

蝙蝠之狂犬病監測

報告人：蔡國榮 助理研究員（疫學研究組）

壹、緒言

蝙蝠在分類上屬於翼手目，計有一千多種，是地球上種類第二多之哺乳動物，幾乎遍佈於全球各角落。由於蝙蝠具飛行能力，可能隨季節遷徙而傳播一些重要病原，近來研究發現某些品種蝙蝠帶有立百病、亨德拉病等病毒，有關蝙蝠攜帶人畜共通傳染病病原之調查與監測等研究日趨受重視，而在蝙蝠所帶有多種病原中，莉莎病毒屬(Lyssavirus)便為主要研究調查病原之一。Lyssavirus 可感染人類及溫血動物，造成狂犬病此一致死性疾病，目前，本病毒屬至少包含 11 種基因型，而大部分基因型皆可由蝙蝠檢測出；本所自 1999 年持續對國內犬隻進行狂犬病監測，目前檢測結果均為陰性，為收集蝙蝠重要人畜共通傳染病病原之調查資料並強化現有狂犬病監測體系，自今年開始進行蝙蝠狂犬病監測。

貳、材料與方法

一、蝙蝠收集：

本計畫係與台灣蝙蝠學會合作進行，由台灣蝙蝠學會專家於野外進行蝙蝠調查與測量，記錄其性別、前臂長度，採集翼膜供作蝙蝠物種之確認鑑定用，予以安樂死後密封包妥以冷藏方式運送至本所進行檢驗。

二、檢體樣本收集：

蝙蝠個體於負壓解剖房進行剖檢，以無菌操作方式採集腦組織及唾液腺等。

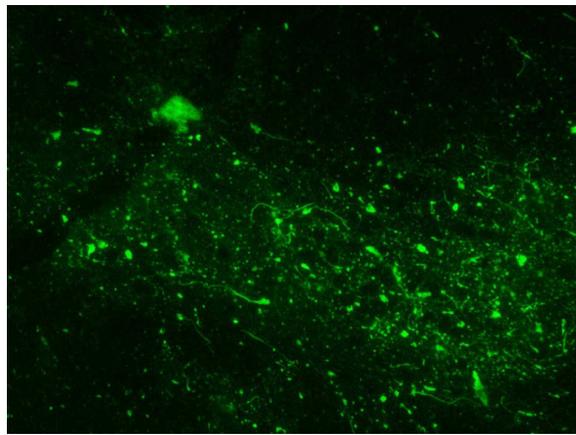
三、狂犬病病毒及其他 Lyssavirus 檢測：

本所已參照美國疾病管制局(CDC)、世界衛生組織(WHO)及世界動物衛生組織(OIE)之狂犬病診斷方法，建立狂犬病標準診斷流程，所採集檢體參照標準流程進行直接免疫螢光抗體染色法及反轉錄聚合酶鏈反應。製作腦組織捺壓片予以風乾後，經-20°C 丙酮固定進行直接免疫螢光抗體染色法，檢測腦組織中是否有 Lyssavirus 之抗原，另將腦組織及唾液腺置入 MEM，以均質機製成 10 倍乳劑，以 RNA 純化試劑 (TRIzol, Invitrogen®) 抽取核酸，以狂犬病病毒特異性引子進行反轉錄聚合酶鏈反應並搭配核酸定序，偵測是否有狂犬病病毒之核酸。檢測時針對狂犬病病毒之核蛋白(nucleoprotein) 及醣蛋白(glycoprotein)設計 2 組引子進行反轉錄聚合酶鏈反應；(1)1013F 及 1533R，(2)3384F 及 4279R，增幅產物分別為 521bp 及 896bp。

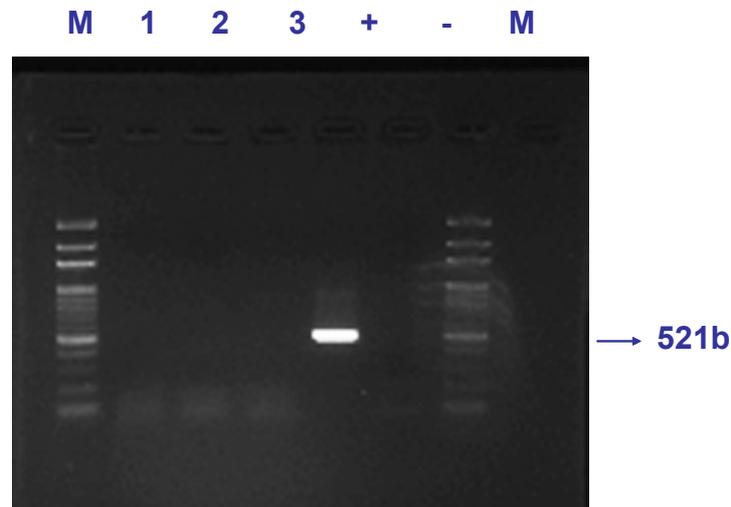
參、結果與討論

初步於金門進行調查，收集蝙蝠 127 隻，包含 120 隻高頭蝠 (*Scotophilus kuhlii*)，其中雄性個體計有 41 隻，雌性個體計有 79 隻。5 隻東亞家蝠 (*Pipistrellus abramus*)，其中雄性個體計有 3 隻，雌性個體計有 2 隻。另有 2 隻雄性的絨山蝠 (*Nyctalus velutinus*)。剖檢收集腦組織與臟器檢體，以直接免疫螢光抗體染色法及核酸檢測技術檢測狂犬病病毒及其他 Lyssavirus，檢測結果均為陰性。

本研究以金門地區分布較廣並具有遷移能力的物種-高頭蝠作為主要監測對象，以直接免疫螢光抗體染色及反轉錄聚合酶鏈反應進行狂犬病病毒及其它 Lyssavirus 監測，結果均未檢出其抗原或病毒核酸。未來擬擴展採集監測地區(如馬祖等離島)，嘗試建立其他 Lyssaviruses 之反轉錄聚合酶鏈反應等核酸檢測技術，應用於未來監測與調查研究。



圖一、狂犬病直接免疫螢光抗體染色情形(此為陽性對照，取自狂犬病固定毒接種小鼠的腦組織)



圖二、以反轉錄聚合酶鏈反應偵測狂犬病病毒核酸。

lane 1,2,3 為受測樣本，lane + 及 - 分別為陽性對照及陰性對照，lane M 為 100 bp ladder

