

出國報告（出國類別：其他）

參訪巴西登革熱的創新防治法：
基因轉殖埃及斑蚊與感染沃爾巴克菌
埃及斑蚊的田間釋放

服務機關：國立陽明大學

姓名職稱：陳正成教授（微生物及免疫學研究所）

派赴國家：巴西

出國期間：104年5月29日至6月8日

報告日期：104年7月9日

摘要

登革熱為現今影響人類健康最重要蟲媒病，全球性的主要病媒蚊為埃及斑蚊，傳統的登革熱防治法，例如清除孳生源和緊急殺蟲劑噴灑已無法有效遏阻登革熱在包括臺灣在內的熱帶和亞熱帶地區的流行。經過多年的研究，科學家現已建立兩種創新的埃及斑蚊的防治法，一為應用基因轉殖蚊子來壓制埃及斑蚊的自然族群，另一為應用沃爾巴克菌來感染埃及斑蚊，使登革病毒無法在自然界的埃及斑蚊繁殖，此兩種創新的蟲媒防治法在實驗室皆已證實能有效防治登革熱，且正在世界多處進行田間試驗，而最大規模的田間試驗皆在巴西進行。此次藉由出席在巴西里約熱內盧舉行的第四屆世界研究倫理大會之便，參訪在里約熱內盧的巴西國家衛生研究院所進行的沃爾巴克菌的田間試驗，以及在 Bahia 省 Juazeiro 市由 Moscamed 公司所進行的基因轉殖蚊子的釋放試驗，除了參訪蚊子的大規模繁殖與田間釋放外，亦與負責此兩項新創登革熱蟲媒防治法的負責人詳細討論優缺點，所獲的心得是基因轉殖蚊在臺灣可行性不高，惟可考量引進沃爾巴克菌來防治登革熱。

目次

一、目的-----	3
二、過程-----	4
三、心得及建議-----	5
附圖-----	7
附件一、巴西基因轉殖蚊子工廠與田間試驗所邀請函-----	10

一、目的

登革熱為當今影響人類健康最重要的節肢動物媒介病毒疾病，近三十年來在全球許多地區快速蔓延，2013 年的估計，全世界每年約有 3 億 9 千萬人感染，其中 9 千 6 百萬人具有臨床病徵 (Bhatt *et al.*, 2103)，主要流行區為亞洲、中南美洲、非洲和大洋洲等熱帶和亞熱帶地區。由於有效藥物和疫苗的缺乏，全世界的登革熱的防治主要是依賴蟲媒防治，目前最常用的蟲媒防治為孳生源清除和噴灑殺蟲劑，然而孳生源的清除常因執行不夠徹底，以及沒有長期持續性的堅持而成效不彰。至於殺蟲劑的使用，亦常由於殺蟲劑的過度及不正確的使用，造成蟲媒的殺蟲劑抗性，很難達到預期效果，因此，現有的蟲媒防治法並無法有效的遏阻登革熱在全球許多地區的流行。因此全世界的熱帶醫學中階積極尋找登革熱新的有效的防治策略。經過多年的研究終於建立了二種創新的登革熱防治法，且皆已在田間進行初步測試。一種為應用基因轉殖蚊子來防治登革熱，英國牛津大學的 Luke Alphey 教授將顯性致死基因轉殖至埃及斑蚊，然後將攜帶此致死基因的雄蚊釋放於田間，當自然界的雌蚊與此一基因轉殖的雄蚊交尾後，其所產生的後代皆無法存活，由於雌蚊的一生只交尾一次，因此理論上若釋放攜帶致死基因的雄蚊釋放的數量夠多的話，田間的埃及斑蚊的族群會被壓抑 (population suppression)，甚至消失，因而達到登革熱防治的目標。此一登革熱防治新方法最先於 2009 年和 2010 年在加勒比海的開曼島進行田間試驗，當時分別釋放 2 萬隻和 3.3 百萬隻的基因轉殖雄蚊。另外一種防治策略為以細菌 *Wolbachia* 來感染埃及斑蚊，是由澳洲昆士蘭大學 O'Neill 所建立的，他發現登革熱病毒在感染 wMel 株 *Wolbachia* 的埃及斑蚊體內無法繁殖，且埃及斑蚊在被 *Wolbachia* 感染後，*Wolbachia* 會在埃及斑蚊的族群中藉由 cytoplasmic incompatibility 的機制自主散布，因此自然界的埃及斑蚊會逐漸被 *Wolbachia* 感染而變成具有登革病毒抗性而達到病媒蚊族群取代 (population replacement) 的功能進而達到防治登革熱的目的。釋放 *Wolbachia* 感染的埃及斑蚊已在澳洲測試，初步結果顯示在澳洲 *Wolbachia* 釋放兩年後，釋放區域的埃及斑蚊高達 80% 感染 *Wolbachia*，不過因為澳洲的釋放地點沒有登革熱，因此其登革熱防治效果仍然未知。

臺灣早在日據時期即曾於 1902、1915、1922、1931 和 1942 年發生 5 次的全島性登革熱流行，其中於 1942 年的流行約有六分之五人口 (500 萬) 感染 (Wu, 1986)，光復後於民國 40 年代瘧疾防治期，DDT 的大量使用，破壞了病媒蚊之棲息環境，阻斷登革病毒之傳播，又因當時臺灣與國際交通往來不頻繁，境外之登革病毒少有機會入侵國內，故臺灣持續了近 40 年未有登革熱疫情發生。直到 1981 年小琉球漁民由菲律賓再將第 2 型登革病毒帶入，造成 15,791 居民中約 80% 小琉球居民被感染 (Chen *et al.*, 1994)。而臺灣本島亦於民國 76、77 年在屏東及大高雄地區爆發第一型登革熱流行，

此後幾乎每年都有本土登革熱病例出現，尤其是 2014 年有 15,732 個病例而達到高峰（衛福部疾管署網址 <http://www.cdc.gov.tw/>），與往年不同的是，此次登革熱的流行有由 2014 年延續至 2015 年有成為地方流行疾病的趨勢，當前臺灣登革熱的防治亦遭遇與世界各地登革熱流行區登革熱防治成效不彰的窘境，在臺灣居家附近及公共區域的孳生源清除主要是依賴政府人員及志工從事，而在有疫情時，則雇用害蟲防治業者從事殺蟲劑緊急噴灑，此兩種方法由於民眾不是登革熱防治的參與者而是被動接受者，往往無法達到預期的防治效果，且每當疫情發生時，由於輿論和民眾的壓力，更無法推動「以孳生源清除為主，噴灑為輔」，以及「限縮噴灑」的殺蟲劑施用政策，且在緊急狀況下，殺蟲劑的選用往往無法作「殺蟲劑感受性測試」，亦沒有作殺蟲劑噴灑效益評估，因此傳統的登革熱防治法對登革熱疫情的遏阻效果並不佳。

巴西為目前測試基因轉殖及感染 wMel 株 *Wolbachia* 的埃及斑蚊對登革熱防治效益的最大試驗場，主要原因是近年來登革熱在巴西大流行，例如 2014 年就有 140 萬登革熱病例，急需應用新的登革熱防治策略來遏阻登革熱在該國的大流行。因此此行之主要目標就是前往巴西的二個斑蚊釋放場所參訪學習此二種登革熱防治效益，以作為臺灣登革熱防治之參考。

二、過程

(一)參訪巴西登革熱撲滅計畫：感染 *Wolbachia* 埃及斑蚊之田間釋放

巴西登革熱撲滅計畫（The Eliminate Dengue Brasil）是由 Bill&Melinda Gates Foundation 之 Global Health Initiative 支助，並獲巴西衛生部及科技部的支持，由巴西國家衛生研究院（Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz）（圖 1-1）執行，該計畫的主要負責人為 Luciano Moreira 博士，惟 6 月 2 日他剛好有事，由昆蟲組長 Rafael Maciel de Freitas 博士簡介（圖 1-2）。本計畫自 2012 年起已在里約熱內盧的 Vila Valgueira、Urea、Tubiacanga 和 Jugujuba 四地區陸續釋放感染 wMel 的埃及斑蚊（圖 1-3），每週釋放一次，連續 3 至 4 個月，並在釋放區內的 120 居家點採蚊子後攜回實驗檢測 *Wolbachia* 在自然界的感染情形，初步的結果顯示釋放地點埃及斑蚊的 *Wolbachia* 之感染率為 60%，此數據雖然比澳洲的 80% 少，不過因 *Wolbachia* 會在埃及斑蚊的族群藉細胞質不融合性自然散佈，因此假以時日，其感染率可達 80%。Rafael 博士特別強調社區溝通是本計畫的主要關鍵，且不吝告知許多溝通技巧獲益良多，此外，亦參觀其蚊

子飼養設施和 Wolbachia 檢測設備，以及半田間網室實驗場（semi-field experimental station，圖 1-4）等。

(二)參訪基因轉殖蚊子田間釋放

巴西政府在 Bahia 省 Juazeiro 市成立 Moscamed 公司來推動應用基因轉殖蚊來防治登革熱，以及應用昆蟲不孕技術(Sterile Insect Technique, SIT) 來防治農業和衛生害蟲。本次參訪由 Moscamed 公司的衛生計畫召集人 Margareth L. Capurro 教授接待，該公司所使用的基因轉殖蚊子為英國 Oxitec 公司的 OX513A 埃及斑蚊，該基因轉殖蚊子帶有顯性致死基因，當 OX513A 雄蚊與正常雌蚊交尾後，雌蚊所產的後代皆會死亡，因而使病媒蚊族群（population suppression）受到壓制，進而遏阻登革熱的流行。Moscamed 的主要工作就是設立蚊子工廠大量飼養 OX513A 蚊子，並將帶有致死基因的雄蚊釋放至野外來壓制田間埃及斑蚊的族群，此次參訪見識到大規模飼養蚊子的設備及飼養方法，該工廠已能每週生產 3 百萬隻 OX513A 雄蚊，該公司將一間棉花工廠的廠房改裝為蚊子工廠(圖 2-1 和圖 2-2)，建立恆溫恆濕的環境(溫度 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，濕度 $70\pm 5\%$)，大量飼養 OX513A 成蚊(圖 2-3)，雌蚊於吸血三天後產卵，然後以刷子輕刷下卵條上的蚊卵後(圖 2-4 和圖 2-5)，定量蚊卵數置入水盤後，蚊子幼蟲孵化後以定量的飼料飼養幼蚊(圖 2-6 和圖 2-7)，在幼蚊化蛹的第一天，以特製的壓克力裝置(圖 2-8)依蚊蛹大小篩出雄蚊蛹(圖 2-9)，讓雄蚊羽化後釋放至田間(圖 2-10)，而雌蚊除保留少數作繼代培養外，皆將殺死。該公司的基因轉殖埃及斑蚊的飼養效率非常高，因此在 Juazeiro 市的釋放工作非常順利。後來選在 Sao Paulo 東北方約 80 哩處的 Piraciaba 市作為第二個釋放區域，惟在初步釋放後，該市的檢察官以基因轉殖蚊有安全疑慮為由下令暫停，使整個計畫的進展受到嚴重的打擊，該公司目前正在努力溝通中。

三、心得及建議

傳統登革熱防治方法包括殺蟲劑噴灑及清除孳生源已很難在臺灣南部達到登革熱的防治效果，因此我們極需創新的登革熱防治法來解決登革熱在臺灣肆虐的問題，惟若在臺灣推動以基改蚊子防治登革熱定會激起很大的反彈，且所需費用非常龐大，因此，我建議可以採用 Wolbachia 的防治方法，其主要依據為：

(一)傳統登革熱防治方法已無法遏止登革熱在南部的流行。

(二)wMel 株的 Wolbachia 只感染蚊子不會感染人及其他動物。

- (三)在臺灣登革熱的另一種病媒蚊白線斑蚊自然感染 *Wolbachia* 且感染率很高。
- (四)釋放感染 wMel 株 *Wolbachia* 的防治法為生物防治法而不是應用基改蚊子的遺傳防治。
- (五)所需費用比基因轉殖蚊少很多。

附圖

(一)參訪巴西登革熱撲滅計畫：感染 Wolbachia 埃及斑蚊之田間釋放

圖 1-1



圖 1-2



圖 1-3



圖 1-4



(二)參訪基因轉殖蚊子工廠

圖 2-1



圖 2-2



圖 2-3



圖 2-4



圖 2-5

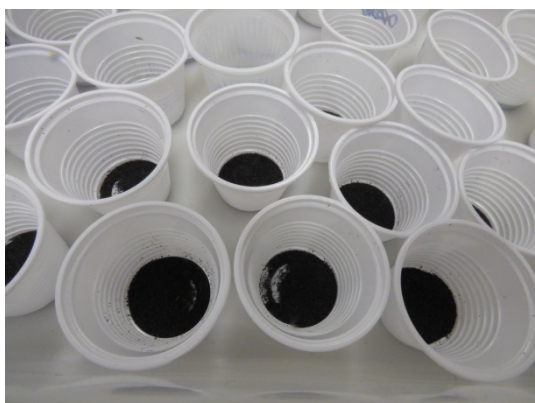


圖 2-6



圖 2-7



圖 2-8



圖 2-9

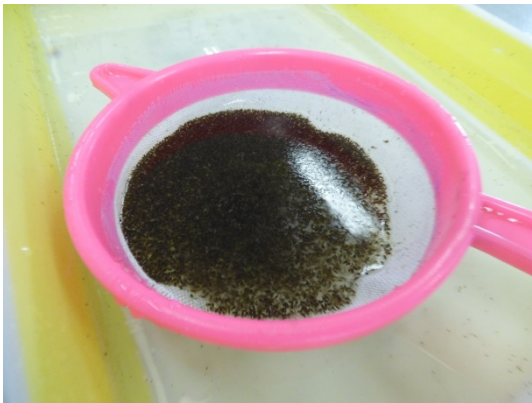


圖 2-10



附件一、巴西基因轉殖蚊子工廠與田間試驗所邀請函



Quadra D13 – Lote 15
Distrito Industrial do São Francisco
48908-000 JUAZEIRO, BAHIA, BRASIL
Fone: (74) 3612.5399/Fax: ramal 228
CNPJ 05.378.378/0001-47
www.moscamed.org.br

April 06, 2015

Dr. Cheng-Chen Chen
Institute of Microbiology and Immunology
National Yang-Ming University

Dear Dr. Chen,

As a Social Organization the of Brazilian government and with strong links with International Atomic Energy Agency, we would like to invite you to come to Brazil to visit the Mosquito Rearing Facility at Juazeiro City, Bahia State, during 4-6 June 2015.

We will provide all logistic support for you in terms of hotel reservation, transportation and meals.

We are looking forward to have you here in our Valley.

Sincerely,

Jair Fernandes Virginio
Chef Executive Officer
jair@moscamed.org.br

Margareth L. Capurro
Health Project Scientific Coordinator
mcapurro@icb.usp.br

Organização Social – Biofábrica Moscamed Brasil