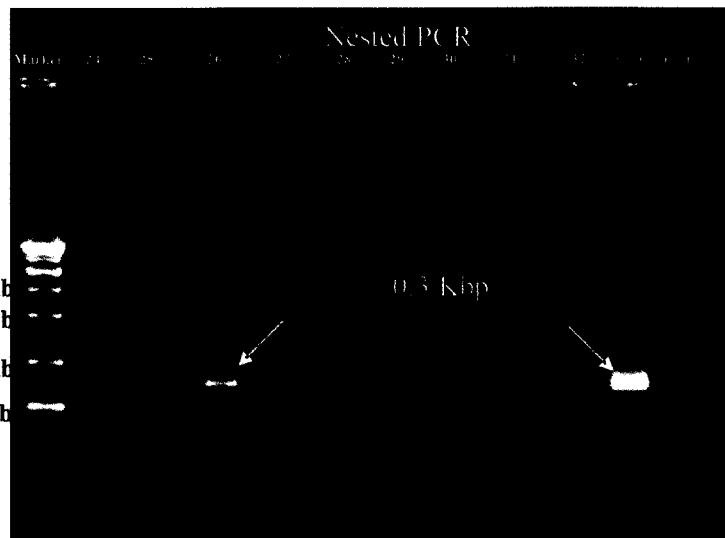
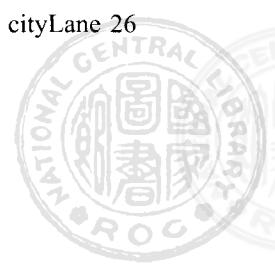


Fig. 3e. The result of Nested PCR detecting sample 24-32 from street dogs in Taichung city. Lane 26 was found a band of 0.3 Kbp.  
(+): positive control, (-): negative control



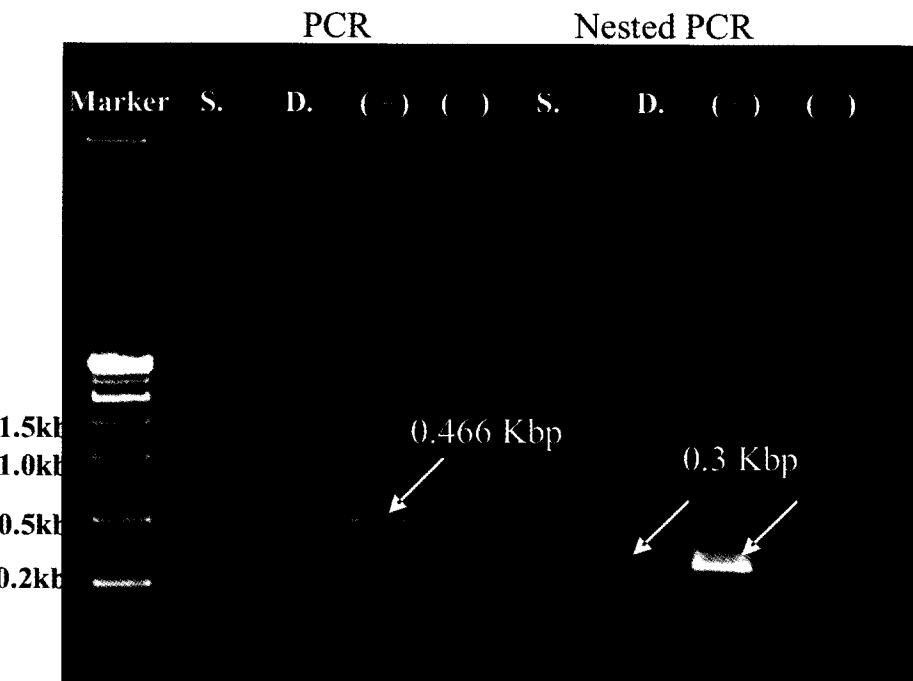


Fig. 4. The result of the *D. immitis*(D.) and *Setaria digitata*(S.) detection from PCR and Nested PCR methods.

Lane D. was found a band of 0.3 Kbp after the Nested PCR.

(+): positive control, (-): negative control.

調查發現，誘蚊產卵率皆為0。對於台中地區32隻街犬，進行血液微絲蟲之檢驗，犬隻的各項分類包括：2隻長毛犬及30隻短毛犬；3隻純種犬及29隻混種犬；13隻深色犬、17隻淺色犬及2隻毛色不詳；12隻大型犬及20隻小型犬，調查發現：在鏡檢方面；血液中含有微絲蟲之街犬為0隻。針對血液中含微絲蟲之PCR檢驗發現在3隻呈陽性反應(Fig. 3a., 3b., 3c.)；此3隻皆為短毛、混種、深色之小型犬。針對32隻街犬進行巢式PCR檢驗發現，共有8隻呈現陽性反應(Fig. 3a., 3c., 3d., 3e.)，此8隻皆為短毛之混種犬；其中4隻為深色犬，3隻為淺色犬，1隻毛色不詳；其中4隻為大型犬，4隻為小型犬(Table 6.)。

針對本研究所使用之PCR及Nested PCR檢測法之專一性測試(Table 8.)中發現，本研究所使用之primer1, 2, 3及4對於同樣為絲狀蟲之指狀絲狀蟲微絲蟲並沒有陽性反應，顯示本檢測法具高度專一性(Fig. 4.)。對於犬心絲蟲檢測陽性之狗血所做之鏡檢及PCR結果為陰性，但在於Nested PCR卻是陽性，且在街犬PCR及Nested PCR檢測結果照片中發現，PCR檢測出2隻陽性，在於Nested PCR檢測中亦為陽性(Fig. 3a., 3b., 3d.)，另外30隻中有6隻則是在Nested PCR中才檢測出陽性，由以上兩點結果顯示Nested PCR之準確度高於PCR及鏡檢。



## 討論

犬心絲蟲症為一常見之人畜共通疾病，亦屬於一全球性的傳染病，藉由病媒蚊類加以傳播，在美國、歐洲、澳洲及亞洲皆有發生<sup>[17]</sup>。微絲蟲在犬隻身上感染初期並無明顯症狀，犬心絲蟲成蟲主要寄生於肺動脈，當大量寄生時，會引起血液循環障礙，會導致心室肥大，進而導致鬱血、肝硬化及腹水等情形，臨床症狀會有慢性咳嗽、食慾不振、缺乏體力及呼吸急促等現象<sup>[9]</sup>，人類罹患犬心絲蟲症者，微絲蟲藉由病媒蚊叮咬進入皮下組織，然後蟲體會移動到右心室，且蟲體會死亡，隨著血液進入肺臟之管道內，形成一個肺部的栓塞，最後會形成一小腫瘤<sup>[17]</sup>，澳洲曾有患者之絲狀蟲症感染於眼窩處，並且伴隨著有鄰近肌肉發炎等症狀<sup>[19]</sup>。在台灣本島，於1993年在台北榮民總醫院發現第一例犬心絲蟲症感染之病例，患者在肺部形成一腫瘤<sup>[20]</sup>，近幾年於2003年，台北孫中山癌症中心亦發現台灣第二例病例<sup>[21]</sup>。

前人所使用之誘蚊捕集器與本研究

比較結果發現，前人所使用之誘蚊捕集器大都為物理化學性誘蚊因子<sup>[25, 26, 27, 28]</sup>，其中物理化學性誘蚊捕集器做的最完整屬楊(1999)之熱帶家蚊新誘集器研究，楊(1999)針對熱帶家蚊之誘集所使用之捕蚊器材包括支架、加熱器、CO<sub>2</sub>、添加物及光源，主要目的為針對蚊子可感受之刺激作為物化誘集因子，蚊子可感受之刺激包括溫度、CO<sub>2</sub>、氣味、水氣及視覺<sup>[7]</sup>，本研究所使用之誘蚊捕集器主要誘引因子為長爪沙鼠(*Meriones unguiculatus*)，對於所有月份(除四月外)熱帶家蚊雌蚊捕獲之數量比較(Fig. 2.)，並沒有明顯差異。本研究所使用之生物誘引，係利用生物體對蚊子之自然誘引能力，對於雌蚊有較大之誘集能力，少出現不希望捕捉之蛾類，其優點為大量蚊子檢驗時，不需另將雄蚊或其它飛行性昆蟲挑出，加快檢驗之速度。

Lai等(2000)曾發表熱帶家蚊及白線斑蚊對於不同犬心絲蟲微絲蟲密度之血液(mff/ml)，進行帶原犬心絲蟲能力之研究發現，使用2,500-25,000 mff/ml之不同微絲蟲密度之血液，其熱帶家蚊之感染率

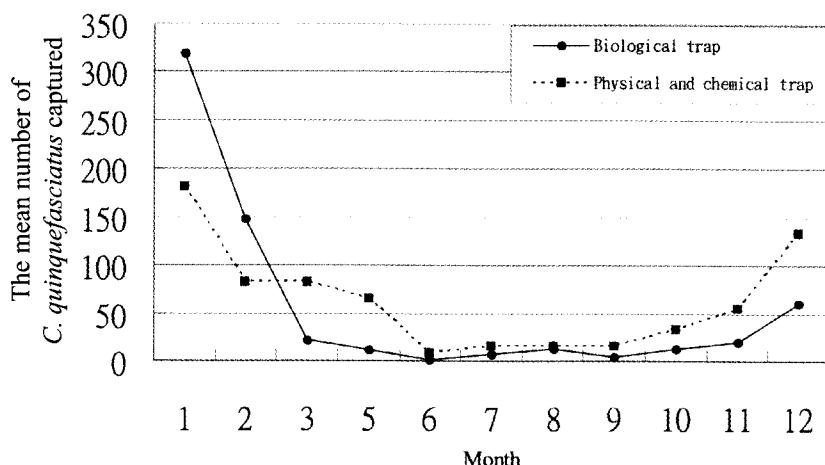


Fig. 2. The captured number of *C. quinquefasciatus* was compared with physical and chemical trap (Yang, 1999) and biological trap in a whole year(except Apr).

為29.5-32.5%<sup>[29]</sup>，根據本研究結果，台中地區街犬血液鏡檢發現，血液中微絲蟲之密度皆小於2,500 mff/ml，因此可能導致台中地區熱帶家蚊感染犬心絲蟲之陽性率偏低。Lai等(2001)在1997-1998年於台中地區；以物理誘集法捕獲3,085隻熱帶家蚊，調查感染犬心絲蟲所做之結果發現，熱帶家蚊感染率為4.28%、白線斑蚊為3.74%<sup>[8]</sup>。本研究以生物誘集法，在同一地區分九個地點，共捕獲1,877隻熱帶家蚊，在感染率方面為0，但在台中地區32隻街犬，進行血液微絲蟲之鏡檢結果亦為0，針對街犬血液中含微絲蟲之PCR檢驗發現有2隻呈陽性反應，顯示街犬心絲蟲感染率為6.25%，Nested PCR檢測結果有8隻呈陽性反應，感染率為25%，屬偏低之感染率，原因可能是這幾年來環境之變遷，影響街犬與病媒蚊互動之生態環境，尤其是工業對於環境的污染，影響到犬心絲蟲與宿主及病媒蚊間之生態傳播。

捕捉地因素差異如表3所示，台中市街犬收容所所捕獲之病媒蚊數量低於台中其它地區，其中發現街犬聚集密度高的台中市街犬收容所之熱帶家蚊及白線斑蚊族群量偏低，顯示街犬收容所感染犬心絲蟲的機會低於其它地區。熱帶家蚊之誘捕數量相當於Lai等(2001)於台中市地區所作之調查，但在犬心絲蟲帶原率的比較上，有明顯的差距，其歸納原因有兩點，一、台中市環保局捕犬隊近年來，大量捕捉街犬，導致人狗比上升（費等，未發表），二、民眾飼養寵物的照護層級提升，包括投藥防治心絲蟲症及植入晶片等措施，因此在本研究的調查中發現，犬心絲蟲之主要病媒蚊；熱帶家蚊對於帶原犬心絲蟲之陽性率普遍下降，為其可能原因。

本研究所創建之生物性誘蚊捕集器，在捕集結果中可發現，雌蚊數量遠高於雄

蚊，且對於非蚊類之昆蟲有較低之誘集能力，針對此一特性，將來可運用於社區熱帶家蚊帶原犬心絲蟲之風險快速檢測，比起物理化學性之誘蚊捕集器所誘集到之非標的昆蟲數量，生物性誘蚊捕集器所捕獲之熱帶家蚊雌蚊較單純。

## 研究限制

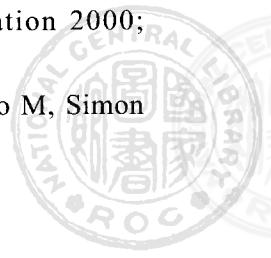
實驗研究期間所遇之無法避免之困難為，誘蚊捕集器常需長時間放置於戶外，容易受到一般民眾之破壞，或逢天氣巨變時，會因電器設備淋雨而損壞，為防止此類事情發生，在地點之放置及事前掌握天氣概況，皆須預先充分瞭解。

## 誌謝

本研究承蒙中山醫學大學校內研究計畫CSMU 92-OM-B-044經費資助，使研究得以順利進行。並蒙台中市世界聯合動物保護協會，對於街犬周邊血液採集之協助，中興大學獸醫學院獸醫學系黃嘉嘉、潘建宏及蕭方君研究生於實驗期間所給予之一切指導與協助。中山醫學大學公衛系同學蔣佳修、李孔概、張祝霖、許晉誠、易春暉、田繼光及江柏煒等人，於實驗調查期間對本研究之協助在此一併誌謝。

## 參考資料

1. Takanori S, Naoto B, Hisashi S, Youichi K, Masanari W, Kazumitsu H, Eiji S. Human pulmonary dirofilariasis presenting as a small nodule with a cavity. J Medica Investigation 2000; 47:161-3.
2. Muro A, Genchi C, Cordero M, Simon



- F. Human Dirofilariasis in the European Union. *Parasitology Today* 1999; 15(9):386-9.
3. Parker BM. Presumed *Dirofilaria immitis* infections from field-collected mosquitoes in North Carolina. *J Am Mosq Control Assoc* 1986; 2:231-3.
4. 王凱淞。環境衛生病媒管制學。初版。蚊類之生態與防治，台北，新文京開發出版有限公司，2002;47-55。
5. Loftin KM, Byford RL, Loftin MJ, Craig ME. Potential mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* in Bernalillo county, New Mexico. *J Am Mosq Control Assoc* 1995; 11(1):90-3.
6. Grieve RB, Lok JB, Glickman LT. Epidemiology of canine heartworm infection. *Epidemiol Rev* 1983; 5: 220-46.
7. 楊育年。熱帶家蚊之新誘集器研究。國立中興大學昆蟲學研究所碩士論文 1999;4-67。
8. Lai CH, Tung KC, Ooi HK, Wang JS. Susceptibility of mosquitoes in central Taiwan to natural infections of *Dirofilaria immitis*. *Med Vet Entom* 2001; 15: 64-7.
9. 郭宗甫、楊振墉、姚正峰：台北市夏季棄犬心絲蟲感染情況及其檢測方法之比較。中華獸醫誌1995; 21(2): 97-104。
10. Wang LC. Canine filaria infections in north Taiwan. *Acta Tropica* 1997; 68: 115-20.
11. 梁碩麟、黃慧璧、黃雪松、楊姍稜、陳光陽、費昌勇：台北地區寵物犬患犬心絲蟲症之盛行率。中華獸醫誌 1996; 23(3): 167-74。
12. Fan CK, Su KE, Lin YH, Liao CW, Du WY, Chiou HY. Seroepidemiologic survey of *Dirofilaria immitis* infection among domestic dogs in Taipei City and mountain aboriginal districts in Taiwan. *Vet parasitol* 2001; 102: 113-20.
13. 楊繼、謝快樂：台灣中部地區心臟絲狀蟲感染之調查及治療。台灣省畜牧獸醫學會會報1987; 50: 113-7。
14. 丁秋煌。台灣區域性犬隻心絲狀蟲寄生狀況調查及其DNA指紋圖譜之分析。國立中興大學獸醫學研究所碩士論文1995 ; 1-120。
15. 鄭豐邦、謝瑞生、王俊秀、董光中、曾秋隆：台中地區流浪犬心絲蟲感染疫情之調查。中華獸醫誌2001; 27(2): 131-6。
16. 蔡依達、董光中、賴政宏、吳瑞得、王俊秀、鄭豐邦：簡訊：台中地區流浪犬心絲蟲感染概況。中華獸醫誌 2003; 29(1): 71-5。
17. Echeverri A, Long RF, Check W, Burnett CM. Pulmonary dirofilariasis. *The society of thoracic surgeons* 1999; 67: 201-2.
18. Narine K, Brennan B, Gilfillan I, Hodge A. Pulmonary presentation of *Dirofilaria immitis*(canine heartworm) in man. *Eur J Cardiothorac Sur* 1999; 16: 475-7.
19. Stringfellow GJ, Freancis IC, Coroneo MT, Walker J. Orbital dirofilariasis. *Clin Experiment Opbtbalmol* 2002; 30: 378-80.
20. Yang SS, Wang LS, Fahn HJ, Lee YC, Chien KY. Solitary pulmonary nodule caused by *Dirofilaria immitis*: A case report and literature review. *J Surg Assoc ROC* 1993; 26: 1713-8.

21. Tsung SH, Liu CC. Human pulmonary dirofilariasis in Taiwan. J Formos Med Assoc 2003; 102(1): 42-5.
22. Lawrence RA, Thomas CO. Parasites: a guide laboratory procedures and identification. Ed1. ASCP Press: Chicago, 1987; 65-6.
23. Vogelstein B, Gillespie D. Preparative and analytical purification of DNA from agarose. Proc Natl Acad Sci USA 1979; 76: 615-9.
24. 黃嘉嘉。以巢式聚合酵素鍊鎖反應偵測犬隻狗型、血小板型艾利希體症及犬心絲蟲症感染，國立中興大學獸醫學研究所碩士論文2004; 72-99。
25. Makiya k, Iwao K. New types of mosquito traps using heat and carbon dioxide. Parasitology International 1998; 47(1): 277.
26. Aranda C, Panyella O, Eritja R, Castell? J. Canine filariasis: Importance and transmission in the Baix Llobregat area, Barcelona (Spain). Vet Parasitol 1998; 77: 267-75.
27. Lindsay SW, Jawara M, Paine K, Pinder M, Walraven GEL, Emerson PM. Changes in house design reduce exposure to malaria mosquitoes. Trop Med Int Heal 2003; 8(6): 512-17.
28. Marrama L, Jambou R, Rakotoarivony I, Leong Pock Tsi JM, Duchemin JB, Laventure S, Mouchet J, Roux J. Malaria transmission in Southern Madagascar: influence of the environment and hydro-agricultural works in sub-arid and humid regions: Part 1. Entomological investigations. Acta Trop 2004; 89(2): 193-203.
29. Lai CH, Tung KC, Ooi HK, Wang JS. Competence of *Aedes albopictus* and *Dirofilaria immitis* after blood meal with different microfilaria density. Vet Parasitol 2000; 90: 231-7.



# Survey on *Dirofilaria immitis* from mosquitoes and stray dogs in Taichung area

**Chen-Yuo Chung<sup>1</sup>, Shih-Hsien Chang<sup>1</sup>,  
 Kwong-Chung Tung<sup>2</sup>, Wei-Ming Lee<sup>2</sup>,  
 Feng-Pang Cheng<sup>2</sup>, Wu-Jun Tu<sup>4</sup>, Chu-Lung Tsang<sup>2</sup>,  
 Yang-Tsung Chung<sup>2</sup>, Jiunn-Shiow Wang<sup>2</sup>,  
 Ming-Chi Chou<sup>3</sup>, Kai-Sung Wang<sup>1\*</sup>**

## Abstract

Purpose: In this study we surveyed the infected ratio of *Dirofilaria immitis* (Leidy) (Spirurida: Filariidae) in mosquitoes in Taichung area from March of 2002 to September of 2004. In the beginning of this study, we designed a mosquito-trap for collecting mosquitoes during day- and night-time. The results revealed that *Culex quinquefasciatus*(Say), *Culicoides austeni* and *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) were 87.75%, 11.83% and 0.42%, respectively. Under micro-inspection and examination of Bach's method, there were no larva of *Dirofilaria immitis* found in 1,877 *Culex quinquefasciatus* and 9 *Aedes albopictus* collected and examined in this study. Low *Aedes albopictus* were found during the day time. In addition, the ovulation of caught mosquitoes was zero. Thirty two stray dogs were collected peripheral blood samples for the examination of microfilaria (L3) infection. The result indicated there was no microfilaria found in these 32 spray dogs. Furthermore whole blood samples were collected for *D. immitis* examination by PCR and the result indicated that two blood samples were positive reaction to *D. immitis* which was a prevalence of 6.25%. There were positive reactions in eight samples to *D. immitis* by nested PCR for detail examination that indicated an infectious rate of 25%. The results of our study indicated that low intensity of natural vectors in Taichung area, and the stray dogs investigated in Taichung area has low prevalence of *D. immitis*. Although the stray dogs appeared high antigen detected rate, *Cx. quinquefasciatus* and *Ae. albopictus* may not be an effective vector for heartworm transmission. It might indicate mosquitoes may not play a predominant role on the transmission of Dirofilariasis in Taichung area.

**Key words:** mosquito trap, vector, stray dogs, *Dirofilaria immitis*, Taichung area

<sup>1</sup> Department of Public Health, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan (R.O.C.)

<sup>2</sup> Department of Veterinary Medicine, National Chung Hsin University, Taichung, Taiwan (R.O.C.)

<sup>3</sup> Department of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan (R.O.C.)

<sup>4</sup> Department of Entomology, National Chung Hsin University, Taichung, Taiwan (R.O.C.)

\* Reprints and Corresponding Author: Kai-Sung Wang

Address: No. 110, Sec 1, Jianguo N. Road, Taichung, 402, Taiwan, R.O.C.

Tel: 886-4-24730022 ext 11799

