

伍氏病蚤雷州亚种传播鼠疫媒介能力的研究

欧汉标 沈荣煊 麦海 戴广祥 张曼青 杨华源 李玉莲 曾敏 余向明

【摘要】 目的 查明伍氏病蚤雷州亚种传播鼠疫的能力,评价其媒介作用和地位。方法 在温度 $19^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $85\% \pm 5\%$ 条件下 根据动物间鼠疫传播的原理,分别进行了蚤的感染、集群传播、单蚤单鼠传播、单蚤传播、菌栓形成和带菌蚤生存期限等试验。结果 蚤感染率94.64%,集群传疫率100%,单蚤单鼠传疫率30%,单蚤传播共传黄毛鼠388只,传播成功9只,传播潜能0.360,媒介效能0.257,栓塞存活潜能0.868,媒介指数0.223,吸血的染疫蚤平均存活时间17.58天(1~58天),饥饿的染疫蚤平均存活时间7.25天(1~16天),菌栓蚤平均存活时间7.64天(1~16天),菌栓形成时间8.80天(2~16天),菌栓形成率78.12%。结论 伍氏病蚤有传播鼠疫的能力,可在鼠-蚤-鼠模式中起媒介作用。

【关键词】 伍氏病蚤雷州亚种;鼠疫;媒介;效能

Study on vector ability of *Nosopsyllus wualis leizhouensis* in the transmission of plague OU Han-biao, SHEN Rong-xuan, MAI Hai, DAI Guang-xiang, ZHANG Man-qing, YANG Hua-yuan, LI Yu-lian, ZENG Min, YU Xiang-ming. Zhanjiang Institute of Plague Disease Control and Research, Zhanjiang 524037, China

【Abstract】 **Objective** To find out the vector ability and function of *Nosopsyllus wualis leizhouensis* in the transmitting plague. **Methods** In T: $19^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, RH: $85\% \pm 5\%$, data regarding the vector ability as cluster spreading, single flea spreading, single flea transmitting plague to single animal, formative bacterial embolus and infection fleas life-span through experiments was gathered. **Results** The rate of infection on fleas was 94.64%, with 100% transmission rate of colony to spread, and 30% from single flea spreading to single animal. In the experiment of single flea transmission, all of the 388 rattus loseas were bitten by the fleas with bacterial, but only 9 animals were characteristically infected with the transmission potential, vector efficiency, survival potential of embolus, vector index as 0.360, 0.257, 0.868 and 0.223 respectively. The mean survive days of infected flea feed with blood were 17.58(1-58), and the mean survive days of hunger infected flea were 7.25(1-16). Formative bacterial embolus days were 8.80(2-16) and the rate of embolus flea was 78.12%. **Conclusion** *Nosopsyllus wualis leizhouensis* could serve as vector and important in the mode of plague transmission.

【Key words】 *Nosopsyllus wualis leizhouensis*; Plague; Vector; Efficiency

伍氏病蚤雷州亚种(*Nosopsyllus wualis leizhouensis*)是广东省雷州半岛鼠疫疫源地农田野鼠的体表寄生蚤,主要宿主动物是黄毛鼠(*Rattus losea*)和板齿鼠(*Bandicota indica*),次要宿主为黄胸鼠(*Rattus flavipectus*)。其自然分布广,季节消长的高峰期在11月至次年5月,与过去疫源地的鼠疫流行季节相一致。印鼠客蚤(*Xenopsylla cheopis*)在本型疫源地中的媒介作用和地位,已人所共知。然而,在1973~1987年的鼠疫监测中,发现黄毛鼠的血清学鼠疫间接血球凝集(IHA)、鼠疫反向血球凝集(RIHA)阳性,占检出动物的半数。因此,黄毛

鼠及其体表的主要寄生蚤是否存在宿主和媒介作用,必须通过实验研究来证实。本实验依照动物间鼠疫的传播模式,探明伍氏病蚤传播鼠疫的能力,从而确定该蚤的鼠疫流行病学意义,为今后探讨雷州半岛疫源地的性质和指导本省的鼠防工作提供理论依据。

材料与方法

一、实验菌株及材料

1. 蚤源 伍氏病蚤采自雷州半岛农田黄毛鼠体表,印鼠客蚤采自黄胸鼠体表,经人工养殖传代,选取4~5代同龄蚤供试验。

2. 动物 黄毛鼠捕获于雷州半岛田野,选取成年、健康、非孕鼠,用75%酒精处理体表昆虫后,从心内采血、按常规IHA测定和排除鼠疫F1抗体阳性,饲养观

察 2 周,然后用专车送往实验场所,继续健康观察 1 周后进入实验。小白鼠由广东医学院和云南省地方病防治所(云南省地病所)实验动物室提供。

3. 菌株:鼠疫菌系云南省地病所于 1985 年从瑞丽黄胸鼠体内分离的家鼠型菌 1352 株,菌种按常规方法开封,攻击小白鼠,以第 2 代纯培养进行生化及毒力测试证实属强毒菌株。

4. 培养基:1/20 万龙胆紫溶解兔血胰酶消化液琼脂培养基。

5. 试剂:鼠疫 IHA 试剂、鼠疫噬菌体均由云南省地病所提供。

6. 实验条件:使用云南省地病所鼠疫强毒室,有恒温、恒湿装置,可根据需要调整温度、湿度,在温度为 $19^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$,湿度为 $85\% \pm 5\%$ 条件下进行试验。

二、实验方法

1. 鼠的感染试验:鼠疫菌经斜面培养基 28°C 24 h 培养后,用无菌生理盐水洗下,充分混合均匀,用比浊法稀释菌液,同时做菌落形成计数。按每只黄毛鼠 5 万~7 万个菌,于黄毛鼠腹股沟皮下注射 0.5 ml 菌液,使黄毛鼠被动感染,然后隔离饲养,观察发病情况。

2. 蚤的感染试验:将饥饿 2~3 天的试验蚤置于感染后发病濒死(死前 0.5~1.0 h)的鼠体上吸血感染,待鼠死后检出蚤,在镜下观察吸血情况,剔除未吸血蚤。随机抽取 10% 吸血蚤做拉胃培养,阳性率(最初感染率)达 90% 以上方可供试。吸血蚤观察方法:在鼠体上取出蚤,单只置于透明薄膜袋子里,用袖珍灯光显微镜(WY, S40 $\times$)直接观察,胃内有新鲜血的为吸血蚤。

3. 集群传播试验:随机抽取感染后的伍氏病蚤、印鼠客蚤各 330 只,同蚤 30 只为一组,分设 11 组,每组投入 1 只黄毛鼠,让蚤自然叮咬黄毛鼠。常规饲养观察,死鼠解剖,培养分离病原体;存活鼠于 25 天处死,分别做病原学和血清学检查,阳性者视为特异性感染,结果计算集群传疫率。

4. 单蚤单鼠传播试验:随机抽取感染后的伍氏病蚤、印鼠客蚤各 20 只,雄、雌比为 5:15,黄毛鼠 40 只,每只蚤对应投入 1 只黄毛鼠,让蚤自然叮咬传播。常规饲养,鼠死分离病原体,存活鼠 30 天处死,做病原和血清学检查,阳性视为特异性感染,结果计算单蚤单鼠传疫率。

5. 单蚤传播试验:抽取一定雌、雄比例的感染伍氏病蚤 30~40 只,单只编号。每只蚤每天 1 次固

定在黄毛鼠后足上叮咬吸血,每次 3 h,每天更换 1 只新的黄毛鼠吸血传播,直至蚤死停传。叮咬传播完毕后,需及时把蚤取出,在袖珍灯光显微镜下观察吸血和菌栓形成情况,并记录菌栓形成和消失时间。活蚤保留待下次用,死蚤则投入 1/10 万龙胆紫盐水液中,次日拉胃培养,记录死亡时间和培养结果,阳性为最终感染蚤。被叮咬的黄毛鼠,置饲养笼内,对应编号,常规饲养。死鼠分离病原体,阳性视为特异性死亡;活鼠 20 天后处死,做病原和血清学检查,阳性者均视为传播成功。蚤固定吸血方法:黄毛鼠固定于特制小铁笼内,把其一侧后腿拉出外露;蚤单只投进小试管内,然后把黄毛鼠后足套入小试管内,用纱布、胶布把试管口和黄毛鼠后足固定牢固,注意检查试管口与鼠腿之间是否有空隙,严防疫蚤从其中跳越。

6. 媒介效能和指数的计算:参照 1956 年 Kartman 提出的指标,在单蚤试验结果里分别计算伍氏病蚤的感染潜能、栓塞潜能、栓塞存活潜能、媒介效能和媒介指数^[1-3]。

7. 栓塞蚤菌栓形成观察:抽取一定数量的感染伍氏病蚤,投在小白鼠体上正常供血饲养,每隔 1 天,即把小白鼠处死,检出蚤在镜下观察其吸血和菌栓形成情况,并更换新小白鼠,直至蚤全部死亡。菌栓判定标准:镜下食道内(部分或整段)充满新鲜血;食管后段或前胃有黑色菌柱均被视为菌栓蚤。

8. 感染蚤的生存期限观察:抽取一定雌、雄比例的感染伍氏病蚤,分别进行吸血与饥饿的寿命观察。吸血蚤用小白鼠供血,每隔 1 天更换小白鼠 1 只,每天观察死蚤情况,饥饿蚤单只投入试管内,每天观察 1 次,蚤死检出,投入 1/10 万龙胆紫盐水中,次日拉胃培养。

结 果

一、伍氏病蚤的染疫率(最初感染率)和最终感染率

1. 染疫率:待鼠发病至濒死前 0.5~1.0 h,即投蚤进行蚤感染,共投 7 个批次,随机抽取一定雌、雄比例的吸血蚤,做拉胃培养检查(表 1)。拉胃检查了 112 只,阳性 106 份,染疫率(最初感染率)为 94.64%,不同批次和雌、雄染疫率不同,经 χ^2 和 χ^2 校正检验差异均无显著性($P > 0.05$)。

表1 伍氏病蚤感染鼠疫菌的染疫率

批次	感染蚤只数			阳性蚤只数			染疫率 (%)
	雄	雌	合计	雄	雌	合计	
1	6	12	18	3	12	15	83.33
2	6	12	18	6	12	18	100.00
3	8	10	18	8	9	17	94.44
4	5	11	16	5	11	16	100.00
5	6	10	16	4	10	14	87.50
6	6	11	17	6	11	17	100.00
7	2	7	9	2	7	9	100.00
合计	39	73	112	34	72	106	94.64

2. 最终感染率和阴转率 :随机抽取染疫率为100%的感染蚤 121 只(雌 77 只 雄 44 只),用小白鼠供血饲养 ,待蚤死亡即拉胃培养病原体 ,有 105 只培养出鼠疫菌 ,16 只培养阴性 ,阴转率为13.22% ,其中雄蚤为22.72% ,雌蚤为7.79% ,雌、雄蚤阴转率差异有显著性($P < 0.05$),最终感染率(存菌率)86.78%。

二、病蚤集群传播能力

30 只伍氏病蚤传 1 只黄毛鼠 ,330 只蚤传 11 只黄毛鼠 ,黄毛鼠均在第 5 ~ 10 天内全部死亡 ,平均 7.18 天 ,经病原学检查均为特异性死亡 ,该蚤集群传疫率为 100%。另用于对照的 330 只印鼠客蚤所传的 11 只黄毛鼠也均为特异性死亡 ,群传疫率同为 100%。

三、单蚤单鼠传播能力

20 只供试伍氏病蚤 ,结果有 6 只能成功传播黄毛鼠致死 ,单蚤单鼠传疫率为 30%。而 20 只印鼠客蚤有 7 只能成功传播黄毛鼠致死 ,单蚤单鼠传疫率为 35% ,两者差异无显著性($P > 0.05$)。

四、单蚤传播能力

1. 感染潜能 :单蚤传播 35 只伍氏病蚤死亡后 ,有 32 只能分离出鼠疫菌 ,最终感染率即感染潜能为 0.914 ,雌、雄感染率不同 ,但差异无显著性($P >$

0.05) ,虽然这一结果与前述的最终感染率(86.78%)得数不同 ,但经 χ^2 检验差异无显著性($P > 0.05$)。

2. 栓塞潜能 :32 只有感染潜能的蚤中有 25 只(雄 4 只 雌 21 只)形成菌栓 ,栓塞潜能为 0.781 ,其中雄蚤为 0.667 ,雌蚤为 0.808 ,两者差异无显著性($P > 0.05$)。

3. 传播潜能 :35 只感染蚤共传黄毛鼠 388 只 ,单只蚤传黄毛鼠最少的有 2 只 ,最多 24 只 ;在 25 只菌栓蚤中 ,只有 6 只雌蚤能使 9 只黄毛鼠成功染疫 ,其中 7 只为特异性死亡 ,2 只血清学阳性(IHA 滴度分别为 1:80⁺⁺和 1:40⁺⁺),传播潜能为 0.360。使黄毛鼠成功染疫的 6 只雌蚤中 ,其中有 1 只传播能力非常强 ,能分别在第 1 天和第 15、16、17 天(蚤死前 3 天)特异传播黄毛鼠 4 只 ,这在媒介蚤中首见报道。7 只特异性死亡黄毛鼠 ,其死亡时间为 7.42 天(5 ~ 12 天) ,与集群传播的黄毛鼠死亡时间基本吻合。

4. 栓塞存活潜能 :25 只形成菌栓蚤中 ,形成时间平均需 8.80 天(雄 8.5 天 ,雌 8.9 天) ,最长 16 天 ,最短 1 天。形成菌栓后栓塞存活天数平均为 7.64 天(雄 8.3 天 ,雌 7.4 天) ,栓塞存活潜能为 0.868 ,雌、雄差异无显著性($P > 0.05$)。

5. 媒介效能及媒介指数 :由于雄蚤未能传播黄毛鼠成功 ,其媒介效能和媒介指数均为 0 ,只有雌蚤能够起媒介作用 ,媒介效能和媒介指数见表 2。

五、感染带菌蚤和栓塞形成蚤生存期限

随机抽取感染伍氏病蚤 85 和 107 只 ,分别在供血饲养和饥饿两种情况下观察寿命期限 ,结果感染吸血蚤存活 17.60 天(1 ~ 58 天) ,饥饿蚤存活 7.25 天(1 ~ 16 天) ,而感染栓塞后存活 7.64 天(1 ~ 16 天) (表 3)。

表2 伍氏病蚤传播鼠疫的媒介效能和媒介指数

性别	实验蚤只数	感染蚤只数	栓塞蚤只数	传播蚤只数	平均存活天数/ 平均栓塞天数	感染潜能	栓塞潜能	传播潜能	媒介效能	栓塞存活潜能	媒介指数
雄	7	6	4	0	8.25/8.50	0.857	0.667	0.000	0.000	0.971	0.000
雌	28	26	21	9	7.43/8.85	0.929	0.808	0.429	0.322	0.840	0.270
合计	35	32	25	9	7.64/8.80	0.914	0.781	0.360	0.257	0.868	0.223

表3 伍氏病蚤感染蚤和栓塞蚤寿命

性别	感 染 蚤 寿 命 (d)				栓 塞 蚤 寿 命 (d)	
	供 血 蚤		饥 饿 蚤		栓 塞 蚤 寿 命 (d)	
	蚤只数	平均寿命(最短 ~ 最长)	蚤只数	平均寿命(最短 ~ 最长)		
雄	37	18.05(1 ~ 39)	55	5.85(2 ~ 14)	4	8.25(3 ~ 16)
雌	48	17.22(9 ~ 58)	52	8.88(1 ~ 16)	21	7.43(1 ~ 14)
合计	85	17.58(1 ~ 58)	107	7.25(1 ~ 16)	25	7.64(1 ~ 16)

伍氏病蚤为角叶科病蚤属,有学者根据有关资料推论,病蚤属大都对鼠疫和某些热带病起媒介作用^[4]。目前为止国内外对病蚤的传播鼠疫能力的研究资料很少,只有该属的秃病蚤被确定为内蒙古高原爪沙鼠鼠疫疫源地的主要媒介^[1]和具有带病蚤、郎丁病蚤有传播能力,而尚未见与伍氏病蚤有关的资料。本研究是国内外首次报道伍氏病蚤具有传播鼠疫的能力。

1. 伍氏病蚤雷州亚种传播鼠疫的能力:本实验用印鼠客蚤进行集群传播和单蚤单鼠传播对比试验,结果集群传播率均为 100%,而单蚤单鼠传播伍氏病蚤(30%)较印鼠客蚤(35%)稍低,但两者差异无显著性($P > 0.05$),认为伍氏病蚤与印鼠客蚤的传播能力相当。在单蚤传播试验中,伍氏病蚤共叮咬试验鼠 388 只,有 9 只被特异性感染,其中 1 只蚤能单独传 4 只试验鼠,这在国内所报道的媒介蚤当中尚属罕见。单蚤传播实验结果表明,当该蚤在宿主动物感染鼠疫产生菌血症,尤其是在试验鼠发病濒死前叮吸血液,其染疫机会高达 94.64%,并有 78.12% 的染疫蚤能够在 16 天内形成菌栓,与印鼠客蚤感染率和栓塞率较接近(印鼠客蚤染疫率 100%、栓塞率 72%^[3]),虽其传播潜能(0.360)媒介效能(0.257)较印鼠客蚤低(1.56、0.93^[3], 0.91、0.69^[2]),但媒介指数(0.223)则与印鼠客蚤相接近(0.36^[3]、0.10^[2])。三项实验可见证伍氏病蚤雷州亚种有很强的传播鼠疫的能力。

2. 伍氏病蚤雷州亚种是雷州半岛野鼠间鼠疫传播的主要媒介:广东的鼠疫始发于 1872 年,流行了 80 年之后于 1953 年停息,在 1950~1952 年曾多次在雷州半岛家鼠及其寄生蚤(印鼠客蚤、人蚤)中分离出鼠疫菌,资料显示,过去所检获的阳性材料全部是家鼠及其寄生蚤,从无野鼠及其寄生蚤的病原体阳性材料的记录。然而,在 1973~1985 年的鼠疫监测中,连续发现鼠类血清学阳性标本 43 份,其中黄毛鼠占 24 份,居首位。本所资料认为这个时期是雷州半岛鼠疫疫源地微弱活动期,此期内检出野鼠(黄毛鼠)血清鼠疫 F1 抗体阳性,说明当时曾有微弱的野鼠间鼠疫流行。伍氏病蚤雷州亚种是雷州半岛农田野鼠的主要寄生蚤,其分布广,占野鼠鼠体蚤种群的 60% 以上,由于该蚤既有种群的优势又有较强的

鼠疫传播能力,因此,认为该蚤是雷州半岛野鼠间鼠疫传播的主要媒介。

3. 伍氏病蚤雷州亚种在鼠疫流行中具有一定的保菌和延续流行的作用:一般认为,蚤的寿命特别是感染蚤的寿命越长,其保菌意义愈大^[1]。本研究结果表明,感染鼠疫菌的伍氏病蚤生存期限最长达 58 天,平均 17.28 天,即使在无吸血的情况下也能生存 16 天,平均 7.25 天,且该蚤死后大都(91.4%)能分离出鼠疫菌,说明该蚤保菌时间较长。

雷州半岛属滇粤闽黄胸鼠鼠疫疫源地^[5],该疫源地的居民区和野外农田两个不同生境的交界,家鼠、野鼠相互交串,其体表寄生蚤借此可相互交换宿主。当发生家鼠鼠疫流行时,染疫的印鼠客蚤可通过交换宿主,把鼠疫菌带给野鼠,并通过伍氏病蚤的媒介作用,引发野鼠间鼠疫的流行;反过来,当伍氏病蚤叮咬发病的黄毛鼠,又可把鼠疫菌传给家鼠,从而加大家鼠鼠疫流行的强度和延长流行时间。可见印鼠客蚤和伍氏病蚤的媒介作用是协同的,它们都可以充当家鼠、野鼠之间鼠疫流行的桥梁,对维持鼠疫菌种群和鼠疫流行的连续性起一定的协同作用。这种现象是致使雷州半岛鼠疫疫源地复杂化的原因之一。

总之,通过本实验研究证实了寄生于雷州半岛野鼠体表的伍氏病蚤具有很强的鼠疫传播能力,是野鼠间鼠疫流行的主要媒介,并在保菌和延续流行方面起一定的作用。

(承蒙广东省卫生厅疾病控制处资助,云南省地方病防治所协助及该所董兴齐、马永康、梁云、赵文红、杨智明等同志的指导和本所梁练、梁秋光、胡杰等参加部分工作,特此致谢)

参 考 文 献

- 1 纪树立,主编.鼠疫.北京:人民卫生出版社,1988:185-188.
- 2 Kartman L, Prince FM, Quan SF, et al. Studies on pasteurella pestis in fleas comparative plague-vector efficiency of *Xenopsylla vexabilis* hawaiiensis and *X. cheopis*. Bull WHO, 1956, 14: 681-704.
- 3 梁云,何晋候,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.
- 4 解宝琦,曾静凡,编著.云南蚤类志.昆明:云南科技出版社,2000:376-377.
- 5 刘云鹏,主编.中华人民共和国鼠疫与环境地图集.北京:科学出版社,2000:72-73.

(收稿日期 2002-08-20)

(本文编辑:尹廉)