

## 研究报告

## 45年恙螨与媒介恙螨传播恙虫病的基础研究

黎家灿, 郑小英, 奚志勇, 倪宏, 张海红, 陈成福

(中山医科大学寄生虫学教研室, 广东 广州 510089)

**摘要:** 报告作者等 45 年来恙螨以及媒介恙螨传播恙虫病基础研究结果, 主要包括: ①恙螨调查研究: 种类的发现, 恙虫病东方体的分离和检测, 媒介恙螨孳生地及其恙虫病流行; ②恙螨生活史和实验生态研究: 恙螨培育成功与生活史的实验, 恙螨实验生态和恙虫病流行的预测预报; ③恙螨传病机制及其控制恙虫病流行研究: 恙虫病东方体阳性恙螨模型的建立及其东方体在恙螨体内的动态, 恙螨体内东方体垂直传递和传病潜力, 以及防灭恙螨与控制恙虫病的流行。

**关键词:** 恙螨; 恙虫病/遗传学; 恙虫病东方体

**中图分类号:** R376.2; 384.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-257X(2002)01-0001-09

**Basic Studies on Trombiculid Mites and Vector Chiggers Mites in the Transmission of Tsutsugamushi Disease for 45 Years** LI Jia-can, ZHENG Xiao-ying, XI Zhi-yong, NI Hong, ZHANG Hai-hong, CHEN Cheng-fu. (Department of Parasitology, Sun Yat-sen University of Medical Science, Guangzhou 510089, China)

**Abstract** This paper summarized the basic research works on trombiculid mites and vector chiggers in the transmission of tsutsugamushi disease. It mainly involves: ① Investigation on trombiculid mites including the discovery of trombiculid mite species detection and separation of *O. tsutsugamushi*, Breeding place of vector chiggers and epidemiology of tsutsugamushi disease. ② Study on the life cycle and experimental ecology of trombiculid mites including successful rearing of trombiculid mites and study on life cycle of trombiculid mites experimental ecology of trombiculid mites and epidemic forecast of tsutsugamushi disease. ③ Research on the mechanism of transmission of tsutsugamushi disease by trombiculid mite and the control of tsutsugamushi disease prevalence. Establishing the infected model of trombiculid mites for study the dynamics of *O. tsutsugamushi* in trombiculid mites the vertical transmission of *O. tsutsugamushi* in trombiculid mites Prevention and killing of the trombiculid mites and controlling the epidemics of scrub typhus.

**Key words:** trombiculid mites; tsutsugamushi disease/ genetics; *Orientia tsutsugamushi*

恙螨包括媒介恙螨和非媒介恙螨。恙虫病是一种由媒介恙螨传播的自然疫源性疾。病原体为恙虫病东方体[*Orientia tsutsugamushi*; 原称恙虫病立克次体 *Rickettsia tsutsugamushi*, 恙虫病立克次体因在生物学特征上与立克次体属内其他成员有明显差异, 1995 年日本学者 Akira Tamura 建议另立一属—东方体属(*Orientia*), 故称恙虫病东方体]。自 1954 年以来, 陈心陶教授和徐秉锜教授主持的恙虫研究室开展恙螨和恙虫病的项目研究, 经过 45 年的努力, 进行了比较系统的恙螨区系、形态分类、生活史、生态、培养和传代、流行、传病、防灭、恙螨和鼠宿主体内病原体分离和检测、恙螨生理和生化以及电镜技术、免疫学和分子生物学技术的应用等的系列基础研究, 已为控制恙虫病积累了丰富经验和提供了科学依据。恙虫病已于 20 世纪

50 年代后期控制了流行, 相距近 30 年未见病例报告, 但近年国内不断发现新流行区, 旧流行区不断有恙虫病病例出现, 且病人逐年增加。为适应恙虫病防治的需要, 推动恙螨及其媒介传播恙虫病机制的深入研究, 本文将 45 年恙螨和媒介恙螨传播恙虫病的基础研究资料作一全面概括, 为控制该病的流行和巩固防治成果提供参考。

## 1 恙螨的调查研究

我国恙螨调查研究工作除 1952 年前台湾省发现的 6 种和云南发现的地里纤恙螨[*Leptotrombidium deliense* (Walch, 1922)] 外, 较早的还有 1952 年梁柏龄在广州发现印度囊棒恙螨[*Ascoschoenogastia indica* (Hirst, 1915)] 及种名不详的背展属(*Gahrtiepia*)的一种, 以及 1953 年甘怀杰等发表了

收稿日期: 2001-05-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(38570244; 38870725; 39370636)

作者简介: 黎家灿(1932-), 男, 海南琼海人, 教授, 主要从事恙螨与恙虫病研究; 先后参与该项研究工作的还有 陈心陶、徐秉锜、苏克勤、刘子珍、莫艳霞、范泰、洪菲、陈添胜等。

5种恙螨后, 1955年陈心陶和徐秉锟从广东、福建发现的中国恙虫蚴12种, 包括1新属、6新种及2新变种<sup>[1]</sup>。此后全国各地进行恙螨的调查和研究者增多, 调查的地区也更广泛, 发现的新种迅速增加<sup>[2]</sup>。45年来本研究室连续发表了14篇恙螨种类发现的报告<sup>[1, 3~15]</sup>。我国发现被恙螨寄生的动物宿主, 哺乳类如鼠类等180多种、鸟类60多种、爬虫类6种和甲壳类1种, 其中本研究室发现的哺乳类占20余种、鸟类30多种等。调查研究证明恙螨分布的地形有海岛、平原、丘陵地、山区等各种各样的地区。本研究室恙螨的调查研究已为控制恙虫病流行起着重要的实际意义。20世纪80年代开始在恙螨形态分类方面, 我们应用了电镜技术包括扫描电镜和透视电镜研究实验室培养的各种恙螨生活史期、精胞、卵壳表面及同种不同株恙螨染色体核型等项目, 增加了对恙螨种、株的认识, 并发现未曾描述的结构和特征<sup>[16~24]</sup>。

### 1.1 恙螨种类的发现<sup>[1~24]</sup>

恙螨种类的调查研究, 逐步查明了各种类的地理分布, 因此恙螨种和数量逐年陆续增加, 至1999年止, 我国发现的恙螨种类总计400多种隶属于2个科的3个亚科的40多属。由于种类增多, 而地理分布随着也扩大了, 我国恙螨调查显示出恙螨区系系统性研究的特征。我们发现的种类是恙螨科(Trombiculidae)的恙螨亚科(Trombiculinae)和背展恙螨亚科(Gahrlepiinae), 列恙螨科(Leeuwenhoekidae)的列恙螨亚科(leeuwenhoekiiinae)中的包括媒介和非媒介恙螨种, 我们的报告除国外已发现而国内未报告的近20余种外, 新发现的种类分隶属于19个属包括1新属的40余个新种。这些新种主要为陈心陶和徐秉锟教授等发现的, 它们是: 纤恙螨属(*Leptotrombidium*)的无棘纤恙螨(*L. aseutulum* Chen et Hsu, 1965)、母鸡顶纤恙螨(*L. mugidi* Hsu et Chen, 1964)、矩板纤恙螨(*L. rectanguloscutum* Hsu et Chen, 1964)和于氏纤恙螨(*L. yui* Chen et Hsu, 1955)。叶片恙螨属(*Trombiculindus*)的心毛叶片恙螨(*T. cardiosetosus* Hsu et Chen, 1964)。新恙螨属(*Neotrombicula*)的鼯鼠新恙螨(*N. aeretes* Hsu et Yang, 1985)、似田鼠新恙螨(*N. microides* Hsu et Yang, 1985)和根田鼠新恙螨(*N. oconomus* Hsu et Yang, 1985)。翼手恙螨属(*Chiroptella*)的小蝠翼手恙螨(*C. pipistrella* Chen et Hsu, 1963)。长鞭恙螨属(*Lorillatum*)的

通什长鞭恙螨(*L. tungshihensis* Hsu et Chen, 1964)。斑甲恙螨属(*Blankaartia*)的广斑甲恙螨(*B. kwanacarus* Chen et Hsu, 1957)。络板恙螨属(*Ruduicula*)的曹溪络板恙螨(*R. tsaochiensis* Chen et Hsu, 1963)。蝠恙螨属(*Sasatrombicula*)的曲江蝠恙螨(*S. kukongensis* Chen et Hsu, 1963)。合轮恙螨属(*Helenicula*)的康鼠合轮恙螨(*H. rattihaikonga* Hsu et Chen, 1957)、赛圩合轮恙螨(*H. saihsuensis* Hsu et Chen, 1964)和西盟合轮恙螨(*H. simena* Hsu et Chen, 1957)。珠恙螨属(*Doloisia*)的六胸毛珠恙螨(*D. hexasternosetosa* Chen et Hsu, 1965)、合浦珠恙螨(*D. hopuensis* Hsu et Chen 1964)、爪短珠恙螨(*D. jaotwana* Chen et Hsu, 1965)、莫卡珠恙螨(*D. moica* Chen et Hsu, 1965)、多基毛珠恙螨(*D. multioxosetosa* Chen et Hsu, 1965)、拗头珠恙螨(*D. outoensis* Chen et Hsu, 1965)和抡感珠恙螨(*D. spatulata* Chen et Hsu, 1965)。新发现的属为副珠恙螨属(*Paradoloisia* Chen et Hsu, 1965)的巨副珠恙螨(*P. gigantea* Chen et Hsu, 1965)。新棒恙螨属(*Neschoengastia*)的六毛新棒恙螨(*N. hexasternosetosa* Chen et Hsu, 1958)。囊棒恙螨属(*Ascchoengastia*)的白沙囊棒恙螨(*A. paishaensis* Chen et al., 1958)。爬虫恙螨属(*Herpetacarus*)的福建爬虫恙螨(*H. fukienensis* Chen et al., 1958)和龙洞爬虫恙螨(*H. longdongensis* Mo et al., 1990)。无前恙螨属(*Walchia*)的中华无前恙螨(*W. chinensis* Chen et Hsu, 1955)、葛洪无前恙螨(*W. koi* Chen et Hsu, 1957)、太平洋无前恙螨(*W. pacifica* Chen et Hsu, 1955)、似太平洋无前恙螨(*W. parapacifica* Chen et al., 1955)、山牛无前恙螨(*W. shanniui* Hsu et Chen, 1964)和五指山无前恙螨(*W. wuchihensis* Hsu et Chen, 1964)。棒六恙螨属(*Schoengastiella*)的陆氏棒六恙螨(*S. lui* Chen et Hsu, 1955)。背展恙螨属(*Gahrlepiea*)的八毛背展恙螨(*G. octosetosa* Chen et al., 1956)和羊城背展恙螨(*G. yangchenensis* Chen et Hsu, 1957)。螯齿恙螨属(*Odontacarus*)的显毛螯齿恙螨(*O. conspicuus* Chen et Hsu, 1955)和巨螯齿恙螨(*O. majesticus* Chen et Hsu., 1955)。滑顿恙螨属(*Whartonia*)的马坝滑顿恙螨(*W. mapaensis* Chen et Hsu, 1959)和反曲滑顿恙螨(*W. recurvata* Chen et Hsu, 1959)。

为补充在光镜下鉴定种的特征,获得更多的微小形态结构,我们除探索地里纤恙螨红、白体色株的染色体核型的细胞学鉴别外<sup>[2,3]</sup>,于1985年起应用电镜技术于恙螨分类研究,包括恙虫病重要媒介地里纤恙螨生活史期、幼虫、若虫和成虫背腹毛和精胞、5种恙螨卵壳表面、不同处理的恙螨标本和印度囊棒恙螨生活史期等的扫描电镜观察<sup>[16~20]</sup>;恙螨细胞和体内东方体的透射电镜观察<sup>[21,22]</sup>等,丰富和补充了许多细微形态结构,获得了鉴定种的形态特征新资料,对今后恙螨分类工作有重要意义。

### 1.2 恙虫病东方体的分离和检测<sup>[24~39]</sup>

恙螨体内东方体的分离是流行病学调查、确定该恙螨体内是否携带病原体的主要项目。我们于20世纪50—80年代一直沿用传统法对恙螨和鼠宿主体内病原体的分离和检测。例如,1960年检查284份沟鼠脾标本,31份分离出恙虫病东方体,在鼠体上检获的地里纤恙螨和太平洋无前恙螨幼虫亦分离到东方体。在各地现场检获的恙螨(泥土漂浮法检到地里纤恙螨成虫、若虫和成蛹)经培育达成虫期产卵孵出未食幼虫叮咬小鼠发病,野鼠体检获的饱食幼虫或半饱食幼虫,用一定数量幼虫研磨匀浆接种小鼠发病。实验还证明:流行区鼠体检获的地里纤恙螨和实验室培养的纯系地里纤恙螨,两者携带东方体的未食幼虫比饱食幼虫分离东方体有差异,饱食幼虫分离出东方体均比未食幼虫高。到目前为止,我国报告分离出恙虫病东方体的恙螨有:地里纤恙螨(*L. deliense*)、微红纤恙螨(*L. rubellum*)、高湖纤恙螨(*L. kaohuense*)、小板纤恙螨(*L. scutellare*)、苍白纤恙螨(*L. pallidum*)、于氏纤恙螨(*L. yui*)、海岛纤恙螨(*L. insulare*)、吉首纤恙螨(*L. jishoum*)、东方纤恙螨(*L. orientale*)、须纤恙螨(*L. palpale*)、岗纤恙螨(*L. linhuai-kongense*)、英帕纤恙螨(*L. imphalum*)、印度囊棒恙螨(*A. indica*)、中华无前恙螨(*W. chinensis*)、太平洋无前恙螨(*W. pacifica*)和巨螯齿恙螨(*O. majesticus*)等;其中我们发现的新种于氏纤恙螨、中华无前恙螨、太平洋无前恙螨和巨螯齿恙螨等是本实验室首次分离到恙虫病东方体的。我们对地里纤恙螨和印度囊棒恙螨作重复分离均检测到东方体,尤其是恙虫病主要媒介地里纤恙螨的病原体分离,不仅是作为现场流行病学调查的重要指标,而且实验感染东方体的地里纤恙螨培育传代,进一步作东方

体经期、经卵和经精胞传递的长期跟踪动态变化的传病机制的研究,已为控制恙虫病和巩固灭病成果提供了科学的依据。

20世纪80年代后期为了提高东方体分离和检测效果,对地里纤恙螨成虫腹内接种东方体Karp株建立阳性恙螨模型后<sup>[27]</sup>,采用免疫法包括直接和间接免疫荧光染色和免疫金银染色方法检测,结果显示能提高检出率,尤其是提高子代幼虫体内东方体的检出效果。为克服免疫法的技术操作繁琐以及进一步提高检出东方体效率,1991年本实验室首次用分子生物学技术检测地里纤恙螨成虫人工接种东方体Karp株获得成功。用PCR技术检测东方体感染率高达92.3%,核酸杂交技术检测PCR产物和传统法分离东方体方法相结合证明人工接种东方体的地里纤恙螨雌虫和非感染健康的雌虫培养的子代体内东方体阳性,发现恙螨也能以精胞传递东方体。我们对广东流行区的病人、地里纤恙螨和野鼠标本的检测均检到东方体Karp株,显示三者流行优势株为Karp株,并证实在该地区三者所携带的东方体均同一型别,说明该地区恙虫病的传播致病流行的三者相互关系。我们的进一步实验是对患者的恙虫病东方体Karp株Sta56部分基因片段的扩增、克隆及鉴定研究,构建了重组质粒pUC-PK,为下一步的基因序列分析和株特异性基因片段表达及株型诊断性抗原的制备打下了基础<sup>[37~39]</sup>。

### 1.3 媒介恙螨孳生地及其恙虫病流行<sup>[40~48]</sup>

45年来对广东省各地的恙螨孳生地调查表明:恙螨主要孳生在隐蔽潮湿、多草、多鼠等场所,以江河沿岸、溪边、山坡、山谷、森林边缘及荒芜田园等杂草丛生的地区为最多;也可见于村镇附近的农作物区、菜园、瓦砾堆、墙角等处。用捕获野鼠、小鼠引诱和小黑板检获恙螨法、调查研究结果证明孳生地地里纤恙螨幼虫出现有季节性变化。因此,病例出现也有季节性,说明恙虫病的流行有它的气候和环境条件。广东省和广州市郊区采用漂浮法和动物(小鼠)引诱法调查证明,恙虫病重要媒介地里纤恙螨孳生地仅仅1959年的1586个点中(每月定时进行调查)有64个恙螨孳生点,其中位于稠密的居民住宅区内的16个(占71.9%),位于离宅区较远的废园、空地个3(占4.7%),而位于荒郊的15(占23.4%)。同时发现孳生地基本上是呈点状分布与鼠类活动有密切关系。广州郊区的调查证明

在外界条件相对稳定时,恙螨幼虫一般只分布在孳生点附近的一定范围之内,但这种情况易受外界条件改变,特别是雨量过分集中的破坏,这结果又使雨量的变化可能和某种恙螨为媒介的疾病传播发生关系。因此在不了解恙螨孳生点在一个地方实际分布及没有注意到外界条件变化的情况下进行幼虫的调查常出现的一些矛盾结果。调查研究说明媒介恙螨孳生地具有它的特点,恙虫病疫源地多存在与低洼潮湿、杂草丛生的地区。恙螨幼虫在地面的活动范围不超过 1~2 m,一个小的疫源地通常是几米范围,呈点状分布。广东省为以地里纤恙螨为主的南方疫源地(属我国北纬 31°以南的流行范围)。主要流行于夏季,经孳生地和发病者调查证明恙虫病疫源点可分为居住地区内和居住地区外两种:前者主要是人在居民区范围内通过生活和其它活动致幼虫叮咬受感染,病者以家庭妇女和儿童为多,发病主要是呈散发;后者主要是人在距居住较远的野外通过从事生产劳动和活动而受到感染。我们在孳生地捕获的每种野鼠体上携带的地里纤恙螨(*L. deliense*)用带螨率(%) (带地里纤恙螨鼠数/检查鼠数×100)和带螨指数(检获地里纤恙螨数/检查鼠数×100)来表示地里纤恙螨在此孳生场所对宿主的选择性。

20世纪80—90年代我们在广州郊区和附近县市进行恙螨孳生场所的调查显示,各种恙螨包括媒介和非媒介恙螨的孳生点颇多,其中恙虫病病例发生的地区常常找到地里纤恙螨的孳生点,而且检获的成虫、若虫或经培养的子代幼虫的恙虫病东方体分离均阳性,野鼠脾脏分离也有恙虫病东方体;出现病人又有地里纤恙螨孳生点的地区,捕获的野鼠和野鼠体上检获的地里纤恙螨和病人所携带的恙虫病东方体株型鉴别均为同一型别(Karp)。

## 2 恙螨生活史与实验生态学研究

我国最早的恙螨生活史研究是1952年广州梁柏龄报道一种简单的方法培养地里纤恙螨幼虫至若虫期,但没有培养下去了。1956年我们实验室首次观察和描述了地里纤恙螨生活史各期,并用猫蚤卵为食物培养了几种恙螨的若虫和成虫;1958年介绍了恙螨不同时期的培养方法;1960年实验指出在相同的条件下同一种恙螨的各个发育期时间可以有很大的不同,温度是一个重要因素;1962年根据实验室成虫羽化后4年中每年每月观察的

结果提出了幼虫孵出量与成虫年龄之间的关系。依据20世纪70~80年代将近20年时间的实验室和现场的恙螨生态学研究结果,奠定了恙虫病流行预测预报的媒介恙螨生态学基础,恙螨生态学研究已为我国的防治工作提供了科学的依据。45年来我们报告了8种恙螨生活史和重点进行了主要媒介地里纤恙螨实验生态学的研究。

### 2.1 恙螨培育成功与恙螨生活史的实验<sup>[49~55]</sup>

1956年开始进行媒介恙螨地里纤恙螨生活史的研究,详细探索恙螨的培养方法。首次证明地里纤恙螨若虫和成虫最好的食物是新鲜蚤卵;详细观察了该恙螨7个生活史时期包括卵、次卵、幼虫、若虫、成虫和成虫的发育。我们对1955年发现的新种巨螯齿恙螨和太平洋无前恙螨,以及1915年Hirst发现的印度囊棒恙螨,共3种恙螨的生活史进行了系统研究。尤其是对生活史的反复观察,证明地里纤恙螨和巨螯齿恙螨的若虫和成虫对蚤卵具有特殊的嗜好,而太平洋无前恙螨和印度囊棒恙螨不喜欢昆虫卵,如经训练则逐渐能吸食蚤卵,完成生活史期。我们实验室采用新鲜蚤卵培养地里纤恙螨等多种已是上世纪50年代至现在长期繁殖培养的常规种系。至1998年为止已培养达130多代的纯系地里纤恙螨,均能保质保量提供进行各项科研实验。生活史的幼虫期必须吸食鼠类养分,饱食后才能培育下阶段的若虫期。本实验室用的是小鼠。研究还证明幼虫叮咬鼠类显示地里纤恙螨和巨螯齿恙螨不但对某些鼠类有特殊向性,而且对某些鼠类的某些器官(如耳窝等)有特殊的向性。

我国对各种恙螨生活史研究,到目前为止约有15种,其中我们连续报告的占9种,它们是地里纤恙螨(*L. deliense*)、巨螯齿恙螨(*O. majesticus*)、中华无前恙螨(*W. chinensis*)、太平洋无前恙螨(*W. pacifica*)、苍白纤恙螨(*L. pallidum*)、印度囊棒恙螨(*A. indica*)、龙洞爬虫恙螨(*H. longdongensis*)和社鼠棒六恙螨(*Schoengastiella confucianus*)以及补充报告了小板纤恙螨(*L. scutellare*)等全部生活史期。恙螨生活史研究中,最艰巨的工作是寻找到若虫和成虫的适宜食物,减少培养猫蚤卵的繁重工作。虽然我们长期寻找各种恙螨食物和人工合成卵等,但均无满意结果。今后能攻破实验室培养各种恙螨食物的难关,将会获得更多的生活史资料。

## 2.2 恙螨实验生态学与恙虫病流行的预测预报

2.2.1 实验生态研究<sup>[56~91]</sup> 从20世纪50年代初期开始,我们结合防治工作进行了恙螨的实验生态学研究,温度与恙螨的关系方面较早的报道是1960年的地里纤恙螨幼虫发育与温度的关系研究。实验结果证明温度的变化幅度影响恙螨幼虫的发育。地里纤恙螨卵在相对湿度100%条件下及在(23±1)℃的恒温环境中从受精卵发育至幼虫孵出需1个月的时间,当在(13±1)℃时需要2个多月的时间,而在(35±1)℃时则仅需10d左右。

恙螨的活动与外界环境条件的关系方面,1960年对地里纤恙螨和巨螯齿恙螨的成虫、若虫和幼虫在几种温度条件的爬行速度的观察,证明幼虫、若虫、成虫的爬行速度都是随温度的下降而减低。实验显示温度是决定幼虫爬行速度的最主要因素,而湿度可在一定程度上改变由温度所决定的爬行速度,但爬行速度还可受到其它因素的影响。湿度对恙螨生活力有重要作用,1960年我们实验显示在恒温的条件下,幼虫的生存时间随着湿度的增加而延长,越近饱和湿度生活力延长则越明显。恙螨的群集试验观察,证明幼虫在石膏体表面群集的情况与锥形石膏体表的倾斜度与颜色有一定的关系。在一定倾斜度的范围内,倾斜度越大,幼虫集中得越多越快,但如超过一定的倾斜度,幼虫即会跌落下来。在同样的锥形石膏体上,幼虫在白体的比在黑体的锥体上面要集中得多。当锥体表面受到不同的光照时,幼虫多集中在光弱的一面。外界因素虽较复杂,但研究幼虫群集性和群集现象的出现与环境之间的关系,在恙虫病流行病学上具有重要意义。如幼虫群集于尖端上的习性在某种情况下有利于幼虫攀登人体。群集试验与对CO<sub>2</sub>发生反应的特性,不同种宿主包括人、鸟、鼠等所呼出的CO<sub>2</sub>都能刺激幼虫使其发生反应。

我们从恙虫病流行病学方面考虑,对媒介恙螨幼虫数量的消长、幼虫的分布、移动和扩散等方面进行了放射性同位素标志恙螨的实验<sup>[74]</sup>;本研究还考虑到电离射线对生物体的作用,射线对恙螨本身影响外,且可通过恙螨体内恙虫病东方体导致生物特性的改变,从中可望用来制造恙虫病疫苗的类型或菌株<sup>[75~78]</sup>。首先研究的是<sup>60</sup>Co γ射线对媒介恙螨影响的研究。1979年前的15年,地里纤恙螨<sup>60</sup>Co γ射线试验是应用<sup>60</sup>Co γ射线的7种剂量

(0.64~5.16 C/kg)等一次性处理和小剂量(0.0064 C/kg和0.025 C/kg)多次处理的两种方法。处理的地里纤恙螨包括未进食幼虫、饱食幼虫、若蛹、若虫、成蛹、未进食成虫和饱食成虫。观察包括形态和生理2方面的射线效应,经10多年筛选和传代及培育观察证明其中<sup>60</sup>Co γ射线0.64 C/kg,1.29 C/kg一次照射饱食幼虫后第3代(即第2代成虫所产后代)起出现遗传性突变的个体,其中第4代的突变频率最高,这一突变可能是稳定的。这一个<sup>60</sup>Co γ射线照射地里纤恙螨的饱食幼虫的方法获得至少一个突变品系,连续杂交4代仍保持明显优势的种群增殖能力。我们继续几种剂量(0.64 C/kg和1.29 C/kg)研究证实突变品系是否长期保有与纯系原种杂交第4代以上的优势,长期观察了其种群增殖力。<sup>60</sup>Co γ射线0.64 C/kg诱发地里纤恙螨的体色突变品系经5年的14代连续培育显示,有可能筛选出保持生殖与遗传优势而又失去传病能力的新品系。0.64 C/kg <sup>60</sup>Co γ射线对恙螨的生殖能力长期效应说明:虽雌虫比雄虫敏感,并在各代呈现为雌少雄多的异常比例,但有可能选育出至少红体色和白体色突变品系。第10代以后(即3年以后)生活史各期与一代代体色不固定改变,说明经过一定时间可能有突变后遗传的不稳定性。

20世纪80—90年代的恙螨遗传杂交研究,包括同种不同株和不同种的杂交<sup>[79~83]</sup>,其中地里纤恙螨红、白体色株的杂交可成倍增加其生殖能力结果说明,自然界孳生点的媒介恙螨存在这种杂交,必然增加其种群数量,导致传播恙虫病的流行。此外,恙螨种株虫体氨基酸组分和含量以及染色体核型等研究均有明显的差异<sup>[23,84]</sup>。

2.2.2 预测预报<sup>[58,108]</sup> 恙虫病的流行病学主要由恙螨的生态学所决定,因此媒介恙螨种群数量的消长,可成为恙虫病流行动力消长的一个指标,我们主要在媒介地里纤恙螨传播恙虫病流行区进行长期观察所积累的资料和实验生态学材料,根据气候资料和恙螨种群数量的数据,提出半年前的、3个月前的和1个月前的恙虫病流行预测预报。

## 3 传病机制与控制恙虫病流行研究

恙螨传病机制的研究,本实验室是围绕着恙螨如何获得恙虫病东方体和获得东方体后恙螨体内病原体动态变化等的探索,恙螨不论是以何种方式

获得东方体,能否起传病作用,关键是最后能否经卵传递子代,才具有流行上的重要意义,掌握其传病机制才能有效地控制恙虫病流行。广东省和广州市区 1958 年基本控制恙虫病流行后,各地基本上没有病例报道,直到 1984 年开始有一些地区发现病例,1988 年后流行区各医院收治的恙虫病病例逐年增多,相隔达 30 年时间疫情又有回升现象,因此我们为控制该病流行的科研立项中,从 1991 年起开展了恙螨传病机制的研究。

### 3.1 恙虫病东方体阳性恙螨模型的建立及其病原体在恙螨体内的动态<sup>[27, 92~106]</sup>

建立恙虫病东方体阳性恙螨模型是采用本实验室培养的纯系地里纤恙螨成虫腹内人工接种东方体 Karp 株(接种组)和纯系地里纤恙螨幼虫叮咬恙虫病小鼠感染东方体 Karp 株的饱食幼虫(叮咬组)两种方法。接种组成虫经过不同时间进行直接、间接免疫荧光染色法结合透射电镜的检测,东方体感染率达 41.2% 以上,用 PCR 法检测东方体感染率高达 92.3%,阳性恙螨子代幼虫叮咬小鼠均发病。接种组成虫经不同时间定期病原体 DNA 检测,东方体能在恙螨体内增殖长达 360 d 以上,并经卵传递至少达 4 代以上。恙螨体内东方体动态证明,接种组的感染不但能使恙螨有较高的感染率,而且病原体在恙螨体内增殖达 1 年以上和经卵传递子代。这种实验方法的建立,对于制作东方体阳性恙螨模型,已对深入研究东方体在媒介恙螨体内的定位和动态变化,以及在传病机理研究等起着重要的推动作用。叮咬组的恙螨饱食幼虫发育经若蛹、若虫、成蛹达成虫生活史各期和成虫产卵孵出未食幼虫均能检测到东方体,亲代成虫体内增殖时间为 270 d 和经卵传递 3 代以上;叮咬组饱食幼虫感染率 30%~40% 的恙螨体内东方体 Karp 株动态说明,与接种组阳性恙螨一样,东方体不仅能在亲代生活史各期增殖,上期传至下期,而且子代生活史各期亦能持续增殖,每期检到东方体。两种方法建立东方体 Karp 株阳性恙螨,不但长期持续携带病原体,而且携带东方体成虫产卵孵出的幼虫亦能检到病原体,显示恙虫病对人群的威胁和防治工作的长期艰苦性。

### 3.2 恙螨体内恙虫病东方体垂直传递与传病潜力<sup>[27, 32~36, 92~102]</sup>

1991 年在建立阳性恙螨模型的基础上,开始应用 PCR 技术为主,结合核酸杂交、PCR 结合核酸

杂交(核酸杂交检测 PCR 产物)和传统分离东方体法对恙螨体内东方体垂直传递和传病关系进行了如下研究:①东方体经期传递:人工接种成虫产卵孵出幼虫叮咬小鼠的饱食幼虫培养发育经若蛹、若虫、成蛹达成虫,以上各期的 PCR 检测恙虫病东方体 DNA 均呈阳性。幼虫叮咬病鼠组生活史各期饱食幼虫、若蛹、若虫、成蛹及其成虫产卵孵出子代幼虫的 PCR 检测恙虫病东方体 DNA 均呈阳性。②东方体经卵传递:人工接种东方体和幼虫叮咬病鼠两种实验感染的恙虫病东方体经卵传递分别为 5 代和 3 代。人工接种经长期跟踪观察的定期东方体 DNA 检测,东方体阳性成虫及其成虫产卵孵出的幼虫体内恙虫病东方体动态一致,阳性成虫在一年内产卵孵出的子代幼虫具有传病能力,揭示了恙螨内在的传病规律,说明防治恙虫病需要长期而艰苦的努力。③恙虫病东方体经精胞传递:人工接种恙虫病东方体的纯系地里纤恙螨雄虫和非感染的纯系健康的雌虫配对培养的子代体内恙虫病东方体阳性,发现了恙螨也能经精胞传递东方体;经精胞传递是雌虫从培养管的碳粉面上(自然界是地面)摄取雄虫产下的精胞而间接受精,雄虫产精胞的数量多可使更多的雌虫摄取受精,此结果既给防治提出了非常重要的问题,又再次证明地里纤恙螨是我国恙虫病极为重要的传播媒介。

上述恙螨体内恙虫病东方体垂直传递显示媒介恙螨不但具有强大传病潜力,而且在该病流行动力学上具有防治意义。

### 3.3 防灭恙螨与控制恙虫病的流行<sup>[58, 61, 107~116]</sup>

20 世纪 50 年代初期,本实验室开展了恙螨实验生态学和现场防灭研究,包括消灭孳生地、消灭鼠类宿主、杀灭恙螨和个人防护等,其中恙螨生态学材料已成为防灭恙螨和控制恙虫病的重要科学依据。广东省和广州市地区结合爱卫群众性防灭工作,经过几年时间的努力,于 1958 年控制了恙虫病流行。之后,本实验室实验生态学研究与现场相结合,进行恙虫病流行预测预报媒介生态基础的研究,提出半年前、3 个月前和 1 个月前的预测预报,使巩固灭病工作更有科学依据。

1955 年本实验室为流行区寻找个人防护药物,试验证明香茅油和玉桂油等有杀灭恙螨幼虫的作用,作个人防护涂抹皮肤效果理想。药物杀灭恙螨研究是 1964 年采用药膜法、液浸法和内服法测定了国产敌百虫对地里纤恙螨生活史各期的毒效。

同年,采用滤纸药膜法测定地里纤恙螨幼虫对“1605”与“1059”的敏感性。1981年为个人或行军需要进入疫区提供熏杀药物进行了敌敌畏熏杀地里纤恙螨幼虫的试验;烟熏毒杀恙螨的效果很好,是急用或临时任务需要是使用的杀螨熏杀剂。近年杀虫剂种类不断更新,特别是对人畜毒性大、化学性质不稳定、残效期短,成本高,不能广泛大量应用。因此,我们对有发展前途的一类新型杀虫剂进行试验;1993年应用除虫菊酯触杀(药膜接触1h)地里纤恙螨幼虫试验,用10g/L除虫菊酯24~48h观察毒杀效果高达91%,残效期可达155d以上。为寻找高效、低毒和残效期长的杀虫剂分别进行了溴氰菊酯和氯氰菊酯对恙螨幼虫的毒效试验(药膜接触1h),地里纤恙螨幼虫毒效显示1.25g/L氯氰菊酯和10g/L溴氰菊酯的24h校正死亡率分别为94.32%和78.92%,氯氰菊酯用较少剂量都比溴氰菊酯有较高的效果。在经过拔除恙螨孳生地还未彻底解决,特别是在复杂的环境,如使用低毒、效果好的氯氰菊酯或溴氰菊酯杀灭恙螨,均可获得现场防灭的显著效果。

本实验室45年来恙螨的调查研究既发现了许多新的恙螨种类,填补了国内外空白,又摸清了我国尤其是广东省重要传播恙虫病的媒介恙螨种;媒介恙螨体内东方体和鼠宿主携带病原体的传统法、免疫学和分子生物学等技术分离检测恙虫病东方体研究,准确确定其媒介恙螨和野鼠宿主的相互传病作用;媒介恙螨孳生场所、生活史和生态学研究等不但是防灭恙螨和控制恙虫病的重要理论基础,而且提出恙虫病流行的预测预报;近年本项目研究已进一步掌握了恙螨的传病机制,为控制恙虫病流行提供了可靠的科学依据。

#### 参考文献:

- [1] 陈心陶,徐秉钺. 中国恙虫蚧十二种,包括一新属,六新种及二新变种的描述[J]. 动物学报, 1955, 7(2): 101.
- [2] 黎家灿. 中国恙螨[M]. 广州: 广东科技出版社, 1997. 97~551.
- [3] 陈心陶,徐秉钺,王敦清. 五种中国恙虫蚧的分类研究[J]. 动物学报, 1956, 8(2): 149.
- [4] 陈心陶,徐秉钺. 寄生于哺乳类和鸟类恙虫蚧的研究,包括三新种的描述[J]. 动物学报, 1957, 9(4): 396.
- [5] 陈心陶,徐秉钺. 球棒属(*Globularoschongastia*)与恙虫(*Trombicula*)两属恙虫蚧的研究,包括二新种的描述[J]. 动物学报, 1957, 9(2): 237.
- [6] 陈心陶,徐秉钺. 奇棒属(*Genus Naxschongastia* Ewing, 1929)恙虫蚧的研究(*Acarina: Trombiculidae*)[J]. 动物学报, 1958, 10(4): 377.
- [7] 陈心陶,徐秉钺. 中国恙虫种类及其分布[J]. 动物学报, 1958, 10(4): 404.
- [8] 陈心陶,徐秉钺,王敦清. 真棒属(*Genus Euschoengastia* Ewing, 1938)恙虫的研究,包括二新变种的描述[J]. 动物学报, 1958, 10(4): 388.
- [9] 陈心陶,徐秉钺. 滞顿属(*Genus Whartonia* Ewing, 1944)两新种恙虫蚧的描述[J]. 动物学报, 1959, 11(4): 549.
- [10] 陈心陶,徐秉钺. 我国多齿属(*Acomatacarus*)恙虫的分类地位[J]. 动物学报, 1962, 14(4): 489.
- [11] 陈心陶,徐秉钺. 几种蝙蝠恙虫蚧的研究[J]. 动物学报, 1963, 15(4): 597.
- [12] 徐秉钺,陈心陶. 从广东发现的恙虫蚧新种[J]. 昆虫学报, 1964, 13(5): 737.
- [13] 陈心陶,徐秉钺. 五甲属与恙螨属几种恙虫蚧的描述[J]. 动物学报, 1965, 17(1): 80.
- [14] 陈心陶,徐秉钺. 寄生在鼠类鼻腔的七新种恙虫的描述[J]. 动物学报, 1965, 17(3): 283.
- [15] 徐秉钺,杨锡正. 青海新恙虫属三新种记述[J]. 昆虫学报, 1985, 28(2): 195.
- [16] 黎家灿,莫艳霞,陈成福,等. 恙螨背腹毛扫描电镜观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1985, 7: 208.
- [17] 黎家灿,徐秉钺. 5种恙螨卵的扫描电镜观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1987, 8~9: 29.
- [18] 徐秉钺,黎家灿. 印度囊棒恙螨的扫描电镜观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1987, 8~9: 30.
- [19] 黎家灿,徐秉钺. 地里纤恙螨精胞的扫描电镜观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1988, 10: 232.
- [20] 黎家灿,徐秉钺,莫艳霞,等. 不同处理的恙螨标本扫描电镜观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1988, 10: 230.
- [21] 黎家灿,洪菲. 透射电镜观察地里纤恙螨体内人工接种的恙虫病立克次体[J]. 广东寄生虫学会年报, 1991, 11~13: 70.
- [22] 黎家灿,郑小英,陈成福. 恙螨细胞与恙螨传病能力的实验研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1996, 18: 44.
- [23] 郑小英,黎家灿. 恙螨染色体研究 1. 地里纤恙螨纯系及其白体色突变株染色体核型[J]. 广东寄生虫学会年报, 1988, 10: 233.
- [24] 黎家灿,郑小英,奚志勇. 我国恙螨与恙虫病的研究[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(9): 773.
- [25] 陈心陶,徐秉钺. 从地里红恙虫蚧分离东方立克次体时发现的值得注意的情况[C]. 见: 中山医学院编. 恙虫与恙虫病研究论文集(第四辑). 广州: 中山医学院, 1960. 578~580.
- [26] 冯慧敏,周炯,杨励颜,等. 广州地区有关恙虫病流行病学上的一些调查报告[C]. 见: 中山医学院编. 恙虫与恙虫病研究论文集(第四辑). 广州: 中山医学院, 1960. 594~597.
- [27] 洪菲,黎家灿,徐秉钺. 恙虫病立克次体实验感染地里纤恙螨经卵传递的研究. 中国人兽共患病杂志, 1991, 7(4): 2.
- [28] 黎家灿,郑小英. 病原体的分离与检测[M]. 见: 黎家灿主编. 中国恙螨. 广州: 广东科技出版社, 1997. 65~72.
- [29] 郑小英,黎家灿. 免疫金银染色测定恙虫病立克次体在恙螨体内的分布[J]. 中国人兽共患病杂志, 1993, 9(4): 15.
- [30] 陈添胜,黎家灿,倪宏,等. 用多聚酶链反应技术检测实验感染恙虫病立克次体的恙螨[J]. 中华流行病学杂志, 1993, 14(5): 307.
- [31] 郑小英,黎家灿. PCR技术与传统法检测恙螨体内恙虫病立克次体的比较研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1993, 11~13: 68.

- [32] Li J C, Zheng X Y, Ni H, et al. Detection of *Rickettsia tsutsugamushi* from vector *trombiculid* mite by DNA amplification using polymerase chain reaction technique [J]. *Entomologia Sinica*, 1994, 1(4): 322.
- [33] 奚志勇, 黎家灿. PCR技术、核酸杂交法及二者结合检测恙螨、鼠宿主与病人血中恙虫病立克次体的比较实验[J]. 广东寄生虫学会年报, 1995, 17: 32.
- [34] 奚志勇, 黎家灿. 应用核酸杂交法对西沙群岛、海南琼中海峡恙虫病流行病学的初步调查[J]. 广东寄生虫学会年报, 1996, 18: 49.
- [35] 奚志勇, 黎家灿. 恙螨和鼠宿主体内恙虫病立克次体检测的基因技术方法的系统比较研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 1997, 13(4): 3.
- [36] Xi Z Y, Li J C, Zheng X Y. Comparative studies on molecular techniques for detection *Rickettsia tsutsugamushi*; in *Leprotrombidium deliense* and mite [J]. *Sys Appl Acarol*, 1999, 4(1): 15.
- [37] 张海红, 黎家灿. 分子技术鉴定恙螨、宿主和患者恙虫病立克次体流行株型的实验研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1997, 19: 20.
- [38] 张海红, 黎家灿, 郑小英等. 恙虫病立克次体特异性基因序列的扩增与鉴定[J]. 中山医科大学学报, 1999, 20(1): 20.
- [39] 张海红, 黎家灿, 郑小英等. 恙虫病立克次体 Karp 株 Sta56 部分基因片段的扩增、克隆及鉴定[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(2): 3.
- [40] 徐秉银, 苏克勤, 陈心陶. 地里红恙虫幼虫的出现数量、分布和恙虫病的流行关系的研究[J]. 微生物学报, 1959, 7(1-2): 1.
- [41] 黎家灿, 郑小英, 倪宏, 等. PCR检测地里红恙螨红、白体色体内恙虫病立克次体及其传病作用[J]. 中国人兽共患病杂志, 1994, 10(3): 2.
- [42] 陈心陶, 徐秉银, 苏克勤. 地里红恙虫孳生场所的研究[J]. 动物学报, 1959, 11(1): 5.
- [43] 黎家灿, 郑小英. 媒介恙螨的调查[M]. 见: 黎家灿主编. 中国恙螨. 广州: 广东科技出版社, 1997. 49~51.
- [44] 黎家灿, 徐秉银. 广州地区恙虫病媒介孳生地现状[J]. 广东寄生虫学会年报, 1981, 3: 180.
- [45] 徐秉银, 黎家灿, 莫艳霞等. 广州地区恙虫病媒介恙螨孳生地监测(附恙螨种类名录)[J]. 广东寄生虫学会年报, 1987, 8~9: 25.
- [46] 陈心陶, 徐秉银. 我国十年来(1945—1959)蜱螨类调查研究综述[J]. 动物学杂志, 1959, 3(10): 436.
- [47] 郑小英, 黎家灿. 广东恙虫病的调查研究[M]. 见: 于恩庶等主编. 中国恙虫病研究. 香港: 亚洲医药出版社, 2000. 43~49.
- [48] 徐秉银, 李英杰, 黎家灿等. 广东珠江三角洲沙田地区五种鼠类的巢穴内节肢动物调查[J]. 动物学报, 1964, 16(1): 123.
- [49] 徐秉银, 苏克勤, 陈心陶. 恙虫的培养方法和地里红恙虫生活史之研究[J]. 中华医学杂志, 1956, 42(11): 1032.
- [50] 陈心陶, 徐秉银. 三种恙虫生活史的研究[J]. 动物学报, 1956, 8(2): 255.
- [51] 徐秉银, 苏克勤, 陈心陶. 恙虫的培养及四种恙虫生活史的进一步观察[J]. 动物学报, 1958, 10(2): 103.
- [52] 徐秉银, 黎家灿, 莫艳霞, 等. 2种恙虫生活史的研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1981, 3: 174.
- [53] 莫艳霞, 黎家灿, 陈成福等. 龙洞东恙螨新种描述及其生活史观察(蜱螨目: 恙螨科)[J]. 昆虫学报, 1990, 33(4): 495.
- [54] 陈成福, 莫艳霞, 黎家灿. 社鼠棒六恙螨生活史的观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1991, 11~13: 81.
- [55] 陈成福, 黎家灿, 郑小英. 两种恙螨生活史的观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1995, 17: 125.
- [56] 徐秉银, 陈心陶. 地里红恙虫的发育和温度之关系的研究[J]. 微生物学报, 1960, 8(1): 1.
- [57] 陈心陶, 徐秉银. 恙虫爬行速度的试验[J]. 动物学报, 1962, 14(3): 307.
- [58] 徐秉银. 恙虫病流行预测预报的媒介恙螨生态学基础[J]. 广东寄生虫学会年报, 1979, 1: 59.
- [59] 陈心陶, 徐秉银. 地里红恙虫幼虫叮咬鼠类的试验[J]. 动物学报, 1959, 11(4): 539.
- [60] 陈心陶, 徐秉银. 地里红恙虫幼虫的孵出量和成虫年龄之关系[J]. 动物学报, 1962, 14(3): 355.
- [61] 徐秉银, 陈心陶. 恙螨的生态、防灭及有关的研究方法[M]. 蜱螨学进展. 上海: 上海科学技术出版社, 1965. 138~186.
- [62] 陈心陶, 徐秉银. 广州地区褐家鼠和黄胸鼠携带恙虫幼虫的季节消长[C]. 见: 中山医学院编. 恙虫与恙虫病研究论文集(第四辑). 广州: 中山医学院, 1960. 509~518.
- [63] 徐秉银, 陈心陶. 未进食的地里红恙虫幼虫的生存时间和温度、相对湿度之关系的观察和试验[C]. 见: 中山医学院编. 恙虫与恙虫病研究论文集(第四辑). 广州: 中山医学院, 1960. 521~524.
- [64] 陈心陶, 徐秉银. 地里红恙虫幼虫“群集现象”的研究[J]. 动物学报, 1962, 14(4): 458.
- [65] 陈心陶, 徐秉银. 地里红恙虫幼虫攀登鼠类的试验[J]. 动物学报, 1963, 15(1): 29.
- [66] 陈心陶, 徐秉银. 地里红恙虫幼虫和鼠类寄生关系之研究[C]. 见: 中山医学院编. 恙虫与恙虫病研究论文集(第四辑). 广州: 中山医学院, 1960. 546~550.
- [67] 陈心陶, 徐秉银. 地里红恙虫幼虫在恒温与变温环境中发育之比较研究[J]. 中山大学学报(生物科学专号), 1962. 87.
- [68] 徐秉银. 恙虫生态与恙虫病流行的季节性问题的研究[J]. 中山大学学报(生物科学专号), 1962. 75.
- [69] 徐秉银, 刘子珍, 陈心陶. 温度对地里红恙虫卵发育影响的研究[J]. 动物学报, 1963, 15(1): 185.
- [70] 徐秉银, 刘子珍, 陈心陶. 地里红恙虫产卵规律的探索[J]. 昆虫学报, 1964, 13(1): 56.
- [71] 徐秉银. 地里红恙螨种群数量的生态研究[J]. 寄生虫学报, 1965, 2(3): 218.
- [72] 徐秉银. 地里红恙螨发育过程的体重改变[J]. 寄生虫学报, 1965, 2(2): 212.
- [73] 徐秉银, 刘子珍, 陈心陶. 恙虫幼虫表面分布的试验观察[J]. 寄生虫学报, 1965, 2(4): 389.
- [74] 徐秉银, 黎家灿, 陈心陶. 以P32标志地里红恙螨的研究[J]. 寄生虫学报, 1965, 3(2): 118.
- [75] 徐秉银, 黎家灿, 陈心陶. 60Co $\gamma$ 射线对地里红恙螨影响包括形态、机能和遗传的改变[J]. 寄生虫学报, 1965, 2(4): 404.
- [76] 徐秉银, 黎家灿, 陈心陶. 地里红恙螨 60Co $\gamma$ 射线诱发突变试验 1. 突变品系种群增殖能力测定[J]. 广东寄生虫学会年报, 1979, 1: 74.
- [77] 莫艳霞, 黎家灿, 徐秉银等. 60Co $\gamma$ 射线对纤恙螨诱发突变的长期效应观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1988, 10: 226.
- [78] 徐秉银, 黎家灿, 陈心陶. 60Co $\gamma$ 射线对地里红恙虫的发育及生殖能力之影响的研究[J]. 昆虫学报, 1963, 12(5~6): 578.

- [79] 黎家灿,徐秉银. 恙虫病主要媒介地里纤恙螨红、白体色的杂交实验[J]. 中国人兽共患病杂志, 1990, 6(1): 15.
- [80] 黎家灿,莫艳霞,陈成福等. 恙螨杂交试验初报[J]. 广东寄生虫学会年报, 1983, 4~5: 120.
- [81] 黎家灿,徐秉银,莫艳霞,等. 恙螨的杂交遗传研究1. 地里纤恙螨的杂交试验[J]. 广东寄生虫学会年报, 1987, 8~9: 27.
- [82] 黎家灿,徐秉银,莫艳霞,等. 恙螨的杂交遗传研究2. 地里纤恙螨的杂种第二代实验续报[J]. 广东寄生虫学会年报, 1988, 10: 225.
- [83] 黎家灿,郑小英. 恙螨遗传特性与检测恙虫病立克次体的研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1995, 17: 13.
- [84] 郑小英,黎家灿. 恙虫病媒介地里纤恙螨红、白体色虫体氨基酸组分和含量的分析[J]. 中国人兽共患病杂志, 1993, 9(5): 23.
- [85] 黎家灿,莫艳霞,陈成福,等. 湿度对地里红恙螨卵的影响1. 卵壳变形和幼虫的孵化[J]. 广东寄生虫学会年报, 1983, 4~5: 121.
- [86] 黎家灿,莫艳霞,陈成福,等. 恙螨生殖能力的实验观察1. 配对和接触精卵对雌虫生殖能力的影响[J]. 广东寄生虫学会年报, 1983, 4~5: 122.
- [87] 黎家灿,郑小英,莫艳霞,等. 地里纤恙螨白体色突变株的生殖能力和性别比例变化观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1991, 11~13: 67.
- [88] 黎家灿,徐秉银,莫艳霞,等. 地里红恙螨幼虫吸食鼠血的试验[J]. 广东寄生虫学会年报, 1981, 3: 171.
- [89] 陈成福,黎家灿,莫艳霞,等. 不同年龄的地里纤恙螨成虫的形态与行为观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1987, 8~9: 35.
- [90] 莫艳霞,黎家灿. 2种酸硷度水培养恙螨的试验[J]. 广东寄生虫学会年报, 1991, 11~13: 76.
- [91] 陈成福,莫艳霞,黎家灿,等. 不同地区地里纤恙螨配对的生殖力及其幼虫形态观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1988, 10: 234.
- [92] 黎家灿,郑小英. 培养与传代,建立立克次体阳性恙螨模型[M]. 见:黎家灿主编. 中国恙螨. 广州:广东科技出版社, 1997. 60~64.
- [93] 黎家灿,倪宏. 聚合酶链反应于恙螨和恙螨体内恙虫病立克次体动态和经卵传递的实验研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1993, 14~15: 229.
- [94] 黎家灿,郑小英. 恙虫病流行与恙螨体内恙虫病立克次体关系的研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1994, 16: 10.
- [95] 倪宏,黎家灿,陈添胜. 聚合酶链反应技术应用于恙螨体内恙虫病立克次体的检测及其恙虫病分子流行病学研究[J]. 现代寄生虫学研究, 广东寄生虫学会年报, 1993, 11~13增刊: 44.
- [96] 黎家灿,郑小英. 恙螨体内恙虫病立克次体动态及其传病作用[M]. 见:黎家灿主编. 中国恙螨. 广州:广东科技出版社, 1997. 47~48.
- [97] 郑小英,黎家灿,倪宏,等. 恙螨体内恙虫病立克次体动态变化的实验研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 11(3): 6.
- [98] 黎家灿,郑小英. 恙虫病流行与恙螨体内恙虫病立克次体关系的研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1994, 16: 10.
- [99] 倪宏,黎家灿,陈添胜. 应用PCR技术检测恙螨体内恙虫病立克次体动态和经卵传递的研究[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 1994, 1(2): 48.
- [100] 黎家灿,郑小英,陈成福. 恙螨细胞与恙螨传病能力的实验研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1996, 18: 44.
- [101] 黎家灿,郑小英,陈成福,等. 恙螨体内恙虫病立克次体经精卵传递的实验研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 1997, 13(3): 3.
- [102] 黎家灿,郑小英,倪宏,等. 恙螨体内恙虫病立克次体DNA及其传病关系的研究[J]. 医学研究通讯, 1999, 28(3): 14.
- [103] 黎家灿,郑小英,奚志勇,等. 恙螨与恙虫病立克次体的系列研究[J]. 中山医科大学学报, 1999, 20(4): 241.
- [104] 黎家灿,郑小英,奚志勇,等. 恙虫病媒介恙螨与恙虫病立克次体的系列研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(5): 230.
- [105] 郑小英,奚志勇,黎家灿. 广东省恙虫病流行和防治研究进展[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(5): 234.
- [106] 黎家灿. 广东省恙虫病与媒介恙螨的研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1997, 19: 49.
- [107] 徐秉银. 地里红恙螨防制研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1979, 1: 78.
- [108] 黎家灿,郑小英. 防灭恙螨的研究[M]. 见:黎家灿主编. 中国恙螨. 广州:广东科技出版社, 1997. 52~57.
- [109] 徐秉银,黎家灿,陈心陶. 敌百虫对地里红恙虫的毒效试验[J]. 寄生虫学报, 1965, 2(3): 235.
- [110] 徐秉银,黎家灿,陈心陶. 地里红恙螨未食幼虫对“1059”与“1605”敏感性的测定[J]. 寄生虫学报, 1965, 2(3): 314.
- [111] 徐秉银,黎家灿,莫艳霞,等. 敌敌畏熏杀地里红恙螨幼虫的试验[J]. 广东寄生虫学会年报, 1981, 3: 167.
- [112] 徐秉银,黎家灿,詹希美,等. 敌敌畏熏杀地里红恙螨幼虫影响因素的多元回归[J]. 广东寄生虫学会年报, 1983, 4~5: 118.
- [113] 徐秉银,黎家灿,莫艳霞,等. 除虫菊酯对地里纤恙螨的毒效试验[J]. 广东寄生虫学会年报, 1987, 8~9: 31.
- [114] 陈成福,黎家灿,莫艳霞,等. 溴氰菊酯对地里纤恙螨毒效的实验研究[J]. 广东寄生虫学会年报, 1991, 11~13: 77.
- [115] 陈成福,黎家灿,莫艳霞,等. 氯氰菊酯对恙螨和蚤的毒效观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1993, 14~15: 173.
- [116] 陈成福,黎家灿,郑小英,等. 印练素对地里纤恙螨的毒效观察[J]. 广东寄生虫学会年报, 1995, 17: 128.

(编辑 张敏瑞)

## 重要启事

鉴于中山大学和中山医科大学已于去年10月26日合并组建新的中山大学,关于本刊刊名、封面等项目,本部已于去年11月报请上级主管部门,以作相应的更新。因此,待到正式批文下达后,才启用新刊名、封面等项事宜。