

# 间日疟原虫 (PLASMODIUM VIVAX) 在 熊猴 (MACACA ASSAMENSIS) 体内的繁殖

两广疟疾猴模研究协作组\*

以间日疟原虫 (*Plasmodium vivax*) 接种猴类和其他动物有很长的研究历史。至今被证实对间日疟原虫有不同程度的感受力的, 在非洲有黑猩猩 (*Pan troglodytes*), 在美洲有夜猴 (*Aotus trivirgatus*)、松鼠猴 (*Saimiri sciureus*)、巴拿马猴 (*Saguinus geoffroyi*), 白面猴 (*Cebus capucinus*)、黑蜘蛛猴 (*Ateles fusciceps*) 和红蜘蛛猴 (*A. geoffroyi*), 其中尤以夜猴最为重要; 在亚洲只发现东南亚的白掌长臂猿 (*Hylobates lar*) 对间日疟原虫有部分的感受性。上述方面, Arbele (1945)、<sup>(8)</sup> Taliaferro (1934)<sup>(9)</sup>、Young 等 (1976)<sup>(10)</sup> 和江静波 (1976)<sup>(1)</sup> 都做过了文献综述。

猕猴一属 (*Macaca*), 包括猕猴 (*M. mulatta*) 等一些亚洲常见的猴种, 长期以来, 一再被用来接种间日疟原虫, 但皆以失败告终。<sup>(1)(5)(9)(10)</sup>

熊猴 (*M. assamensis*) 也是猕猴属中常见的一种, 形态, 习性、产地均与猕猴十分近似。1974年我们在广西百色地区以当地间日疟原虫患者的鲜血接种一只熊猴 (婴猴), 发现原虫在猴体持续出现10天, 而在前6天可以看到完全成熟了的裂殖体和散出的裂殖子。原虫密度还一度回升, 说明在六天之内, 原虫繁殖情况良好。

## 一、材料和方法

用作实验的熊猴是在广西南宁购得的婴猴, 断奶后用代乳粉、牛奶和其他食物饲养了两个月。切脾前和接种前进行了血检, 均未发现原虫。切脾时体重0.7kg, 切脾后第16天静注间日疟原虫患者的鲜血7ml。从接种日起连续服硫唑嘌呤 (Imuran) 22天, 每天为5mg/kg。

血源来自广西百色县百色大队的一女孩, 血中间日疟原虫红细胞寄生率为1.2%, 接种的血量为7ml, 含原虫的总数约为  $336 \times 10^6$  个。

---

\* 本研究工作的协作单位: 中山大学 广西中医学院 广东省卫生防疫站 广西壮族自治区卫生防疫站 广东省生物制品研究所 广西百色地区卫生防疫站  
本文1977年6月收到。

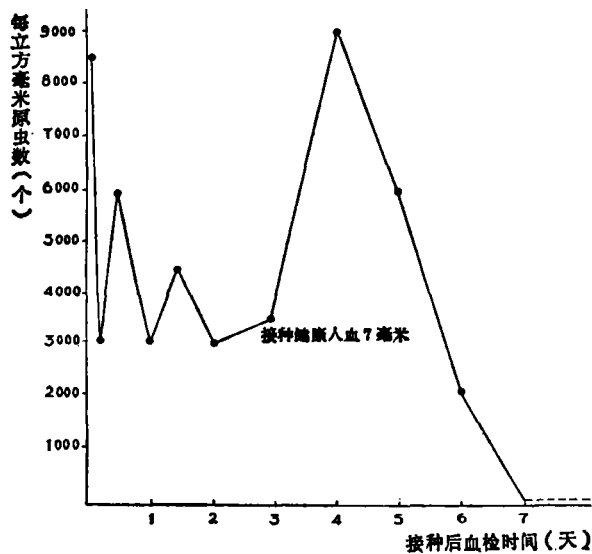
接种后 1、6、12、24、36、48 小时各验血一次，以后每天验血一次。以姬姆萨液 (Giemsa's stain) 染色。原虫的计算方法为：接种后 6 天内计算一万个红细胞 (20 个视野，每视野约有红细胞 500 个) 中寄生的原虫数，从而推算出红细胞的寄生率。7 天后，由于原虫数急剧下降，只计算全厚血膜中的原虫数。

## 二、结 果

接种后 1 小时检查，原虫率为 1.7%；6 小时后下降为 0.6%；12 小时后回升为 1.2%；第 3 天静注健康人血 7 ml，第 4 天原虫率达最高峰，为 1.8%；第 5 天仍维持 1.2%；第 6 天显著下降为 0.4%。直至今时，原虫的活力仍相当强，与人体所见极相似，一个裂殖体中裂殖子数目仍有多达 28 个者 (图 I—22)。第 7 天起，原虫急剧下降，全厚血膜只见有原虫 3 个。10 天后镜检转阴。其结果见下表和曲线图。

间日瘧原虫在熊猴体内的繁殖

接 种 后 血 間	紅 內 期 各 期 原 虫 数 / 万				紅 感 染 細 胞 率 %	每 立 方 毫 米 原 虫 数	备 注
	环 状 体	滋 养 体	裂 殖 体	配 子 母 体			
1 小 时	9	6		2	1.7	8500	
6 小 时	4	2			0.6	3000	
12 小 时	1	9	1	1	1.2	6000	
24 小 时	1	4	1		0.6	3000	
36 小 时		1	7	1	0.9	4500	
48 小 时	3	1	1	1	0.6	3000	
3 天	6			1	0.7	3500	静注健康者鮮血 7 ml
4 天	4	10	2	2	1.8	9000	
5 天	1	5	4	2	1.2	6000	
6 天		1	2	1	0.4	2000	
7 天		3					全厚膜原虫数
8 天							全厚膜原虫数
9 天	6	2					全厚膜原虫数
10 天	4						全厚膜原虫数



间日疟原虫在熊猴体内的繁殖

### 三、结论和讨论

(一) 猕猴(*Macaca*)一属中常见的猴种是重要的实验动物,前人早已用它们来接种间日疟原虫,但都以失败告终。十年前Garnham(1966)<sup>[6]</sup>总结前人的经验,认为“猕猴(*rhesus monkey*)对间日疟原虫有完全的免疫性,即使接种大量的子孢子,也不会于肝细胞找到红外期,即使注入了极大量受间日疟原虫感染的血,原虫在猴体中不能生存,也不会繁殖的。”虽然如此,学者们仍没有完全放弃这方面的探索。最近Young等(1975)<sup>[10]</sup>仍试以受间日疟原虫感染的夜猴的血接种切了脾的猕猴,结果在被接种的猴的血液涂片中仍找不到原虫,因此他们认为在旧大陆的猕猴(*Macaque*)体内,间日疟原虫不能生存也不能发育。本实验所用的是猕猴属中的一种,称熊猴,与最常用的猕猴形态相近,产地和生活习性也十分相似。我们用熊猴的婴猴来作接种间日疟原虫的试验,发现原虫在猴体内不但生存了6天,而且还进行了繁殖,这一现象尚未见前人有所记载。

(二) 接种后6天内,间日疟原虫在猴体内的发育和繁殖是正常的。各期原虫完好,和在人体所见极相似,没有任何退化的迹象。每天都可看到完全成熟的裂殖体,第6天所见裂殖体的裂殖子数有多达28个者,这是原虫发育良好、繁殖正常的表现。原虫的密度在猴体内回升的情况也证实了这一点,即在第4天,原虫的密度回升至1.8%,相当于最低时(0.6%)的三倍。

(三) 虽然我们看到了原虫在猴体内繁殖的现象,但是所见各期的原虫,是只在人的红细胞中,抑或有一部分已侵入猴的红细胞?目前尚未能肯定。我们接种的血

源是7ml,三天后又输入健康人血7ml,所以输入人的红细胞数量是相当多的。我们在血片标本中不易区别人的红细胞和猴的红细胞,因此无从判断原虫有否进入猴的红细胞。若在全部的繁殖过程中,原虫所寄生的仍都是输入的人的红细胞,那么猴的血液只是起了培养基的作用。即使是这样,也说明猴血的环境可以支持间日疟原虫在人的红细胞中的发育和繁殖。

(四)原虫数从第7天开始急剧下降,是十分值得注意的现象。最可能是由于猴体内产生了免疫力。这种免疫力可能作用于疟原虫,但也可能是作用于人的红细胞。

(五)我们于接种后3天注入健康人血,次日原虫数突然升高(见表和图),达到1.8%,为原虫进入猴体后的最高峰。由此可见,人血对于原虫的繁殖是有利的。因此,我们认为,在我们今后的实验中,对于已接种的猴可继续注入人血,用作转种传代的猴也注入血,甚至将部分的猴血抽出,换入健康的人血,使间日疟原虫在猴与猴之间反复转种传代下去,帮助间日疟原虫逐渐适应猴体的环境,这方法也许是建立人疟猴模的有用措施。Mc Ghee(1951)<sup>(8)</sup>将鹧鸪疟原虫(*Plasmodium lophurae*) 在鸡胚与小白鼠之间反复转种传代,终于使本来是寄生于鸟的疟原虫在小白鼠体内定居,成为能够在小白鼠体内繁殖和传代的一个虫株,这个方法被称为适应性传代(adaptive passage)。我们不能将人疟原虫在人与猴之间反复转种传代,但可用不断输人血和换人血的办法希望人疟原虫能逐渐适应猴的红细胞。这和 McGhee 所提出的适应性传代的方法是相似的。

(六)间日疟原虫之所以能在熊猴体内发育和繁殖,我们认为还有两点是值得特别注意的:

(1)用作实验的是熊猴的婴猴。前人的经验一再证明一种动物的幼婴,对于异种动物的疟原虫的感受性常较成体为高。前人以恶性疟原虫(*Plasmodium falciparum*)接种吼猴(*aloutta palliata*)<sup>(10)</sup>获得成功是使用婴猴。McChee 也是以鹧鸪疟原虫感染初生的小白鼠而获得成功<sup>(9)</sup>。我们以恶性疟原虫接种猕猴(*Macaca mulatta*)、熊猴和黑叶猴(*Presbytis francoisi*)的结果也说明这三种猴的婴幼儿体的感受性较成体为佳(未发表资料)。我们这一次所取得的进展,供试验用的是体重0.7kg的婴猴,可能是重要原因之一。

(2)使用密度高的虫株和大虫量。目前所用的虫株其红细胞的感染率是较高的(1.2%)。此外我们注入猴体的原虫数是很大的,总共有 $336 \times 10^8$ 个。

本虫株的特点有:①红细胞中的原虫重复感染率相当高,环状体期重复感染的占19%(图 I-4、5、6),晚期的重复感染也不少(图 I-7、9、11)。这些受重复感染的红细胞中,常可以看到两个发育程度相差甚远的原虫(图 I-7;图 II-8),这种现象说明两者侵入红细胞的时间可能相距甚远。②当裂殖体成熟时,疟色素有集中成1-3堆的(图 I-8、9、23),也还有分散而不集中的(图 I-10)。以上两个特点,在进入猴体后的发育和繁殖过程中仍然没有改变。在猴体内红细胞的重复感染仍是很多的(图 I-16、18、19、24),成熟的裂殖体中疟色素分散而不集中的情形更为

常见(图 I - 22、27)。

虽然如此,它并非江静波等所记载的间日疟原虫多核亚种(*Plasmodium vivax multinucleatum* Chiang, Yu and Chen)<sup>〔2〕〔3〕〔4〕</sup>,因为被寄生的红细胞无缢状的,而疟色素又多呈杆状或米粒状(特别是在大配子母体中)(图 I - 9)。因此,我们认为,它只是广西百色地区一株毒力较强的间日疟原虫。

### 参 考 文 献

- 〔1〕江静波:人疟动物模型研究的回顾与前瞻,中山大学学报(自然科学版),1976年 第1期73—86页。
- 〔2〕江静波、余锡尧、陈俊民:流行我国的间日疟原虫一新亚种。中山大学学报(自然科学版),1965年 第1期 131—132页。
- 〔3〕江静波,余锡尧:间日疟原虫多核亚种与相近两种疟原虫的比较,寄生虫学报,第2卷 第4期 333—346页 1965年。
- 〔4〕江静波 余锡尧:间日疟原虫多核亚种晚期重复感染的观察。中山大学学报(自然科学版),1965年 第3期 361—365页。
- 〔5〕Aberle, S. D., 1945. PRIMATE MALARIA. National Research Council, Division of Medical Sciences, Washington.
- 〔6〕Garnham, P. C. C., 1966. MALARIA PARASITES AND OTHER HAEMOSPORIDIA. Blackwell Scientific Publications, Oxford. p. 139.
- 〔7〕Jeffery, G. M., 1961 Inoculation of human malaria into a host *Macaca mulatta*. J.Parasit. 47:90.
- 〔8〕McGhee, R. B., 1951. The adaptation of the avian malaria parasite, *Plasmodium lophurae*, to continuous existence in infant mice. J.Inf. Dis., 88:186—197.
- 〔9〕Taliaferro, W.A. and Taliaferro, I. G., 1934. Transmission of *Plasmodium falciparum* to the howler monkey, *Alouatta* sp. I. General nature of infection and morphology of the parasites. Amer. J. Hyg., 19:318—342.
- 〔10〕Young, M. D., Baerg, D. C., and Rossan, R. N., 1975. Experimental monkey hosts for human plasmodium. Exp. Parasit., 38:136—152.

ON THE PROPAGATION OF  
PLASMODIUM VIVAX IN A MACAQUE—MACACA  
ASSAMENSIS

Macaques are believed to be totally immune to *Plasmodium vivax*, because, in such monkeys, no indication of survival or development has been detected in spite of the fact that many attempts have been made to inoculate them with large amounts of blood forms or sporozoites of this parasite.

The present paper records our observation on the survival and multiplication of *Plasmodium vivax* in an infant macaque monkey (*Macaca assamensis*) weighing 0.7 kg for 6 days after being injected intravenously with 7 ml of a patient's blood infected with this parasite. On the 7th day, the parasitaemia dropped sharply.

A transfusion of 7 ml of fresh blood from a healthy person to the monkey was made on the 4th day after inoculation, and the parasitaemia rose to its highest pitch on the day following.

We do not know at present whether the parasites ever invaded the red blood cells of the monkey or whether they were merely propagating among the human red blood cells injected into the experimental host.

The strain specificity, a big Parasite-inoculum together with human blood are considered to be important factors that made the propagation possible.

Written by Jiang Jing-Bo

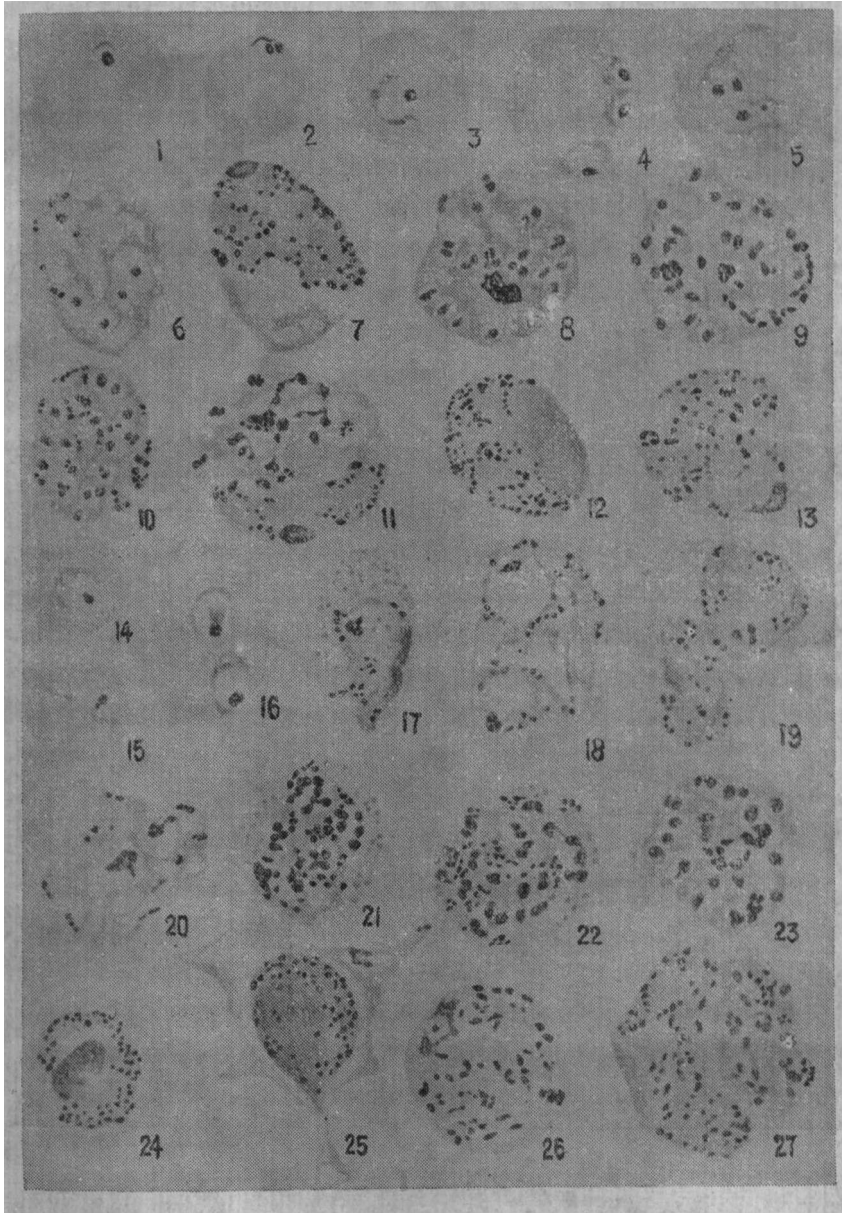


图 I

- (1)—(6)接种46号熊猴的人血源中间日疟原虫的环状体。  
 (7)血源中的大滋养体和配子母体的重复感染。  
 (8)—(10)血源中的裂殖体。  
 (11)血源中裂殖体和配子母体的重复感染。  
 (12)—(13)血源中的小配子母体。  
 (14)—(16)接种46号熊猴后3、4天所见的环状体。  
 (17)接种熊猴6天后所见的滋养体。  
 (18)—(19)接种熊猴4天后所见滋养体的重复感染。  
 (20)接种熊猴3天后所见未成熟的裂殖体。  
 (21)—(23)接种熊猴6天后所见的裂殖体。  
 (24)接种熊猴4天后所见的小配子母体。  
 (25)接种熊猴3天后所见的小配子母体。  
 (26)接种熊猴3天后所见的大配子母体。  
 (27)接种熊猴3天后所见的裂殖体和大配子母体的重复感染。

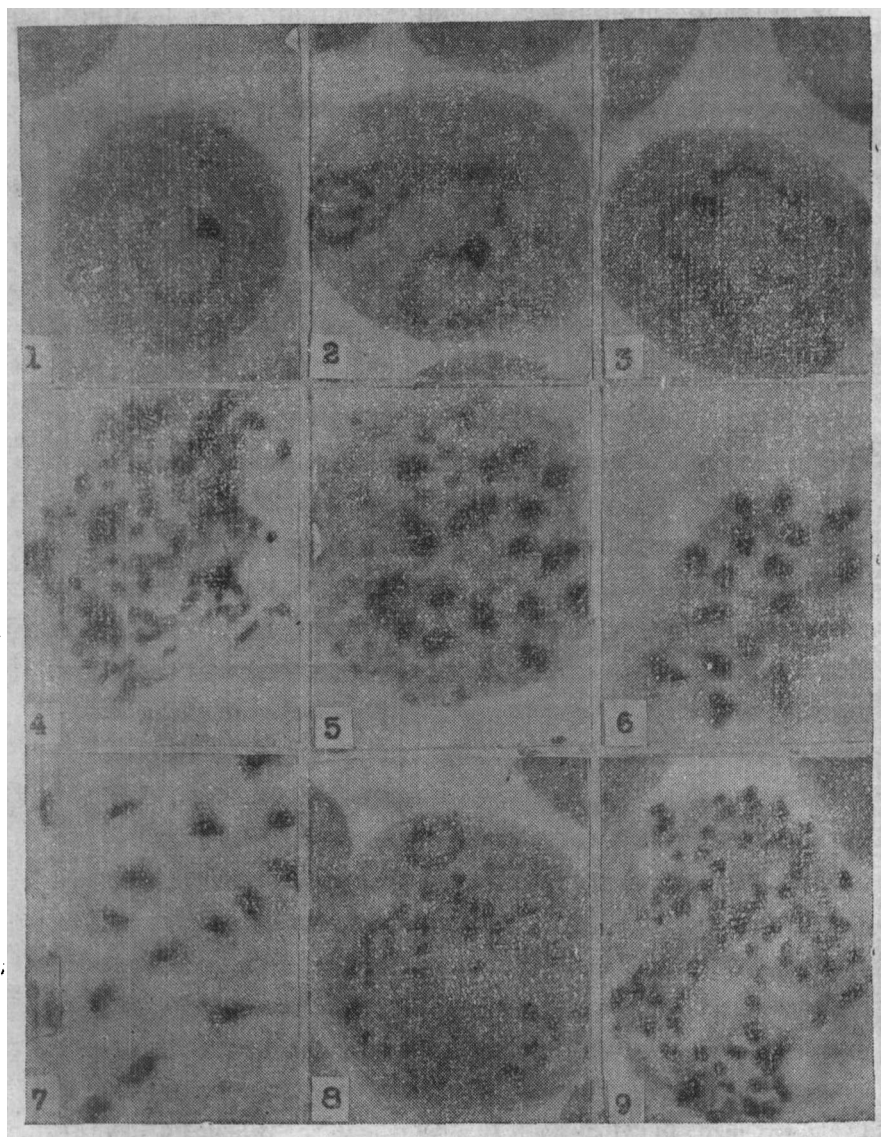


图 I

- |                        |                              |
|------------------------|------------------------------|
| (1)接种熊猴4天后所见的环状体。      | (6)接种熊猴3天后所见的成熟裂殖体。          |
| (2)接种熊猴6天后所见的滋养体。      | (7)接种熊猴3天后所见的裂殖子散出的情形。       |
| (3)接种熊猴6天后所见的大的滋养体。    | (8)接种熊猴4天后所见的裂殖子母体和环状体的重复感染。 |
| (4)接种熊猴6天后所见的未成熟的裂殖体。  | (9)接种熊猴3天后所见的大的裂殖子母体。        |
| (5)接种熊猴6天后所见的接近成熟的裂殖体。 |                              |