

食蟹猴疟原虫巴氏亚种对大劣按蚊 感染性的研究*

李道生 梁东升 白庆笙
(生物学系)

摘 要

原产于中国海南岛的大劣按蚊是新近从美国引进的食蟹猴疟原虫巴氏亚种的适宜媒介, 该虫对大劣按蚊的最佳感染时机是在原虫血症高峰后的一段时间; 实验结果说明按蚊的感染性与保存这种原虫的方法无关. 提出以原虫血症高峰后的天数作为按蚊最佳感染时机选择的标准.

关键词 食蟹猴疟原虫, 大劣按蚊, 感染性

食蟹猴疟原虫(*Plasmodium cynomolgi*)是一种与人类间日疟原虫(*Plasmodium vivax*)很相似的猴类疟原虫. 它是进行抗疟药物筛选、疟疾免疫和疟原虫生理生化, 特别是进行间日疟原虫复发机理——休眠子研究的最好实验虫种. 1983年, 我们从美国引进食蟹猴疟原虫巴氏亚种(*P.C.bastianellii*). 这一新引进的猴疟原虫对原产于中国海南岛的大劣按蚊的感染, 可获得大量孢子. 本文就食蟹猴疟原虫巴氏亚种对大劣按蚊感染性进行了研究, 以找寻感染的最佳感染时机, 获取大量的子孢子, 并进行休眠子等方面的研究.

1 材料和方法

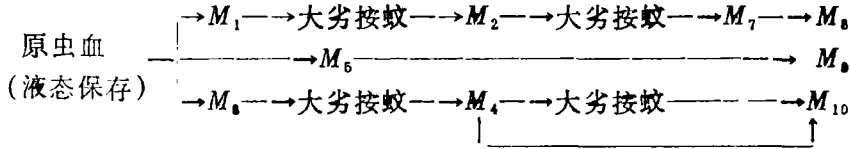
1.1 实验媒介 大劣按蚊(*Anopheles dirus*)以前误称为巴拉巴按蚊(*Anopheles balabacensis balabacensis*), 原产于中国海南岛, 1976年经驯化为实验品系. 实验用的按蚊都是中山大学生物学系寄生虫学研究室饲养繁殖的.

1.2 实验虫种 食蟹猴疟原虫巴氏亚种(*Plasmodium cynomolgi bastianellii* Garnham 1959), 是1982年从美国引进的虫株.

1.3 实验宿主(供血猴) 猕猴(*Macaca mulatta*), 购自广西壮族自治区, 体重约为2公斤无血寄生虫感染的健康猴. 本实验使用的3只供血猴编号分别为 M_8 、 M_9 和 M_{10} . M_8 和 M_9 是切脾猴, M_{10} 是没有切脾的健康猴.

* 本文1986年7月收到
在江静波教授指导下完成

1.4 供血猴的感染方法:



M₈和M₁₀号猴的原虫是经反复蚊传转种, M₉号猴是液态保存, 反复血传的原虫。

1.5 按蚊的感染与解剖: 取羽化3—5日龄、吸血前已停吃24小时的大劣按蚊, 直接叮咬固定在特制木架上的供血猴, 吸血后分离感染蚊, 并喂10%的糖水。

按蚊在叮咬供血猴时, 取猴血制作血涂片, 甲醇固定, 吉氏液染色, 镜检并计算感染率, 从按蚊感染后的第4天开始, 每天解剖感染蚊, 计算蚊胃的卵囊数, 观察卵囊的发育情况及子孢子进腺时间。

按蚊感染的时间除M₉号猴4月8日是在早上8时外, 其它都是在晚上20时至23时。

2 结果与分析

2.1 大劣按蚊是食蟹猴疟原虫巴氏亚种的适宜媒介 在原虫血症的第9天至60天, 我们用23批大劣按蚊叮咬M₈、M₉和M₁₀号3只供血猴, 结果全部按蚊都不同程度获得感染。其中M₈号猴是2批, M₉号猴是10批, M₁₀号猴感染11批大劣按蚊。感染结果分别列于表1。

从表1看出, 感染率最高的是100%, 最低的是5.9%, 感染度(平均每只按蚊的卵囊数)最多的是510个, 最少的仅为1个。一般来说, 按蚊的感染率高, 感染度也高, 反之亦然。

感染的按蚊在299.16K±1K°恒温下饲养, 卵囊第8天开始分化, 11天子孢子进腺。曾用带有成熟子孢子的大劣按蚊直接叮咬3只无虫的实验猴M₂、M₄和M₇号猴; 以及用解剖阳性蚊, 取唾液腺悬浮液静注子孢子的方法感染另外2只猕猴, 结果均获得感染(原虫血症前期7天)。说明原产于中国海南岛经驯化的大劣按蚊实验品系是食蟹猴疟原虫巴氏亚种的适宜媒介。

2.2 按蚊的感染率与血液原虫寄生率的关系 M₉号猴(切脾猴)在4月4日静注M₈号猴的感染血2ml以后, 血液原虫的寄生率不断升高, 至接种后的第10天, 达到原虫血症的高峰。但按蚊的感染率和感染度并不是伴随着原虫密度升高而升高。在原虫血症高峰时, 按蚊的感染率和感染度都不高。原虫血症高峰后, 原虫血密度不断下降, 按蚊的感染率则不断上升。在原虫血症高峰后的第7天, 达到较高的感染率(84.2%)和感染度(30个/胃)。

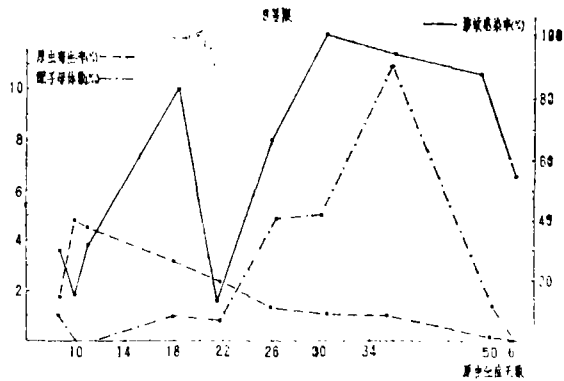


图1 按蚊的感染率与原虫的红细胞寄生率和配子母体数量的关系

Fig.1 Relationship of the infected mosquitoes with parasitemia and density of gametocytes

在虫血症高峰后第20天,按蚊的感染率(100%)和感染度(400个/胃)都达到高峰,并大约维持20天左右的时间(图1)。

表1 巴蚊感染3只供血猴的结果

| 实验日期 | 原虫血症出现时间(天) | 原虫率(%) | G/RBC (%) | 各期原虫比例(%) | | | | 蚊胃感染率(%) | 蚊胃卵囊数 | |
|---------------------------|-------------|--------|-----------|-----------|-------|-------|-------|-------------|---------|------|
| | | | | G | S | R | T | | 范围 | 中数 |
| 2批巴蚊感染M ₈ 号猴 | | | | | | | | | | |
| 8/4 | 22 | 0.24 | 0.08 | 3.33 | 16.67 | 43.33 | 36.67 | 65.1(28/43) | 1—9 | 2.5 |
| 16/4 | 30 | 7.33 | 0.26 | 0.36 | 5.45 | 58.36 | 35.83 | 100(5+) | 43—150 | 100 |
| 10批巴蚊感染M ₉ 号猴 | | | | | | | | | | |
| 13/4 | 9 | 1.73 | 0.068 | 0.57 | 5.09 | 50.28 | 44.06 | 25.6(11/41) | 1—3 | 1 |
| 14/4 | 10 | 4.71 | 0 | 0 | 3.08 | 80.00 | 16.92 | 13.3(4/30) | 1—2 | 1 |
| 15/4 | 11 | 4.54 | 0 | 0 | 1.60 | 63.63 | 34.77 | 27.2(6/22) | 1—3 | 1 |
| 22/4 | 18 | 3.33 | 0.093 | 0.28 | 11.05 | 24.65 | 64.02 | 84.2(16/19) | 2—84 | 30 |
| 26/4 | 22 | 2.19 | 0.079 | 0.36 | 7.22 | 29.24 | 63.18 | 9.7(3/31) | 2—7 | 4.5 |
| 30/4 | 26 | 1.31 | 0.485 | 3.70 | 0 | 70.37 | 25.93 | 66.7(16/24) | 5—297 | 98 |
| 4/5 | 30 | 1.23 | 0.493 | 3.85 | 5.77 | 51.92 | 38.46 | 100(5+) | 50—510 | 400 |
| 10/5 | 36 | 1.21 | 0.992 | 8.20 | 6.56 | 27.87 | 57.37 | 90.9(10/11) | 1—17 | 8 |
| 30/5 | 56 | 0.06 | 0.15 | 25.00 | 0 | 25.00 | 50.00 | 85.7(24/28) | 5—29 | 12.5 |
| 3/6 | 60 | | | | | | | 53.3(8/15) | 1—11 | 2.5 |
| 11批巴蚊感染M ₁₀ 号猴 | | | | | | | | | | |
| 17/4 | 13 | 3.2 | 0.128 | 0.40 | 11.24 | 27.71 | 60.65 | 14.3(4/26) | 1—3 | 1 |
| 18/4 | 14 | 3.02 | 0 | 0 | 4.50 | 60.36 | 35.14 | 25.0(4/16) | 1—4 | 2.5 |
| 19/4 | 15 | 3.80 | 0 | 0 | 5.85 | 27.13 | 67.02 | 55.5(5/9) | 1—6 | 1 |
| 20/4 | 16 | 4.07 | 0 | 0 | 4.82 | 37.95 | 57.23 | 20.0(2/10) | 2—3 | 2.5 |
| 22/4 | 18 | 3.30 | 0 | 0 | 13.63 | 23.48 | 62.89 | 95.2(20/21) | 4—71 | 20 |
| 26/4 | 22 | 5.86 | 0.211 | 0.36 | 7.22 | 29.24 | 63.18 | 96.9(31/32) | 1—296 | 30 |
| 30/4 | 26 | 5.90 | 0.254 | 0.43 | 1.28 | 50.00 | 48.29 | 65.7(23/35) | 1—14 | 6 |
| 4/5 | 30 | 2.08 | 0.849 | 4.08 | 26.53 | 3.06 | 66.43 | 59.5(19/32) | 1—10 | 5 |
| 10/5 | 36 | 1.61 | 3.27 | 20.31 | 6.25 | 26.56 | 46.88 | 100(7+) | 100—370 | 300 |
| 30/5 | 56 | | | | | | | 10.5(2/19) | 1 | 1 |
| 3/6 | 60 | | | | | | | 5.9(1/17) | 1 | 1 |

M₁₀号猴是未切脾的健康猴。由于M₁₀号猴在4月6日分别用蚊传和血传的方法感染,因此该猴有两批血液原虫,有两个原虫血症高峰(图2)。第一个高峰是血传原虫的高峰是在接种后的第16天,与M₈号猴一样,高峰前与高峰时按蚊的感染率与感染度都较低。第一个虫血症高峰后,血传原虫密度下降(3.30%),而按蚊的感染率则不断上升(95.2%, 96.9%);与此同时蚊传转种的血液原虫的数量不断增加,它不但扭转了血传原虫的密度下降,而且在接种后的第36天,即血传原虫高峰后10天,达到第二个

原虫血症的高峰,即蚊传转种的原虫血症高峰。此时按蚊的感染率较高为65.7% (很可能是受血传原虫的影响)。第二个原虫血症高峰后的第10天(红细胞的寄生率为1.61%),按蚊的感染率达到高峰(100%),感染度也达到高峰(300个/胃)。由于M₁₀号猴是未切脾的健康猴,它的自然抵抗力和免疫力都比切脾的M₀号猴强,血液原虫消失较快,在按蚊感染率高高峰后的第20天(原虫血症后的56天),在薄血膜中已经查不到原虫,按蚊的感染率和感染度都比较低。由于我们在这段时间里没有进行连续感染试验,因此推测未切脾猴维持按蚊高感染率的时间要比切脾猴(20天)短,也许只能维持10天左右的时间。

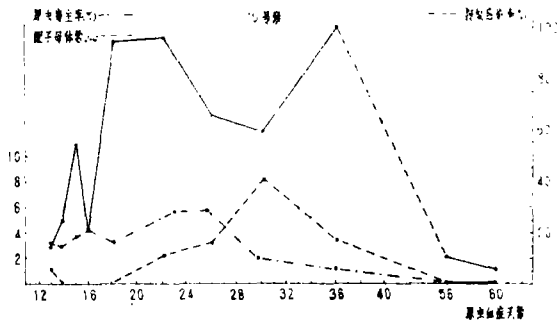


图2 按蚊感染率与原虫寄生率和配子母体数量的关系
Fig.2 Relationship of the infected mosquitoes with parasitemia and density of gametocyte

2.3 按蚊感染率与配子母体数量的关系 一般来说,配子母体数量多,媒介按蚊的感染率和感染度也高,但国内外的一些学者却观察到相反的情况^[1-3]。从表1可以看出,在原虫血症高峰前和高峰时(M₁₀号猴是指第一次高峰),我们共感染按蚊7次,虽然无性体的数量较多,但配子母体数量较少,除了有1次感染率较高(55.5%),但其余6次的感染率都在30%以下,而且7次感染的感染度都很低。说明配子母体数量少,感染率和感染度一般都比较低。

疟原虫无性体急剧增加的“压力”(Miller(1976)^[4])刺激机体产生免疫力。由于免疫力和其它因素的作用又限制了无性体增长,也诱导配子母体的形成。因此原虫血症高峰后,配子母体的数量不断增加,活力不断增强,因而按蚊的感染率和感染度也不断增加(图3)。这对疟原虫渡过不良环境,延续种族都是很有必要的。

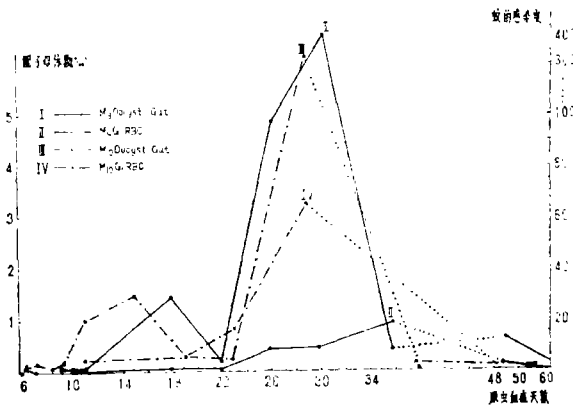


图3 按蚊的感染度与配子母体数量的关系
Fig. 3 Relationship of the gametocyte density with the number of oocyst on the gut

2.4 保存原虫的不同方法对按蚊感染性的影响 实验室保存疟原虫通常是采用液态保存,血传转种的方法。此法的优点是简便实用,缺点是长期血传转种会导致一些疟原虫丧失产生配子母体的能力(例如鼠疫)。因此不得不耗费较多的人力物力间以蚊传转种的方法,借以保持疟原虫产生配子母体的能力和提高疟原虫对按蚊的感染性。安继波

(1979)^[2]认为食蟹猴疟原虫采用“孢子转种的比红内期转种的疟原虫的阳性率较高”。在我们实验中, M_9 号猴是用反复血传转种的方法保存的原虫接种的, 接种到 M_8 和 M_{10} 号猴的是经反复蚊传转种的原虫。但上述3只实验猴对按蚊的感染率和感染度并没有明显的差异, 在最适时机都可以获得最高的感染率(100%)和极高的感染度。实际上获得最高感染度的还是反复血传转种保存原虫方法接种的实验猴 M_9 号(400个/胃)。因此我们认为两种保虫方法对食蟹猴疟原虫巴氏亚种对按蚊的感染力没有明显的影响, 这种结果与 Miller 等人的看法^[4]相吻合。

3 讨论

Collins等(1972)^[6]经过长时间大量的研究后认为, 食蟹猴疟原虫巴氏亚种对巴拉巴按蚊感染的最适时机是原虫血症后的第9天至16天, 第14天为感染高峰。但安继尧1979则认为合适时机是: 血传转种的是接种后的20~50天; 孢子转种的是接种后的30~50天。显然他们提出的最适时机的时间各不相同, 但实质上他们又都是选择脊椎动物宿主发病历程作为最重要的指标。本文选用原虫血症高峰后的天数作为最佳感染时机的指标。因为接种后的天数容易受接种原虫的数量多少、宿主的健康状况、免疫状态等因素影响甚大。例如Miller等(1976)^[4]用大虫量接种, 食蟹猴疟原虫巴氏亚种在原虫血症后的第6天就达到原虫血症的高峰。安继尧接种的虫量较少, 要15—18天才达到高峰。 M_9 号猴是切脾猴, 免疫力较差, 接种后10天就达到原虫血症的高峰。 M_{10} 号猴是不切脾的健康猴, 则在接种后16天达到高峰。因此接种后用原虫血症的天数为指标, 容易受其它因素的影响。用原虫血症高峰后的天数则没有上述的弊病。因此我们认为: 食蟹猴疟原虫最佳感染时机是在原虫血症高峰后的一段时间, 大约是在高峰后的10天, 并能维持10天至20天时间。

虽然影响按蚊感染性最重要的因素是原虫密度的变化, 但其它因素也是起作用的。例如实验猴的体质、健康情况、发病程度的不同, 也会导致最佳感染时机提早或推迟数天, 特别是配子母体的性质即它的周期节律性对按蚊的感染性影响更为明显, 在同一天里的不同时间里, 按蚊的感染率可以在0~85%之间波动^[1]。我们的实验中, 在最佳感染时机的范围内, 也出现感染不理想的情况, 这很可能是受配子母体性质的影响。因此进一步深入研究食蟹猴疟原虫巴氏亚种配子母体周期节律性与按蚊感染性之间的关系是很有意义的。

参 考 文 献

- [1] 上海地区疟疾防疫组, 疟疾研究, 1979, 118-120
 - [2] 陈佩惠等, 动物学报, 25, 4, 329-335
 - [3] Warren, M. et al., *Indian J. Malariol.*, 17(1973), 78-79
 - [4] Miller, L. H., et al., *Exp. Parasit.*, 40(1976), 132-146
 - [5] 安继尧, 疟疾研究, (1979), 113-117
 - [6] Collins, W. E., et al., *J. Parasit.*, 58(1971), 653-659
- (下接第76页)

The Study of the Stochastic Method for Water Quality Programme in a River

Huang Ping*

Abstract

This paper deduces a water quality model by using the theory of random differential equations, and proposes a stochastic method for water quality management at a river. The method can provide a relationship between investment and risk, and reveal better the effects of uncertain variations of water pollution process on water quality programme.

Keywords stochastic model, water pollution, optimization

* Department of Geography

(上接第67页)

Studies on the Infectivity of *Plasmodium cynomolgi bastianellii* to *Anopheles dirus*

Li Daosheng* Liang Dongshen Bai Qinshen

Abstract

Anopheles dirus of Hainan island origin is a good mosquito vector for plasmodium, *c. bastianellii*. The relationship of the mosquito infection to the density of parasitemia indicates that the optimum time is ten days after the peak of parasitemia. The mosquito-infection is not influenced by the method of storage of malaria parasite.

Keywords *plasmodium cynomolgi*, *anopheles dirus*, infectivity

* Department of Biology