

云南省家野两型疫源地七种主要蚤类传播鼠疫的实验研究

何晋侯 梁云 张洪英 赵文红 吴明寿 胡晓玲 杨智明

摘要 用动物模型及膜饲养方法对云南家、野两型鼠疫疫源地的七种蚤进行了传播鼠疫多项指标(感染率、菌栓形成率、媒介效能等八项)的全面研究,并以完全量化和数据来界定其媒介地位、媒介作用。结果表明:印鼠客蚤、特新蚤分别是家、野疫源地的主要媒介;人蚤是云南人间鼠疫的重要媒介。报道了印鼠客蚤、特新蚤能形成两次性菌栓;人蚤、特新蚤、棕形额蚤、不等单蚤的媒介效能和媒介指数;七种蚤对人的嗜血性及生存期限;从媒介角度揭示家鼠疫源地的稳定性和顽固性,推断疫源地从静止到复燃的原因;还修正了缓慢细蚤的媒介地位;在野鼠鼠疫疫源中否定了方叶栉眼蚤起主要媒介的作用,佐证了高山姬鼠在该疫源地主要宿主的地位。

关键词 鼠疫 媒介指数 感染率

A Study on the Transmission of Plague Though Seven Kinds of Fleas in Rat Type and Wild Rodent Type Plague Foci in Yunnan He Jin-hou, Liang Yun, Zhang Hong-ying, et al. Yunnan Institute of Epidemic Disease Control and Research, Dali 671000

Abstract In order to assess vector position and vector action of seven kinds of fleas in the rat type and wild rodent type plague foci in Yunnan, we studied the indices as: infection rate, rate of feed bacterial emboli, colony transmission vector efficiency, life-span, bloodthirsty to human, body weight, quantity of blood-sucking, rate of dissociation by using animal model and raise film method. The results showed that *Xenopsylla cheopis* and *Neopsylla specialis specialis* were the main vectors of two type plague foci. *Pulex irritans* was an important vector of human plague in Yunnan. This paper reported that *Xenopsylla cheopis* and *Neopsylla special special* could twice form bacterial emboli, and with other information about vector efficiency, Index of *Pulex irritans*, *Neopsylla special special*, *Frontopsylla spadix*, *Monopsyllus anisus*, rate of bloodthirsty to human and life-span of seven kinds of fleas. Reason from quiescence to resuscitate was also deduced and the vector position of *Leptopsylla segnis* was revised. The vector action of main vector for *Ctenophthalmus quadratus* was negated which proved that *Apodemus chevrieri* was the main reservoirs in these plague foci.

Key words Plague Vector index Infection rate

云南鼠疫流行历史悠久,1956年控制了鼠间和人间鼠疫流行后,70年代发现了滇西纵谷大绒鼠鼠疫自然疫源地,80年代证实了云南黄胸鼠鼠疫自然疫源地。1982年家鼠鼠疫复燃,至1995年先后在云南历史疫区的7地(州)29县(市)发生鼠间鼠疫流行。在家鼠鼠疫流行的24个县(市)中有12县(市)发生28起人间鼠疫

138例,死亡2人。调查表明,家、野两型疫源地内发现自然感染蚤有11种,为究明家、野两型鼠疫源地的主要媒介,明确各种自然感染蚤在流行病学中的意义,为监测、防治对象提出科学依据,我们对云南常见的7种自然感染蚤进行了感染率、菌栓形成率、集群传疫率、单只蚤的媒介效能和媒介指数、对人的嗜血性能、感染和非感染蚤的生存期限(寿命)、印鼠客蚤、缓慢细蚤的游离性观察等进行了实验研究。

作者单位:云南省流行病防治研究所 大理 671000

材料和方法

一、实验蚤种及来源:印鼠客蚤(*Xenopsylla cheopis*)、缓慢细蚤(*Leptopsylla segnis*)、不等单蚤(*Monopsyllus anisus*)、特新蚤指名亚种(*Neopsylla specialis specialis*, 以下简称特新蚤)、方叶栉眼蚤(*Ctenophthalmus quadratus*)、棕形额蚤(*Frontopsylla spadix*)、人蚤(*Pulex irritans*)等均采自大理、剑川,在各自较适宜的温湿下规范化传代养殖后供试。

二、鼠疫菌株:

1. 家鼠型鼠疫菌 1 352 株:分离自黄胸鼠体,甘油阴性强毒株,用于家鼠蚤、人蚤的试验。

2. 野鼠型鼠疫菌 412 株:分离自大绒鼠体,甘油阳性强毒株。用于野鼠蚤的试验。

三、实验动物:黄胸鼠、大绒鼠、高山姬鼠(齐氏姬鼠)均捕自大理,灭蚤后健康饲养 20 日后供试。小白鼠、豚鼠本所动物室供应。

四、实验环境:系全自动恒温恒湿装置。在各蚤繁殖较适温湿度下进行。

五、实验方法:

1. 蚤的感染:将试蚤分别置于被鼠疫菌皮下攻击濒死前 0.5~1 小时的宿主动物体上吸血感染,待鼠死后检蚤并在显微镜下选出吸饱血者。随机抽检该批 10%,病原体分离阳性率(最初感染率)达 90% 以上供试^[1,2]。终身感染率为供试蚤死后检菌阳性率;鼠疫菌存活指数为终身感染率与最初感染率之比。

2. 人蚤的感染:鼠疫菌人血混合达 50 亿/ml 个菌,利用 PARAFILM 膜人工控制温湿度连续三天感染后供试^[3]。

3. 感染蚤集群传播:随意抽取 20~30 只感染蚤投入事先装有 1 只动物玻缸内叮咬传播,同法每种蚤传 9~10 只动物(人蚤 6 组,每组蚤 150 只,豚鼠 3 只)。尔后常规饲养,鼠死后分离病原体,存活动物 30 天后处死行病原体及血清学检查,阳性者均视为特异性感染^[4]。

4. 媒介效能及媒介指数测定:感染蚤或有栓塞迹象者,每只每天叮咬宿主动物 1 只,每次 3 小时,直到蚤死后停传。其方法和菌栓蚤判定标

准、计算公式详见文献^[1]。

5. 感染蚤寿命观察:分别抽取一定数量感染蚤按规范化养殖和饥饿两种进行,方法见文献^[4]。

6. 蚤对人的嗜血性观察:养殖吸血蚤饥饿 1~9 天仍活跃者,用套环固定于供试人的前臂内侧皮肤,叮咬 1~2 小时后,在显微镜下观察吸血情况^[5]。

7. 印鼠客蚤与缓慢细蚤游离性的比较:取一定量蚤置未感染活的黄胸鼠体一日后处死及感染濒死鼠体上,鼠死后观察 5 日,蚤一旦游离出来即可跳到粘蚤纸上固定计数。

结 果

一、蚤感染率及鼠疫菌存活指数:结果表明各蚤种凡叮吸着鼠疫动物濒死血液的最初感染率均能达到 87.5%~100%。但方叶栉眼蚤的最初感染率明显的低于其它被试蚤种。各蚤种感染鼠疫菌后因排菌能力不同,则终身感染率及鼠疫菌存活指数,种间差异有高度显著性($P < 0.005$);其中人蚤、印鼠客蚤、特新蚤、不等单蚤、缓慢细蚤之间无明显差异($P > 0.05$),它们均明显的高于棕形额蚤($P < 0.005$);棕形额蚤又明显的高于方叶栉眼蚤($P < 0.005$),见表 1。

表 1 七种蚤对鼠疫菌的感染率及存活指数

蚤 名	实验蚤数	最初感染率(%)	终身感染率(%)	阴转率* (%)	菌存活指数
人 蚤	29	100.00	93.00	7.00	0.93
印鼠客蚤	110	100.00	90.91	9.09	0.91
缓慢细蚤	96	100.00	87.50	12.50	0.88
不等单蚤	28	100.00	85.71	14.29	0.86
特新蚤	84	100.00	83.33	16.67	0.83
棕形额蚤	45	100.00	62.22	37.80	0.62
方叶栉眼蚤	69	87.50	25.00	75.00	0.29

* 阴转率公式见文献^[2]

二、集群叮咬传播试验:①鼠疫菌 1 352 株感染:印鼠客蚤叮传 9 只黄胸鼠(每鼠 28 只蚤),全部特异死亡(100.00%);不等单蚤传 10 只黄胸鼠(每鼠 30 只蚤),死亡 2 只(20.00%);人蚤传 18 只豚鼠(每 3 只鼠 150 只蚤),死亡 17 只(94.00%);缓慢细蚤传 10 只黄胸鼠(每鼠 26~42 只蚤),无死亡(0.00%)。②鼠疫菌 412 株感

染:特新蚤传 10 只大绒鼠(每鼠 20 只蚤),全部死亡(100.00%);棕形额蚤传 9 只大绒鼠(每鼠 20 只蚤),死亡 3 只(33.3%);不等单蚤传 10 只黄胸鼠(每鼠 30 只蚤),死亡 5 只(50.00%);方叶栉眼蚤传 23 只大绒鼠(每鼠 20~25 只),无死亡(0.00%)。③结果经 χ^2 检验表明被试蚤种的传疫率可分为强(90%~100%)、弱(20%~50%)、无(0.0%)三个等级,即传疫强的有印鼠客蚤、特新蚤、人蚤,三者差异无显著性($P > 0.05$)。传疫弱的是不等单蚤、棕形额蚤,两者差异无显著性($P > 0.05$),但与前三者差异具有

高度显著性($P < 0.005$)。不等单蚤用两种不同鼠疫苗感染传播,两者差异也无显著性($P > 0.05$)。无传疫能力的是缓慢细蚤、方叶栉眼蚤。

三、媒介效能、媒介指数测定:结果可分高、中、低、无四个等级。印鼠客蚤为高效能高指数媒介;特新蚤、人蚤为中等效能中等指数媒介;棕形额蚤、不等单蚤、缓慢细蚤为低效能低指数媒介,方叶栉眼蚤为无媒介效能。印鼠客蚤、不等单蚤、缓慢细蚤传黄胸鼠、小白鼠,特新蚤、棕形额蚤、方叶栉眼蚤传大绒鼠,人蚤传豚鼠(表 2)。

表 2 七种蚤传播鼠疫的媒介效能及媒介指数

蚤名	实验蚤数	感染蚤数	栓塞蚤数	传播蚤数	平均存活天数* 平均栓塞天数	感染	栓塞	传播	媒介	栓塞存	媒介
						潜能	潜能	潜能	效能	活潜能	指数
印鼠客蚤	30	25	18	28	4.44/10.67	0.833	0.720	1.556	0.933	0.416	0.388
特新蚤	30	29	16	10	1.63/7.00	0.967	0.552	0.625	0.334	0.233	0.078
人蚤	29	27	7	7	1.00/7.40	0.931	0.259	1.000	0.241	0.135	0.033
棕形额蚤	45	28	4	3	2.25/12.25	0.622	0.143	0.750	0.067	0.184	0.012
不等单蚤	28	24	9	1	2.89/16.89	0.857	0.375	0.111	0.036	0.171	0.006
缓慢细蚤 ^①	36	31	0	0	0	0.861	0	0	0	0	0
缓慢细蚤 ^②	36	27	1	1	3.00/5.00	0.750	0.037	1.000	0.028	0.600	0.017
方叶栉眼蚤	42	8	0	0	0	0.190	0	0	0	0	0

* 栓塞后平均存活天数/感染后形成菌栓的平均天数;①传播至黄胸鼠,②传播至小白鼠

四、蚤感染前后寿命观察:经方差分析表明:①5 种未感染鼠疫苗的蚤平均寿命具有高度显著性差异,其中印鼠客蚤远比缓慢细蚤、特新蚤、棕形额蚤、方叶栉眼蚤的平均寿命长($P < 0.01$);后四种蚤的平均寿命差异无显著性($P > 0.05$)。②7 种感染鼠疫苗的蚤平均寿命种间差异具有高度显著性($P < 0.01$),其中家鼠蚤中印鼠客蚤远比不等单蚤、缓慢细蚤的平均寿命长($P < 0.01$),后两种蚤之间差异无显著性(P

> 0.05)。野鼠蚤中方叶栉眼蚤的平均寿命远比棕形额蚤、特新蚤长($P < 0.01$),棕形额蚤又远比特新蚤长($P < 0.01$)。人蚤感染鼠疫苗后的平均寿命远比其它 6 种蚤的寿命短($P < 0.05 \sim 0.001$)。③感染和未感染蚤的寿命除方叶栉眼蚤差异无显著性外($P > 0.05$),其它蚤种感染蚤的寿命明显短于未感染的寿命($P < 0.01$),见表 3。

表 3 蚤感染鼠疫苗前后的寿命观察结果

蚤名	温度 ℃	未感染蚤寿命						感染蚤寿命						栓塞蚤寿命		
		供血			饥饿			供血			饥饿			最长	最短	平均
		最长	最短	平均	最长	最短	平均	最长	最短	平均	最长	最短	平均			
印鼠客蚤	23	377	2	172.4	34	1	17.3	177	1	51.6	21	1	9	10	1	4.4
不等单蚤	23	-	-	-	21	6	11.2	44	6	17.3	-	-	-	4	2	2.9
缓慢细蚤	21	127	1	52.0	13	1	6.0	80	1	15.9	7	1	3	3	-	3.0
特新蚤	19	70	7	42.2	17	1	6.6	63	5	11.7	-	-	-	2	1	1.0
棕形额蚤	19	110	6	49.3	14	4	8.2	75	2	25.2	-	-	-	3	1	2.3
方叶栉眼蚤	19	84	6	48.2	14	6	7.9	96	3	44.1	-	-	-	0	0	0.0
人蚤	25	-	-	-	-	-	-	16	1	5.8	-	-	-	1	1	1.0

五、蚤对人的嗜血性观察:结果表明,蚤对人

的嗜血率高低,与饥饿有关(6 天最高),57 只人

蚤饥饿 1 天后对人全部吸血,嗜血率 100.00%。棕形额蚤饥饿 1、4、6 天,试蚤数次 45、97、88 只,吸血蚤为 23、70、72 只,嗜血率为 51.11%、72.17%、81.82%。印鼠客蚤饥饿 1、3、6、9 天,试蚤 138、115、82、59 只,吸血蚤 41、47、61、17 只,嗜血率 29.71%、40.87%、74.39%、28.81%。特新蚤饥饿 1、4、6 天,试蚤 198、65、65 只,嗜血蚤 107、32、41 只,嗜血率 54.24%、49.23%、63.08%。不等单蚤饥饿 3、6、9 天,试蚤 67、61、56 只,吸血蚤 23、26、26 只,嗜血率 34.30%、42.60%、38.80%。缓慢细蚤饥饿 1、3、6 天,试蚤 96、105、60 只,吸血蚤 19、30、8 只,嗜血率 19.47%、28.57%、13.33%。方叶栉眼蚤饥饿 1、2 天,试蚤 40、50 只,吸血蚤 0、1 只,嗜血率 0、2.00%。经检验证明因蚤种不同对人的嗜血率也不同(种间差异具有高度显著性 $P < 0.005$)。可分为最高、较高、较低、最低四个等级。嗜血率最高的是人蚤,与其它试蚤差异均有高度显著性 ($P < 0.005$)。较高的是棕形额蚤、印鼠客蚤及特新蚤,三者差异无显著性 ($P > 0.05$)。较低的是不等单蚤、缓慢细蚤,两者差异无显著性 ($P > 0.05$)。最低的是方叶栉眼蚤,均与上述蚤种具有明显的差异 ($P < 0.005$)。

六、印鼠客蚤与缓慢细蚤游离性比较:结果表明在感染蚤和非感染蚤的游离状态下,印鼠客蚤游离率分别为 94.39% 与 93.50%,缓慢细蚤游离率为 52.47% 与 47.71%,两蚤间相比无论非感染或感染状态下,游离性均具有高度显著性差别 ($P < 0.01$)。可见印鼠客蚤善游离,其流行意义大于缓慢细蚤。

讨 论

实验表明,印鼠客蚤菌栓形成率较高,且有 11.1% 的栓塞蚤具有形成两次菌栓的能力^[1],还有 33.3% 栓塞蚤,每只可传播致死 2~3 只动物,集群传播宿主动物传疫率达 100%。从而证明它具有特强的传播能力。该蚤媒介效能和媒介指数相当于 Kartman (1956) 报道的 1.35 倍和 3.88 倍,大于本实验其它蚤类的 3~33 倍和 5~65 倍,作为主要传播媒介和前人定论一致。经

实验非染疫的印鼠客蚤在适宜环境中可存活 377 天。饥饿状态下,长达 34 天。感染鼠疫苗后,存活时间可达 177 天,120 天仍具有传播能力,132 天还分离到鼠疫苗;其带菌时间比黄胸鼠慢性带菌 29 天长 4.5 倍,与 Macchiavello (1941) 报道印鼠客蚤在空洞中可保存鼠疫苗长达 6 个月以上基本一致,从媒介角度保证了鼠疫苗在自然界的循环,从而导致云南家鼠鼠疫自然疫源地的稳定性和顽固性。由此推断这可能是云南家鼠鼠疫从静止(即间歇期)到再复燃的原因之一。再是该蚤对人具有较强的嗜血能力和较高吸血量。感染前和感染后自鼠尸的游离率分别为 93% 和 94%。可以认为当动物鼠疫流行时,大量动物死亡之后,离体的菌栓蚤即可造成散在的人间鼠疫病例出现。云南当前动物鼠疫流行时,往往疫情发现的同时就有个别病例出现足以证实印鼠客蚤也是人间鼠疫的传播者。

不等单蚤形成菌栓能力较差,栓塞潜能约是印鼠客蚤的 1/2。栓塞蚤中具有传疫能力的数量不多,它的媒介效能和媒介指数只是印鼠客蚤的 1/26 和 1/65,居本试验蚤种的第五位。集群传播黄胸鼠传疫率(20%)较低,改用鼠疫苗 412 株感染的蚤集群传播黄胸鼠和小白鼠的传疫率(50%, 59%),虽有上升,也仅是印鼠客蚤的 1/2,故认为不等单蚤只能在家鼠中起到次要媒介和偶然媒介的作用。但因部分感染蚤带菌时间较长,对鼠疫苗的种群延续可起一定作用。

缓慢细蚤对黄胸鼠的媒介效能为零,对小白鼠的媒介效能和媒介指数是印鼠客蚤的 1/33 和 1/23。集群传播黄胸鼠传疫率为零,故认为该蚤不易形成菌栓,对宿主动物未发现传播能力。从 80 年代以来缓慢细蚤占优势的历史疫区(除个别地方蚤相更迭为印鼠客蚤占优势外),未发现动物鼠疫流行,可充分说明缓慢细蚤不是云南家鼠鼠疫的主要媒介。染疫蚤中,前 5 天约有 1/3 的蚤死亡,30 天内死亡率即达 90.63%,尤其是染疫饥饿蚤 7 天内即全部死亡,不可能起到间歇期保存鼠疫苗的作用。

特新蚤、栓塞蚤中有 5.6% 的蚤出现二次性菌栓。用单只蚤传大绒鼠的媒介效能和媒介指

数为印鼠客蚤的 1/3 和 1/5, 居七种蚤的第二位。但在野鼠疫源地中该蚤的媒介效能和媒介指数是棕形额蚤的 5 倍和 7 倍居首位, 该蚤集群传播大绒鼠传疫率为 100% 也居首位, 说明特新蚤是野鼠鼠疫的主要媒介。对鼠疫菌种群的延续起着重要的作用。该蚤对人的嗜血率较高, 但菌栓形成后仅能存活 1~4 天 (s_x 1.63 天), 宿主动物无经济价值, 人接触它的机会较少, 这一特点可能是云南野鼠疫源地自发现以来未发现人间鼠疫病例的重要因素之一。

本研究经三次感染方叶栉眼蚤, 感染率为 87.5%、80%、90%, 与现场该蚤检菌数多相吻合。但在菌栓形成观察中均未见菌栓形成蚤。多批次多组集群叮咬传播大绒鼠, 也未能致高敏感的宿主动物特异性死亡, 其媒介效能为零。本研究又分别在接近现场气温 16℃ 和 19℃ 环境中, 以饲养蚤进行实验, 分 5~10 组蚤集群叮咬大绒鼠, 未能造成大绒鼠特异性死亡, 也未见此蚤形成菌栓。说明该蚤不能形成菌栓不是外界因素影响, 而是它本身的属性所致。为避免“经饲养的昆虫, 往往会降低后裔的生活力、繁殖力、寿命和性比等适应品质”, 而丧失菌栓形成能力的疑虑。又从现场鼠窝收集方叶栉眼蚤, 经健康饲养一周感染后集群叮咬传播试验, 结果 8 组大绒鼠观察 1 个月均安然无恙, 处死鼠后病原学和血清学检查均为阴性; 也未发现菌栓蚤, 说明不能形成菌栓并非实验因素所致。由此表明方叶栉眼蚤不能成为云南野鼠鼠疫自然疫源地的有效媒介。

棕形额蚤集群传播大绒鼠的传疫率为 33.3%, 传播能力明显的低于印鼠客蚤和特新蚤。该蚤菌栓形成能力较低, 但栓塞蚤的传播能力较强。媒介效能和媒介指数是印鼠客蚤的 1/14 和 1/33。是特新蚤的 1/5 和 1/6。居野鼠蚤的第二位, 可视为次要媒介。该蚤对鼠疫菌的带菌时间比特新蚤长, 且部分栓塞蚤形成的时间较

晚, 说明该蚤在动物鼠疫高峰期后可起到保持低强度流行、对鼠疫菌种群延续起着重要的协同作用。该蚤家、野鼠类都有寄生, 自然界均检出过鼠疫菌, 可起到家、野生动物鼠疫相互交换的桥梁作用。

人蚤研究表明, 使用人血混合鼠疫菌, PARAFILM 膜人工感染人蚤的最初感染率达 95%~100%, 终身感染潜能 0.93, 阴转率 7%。感染蚤集群传播 18 只动物 12 日全部死亡, 传疫率为 94.4% (因其中一只分离菌时污染视为阴性), 显示人蚤具有较强的传播能力。27 只终身感染蚤、7 只形成菌栓, 每只叮咬传播致死动物一只, 动物死亡时间为 4~8 天, 栓塞潜能、传播潜能分别为 0.259、1.000, 菌栓形成时间 7~9 天栓塞后平均存活 1 天, 栓塞存活潜能为 0.135, 媒介效能和媒介指数分别是印鼠客蚤的 1/4、1/12, 居本实验蚤类的第三位, 说明云南人蚤具有较强的媒介效能。由于该蚤对人的嗜血率达 100%。人也是该蚤的主要宿主之一或攻击对象, 在现疫区一旦人蚤数量增多、指数增高, 对人的威胁则可想而知。由此推论云南历史上的人间鼠疫大流行, 人蚤起着重要的媒介作用。

参 考 文 献

- 1 梁云, 何晋侯, 赵文红, 等. 印鼠客蚤在黄胸鼠种群中传播鼠疫媒介效能的实验研究. 中国地方病防治杂志, 1993, 8: 214~216.
- 2 梁云, 何晋侯, 赵文红, 等. 方叶栉眼蚤传播鼠疫媒介效能的实验研究. 地方病通报. 1995, 1: 21~23.
- 3 赵文红, 何晋侯, 张洪英, 等. 人蚤对人和几种鼠类的嗜血性及传播鼠疫的初步实验研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1996, 7: 155~156.
- 4 何晋侯, 张洪英, 赵文红, 等. 印鼠客蚤缓慢细蚤感染鼠疫菌生存期限及集群传播的研究. 中国地方病防治杂志, 1996, 11: 11~13.
- 5 吴明寿, 何晋侯, 张洪英, 等. 印鼠客蚤与缓慢细蚤嗜吸人血能力的实验观察. 中国媒介生物学及控制杂志, 1993, 4: 456~457.

(收稿: 1996-10-28 修回: 1996-12-04)