

# 约氏疟原虫配子体在小鼠外周血中自然消长观察

王淑芬 时云林 郭保忠 高徐生 滕翁和

(军事医学科学院微生物流行病学研究所)

本文报道了约氏疟原虫配子体在小鼠外周血中自然消长规律以及血传代数、接种剂量、无性体寄生率对配子体消长曲线水平的影响。

约氏疟原虫(*Plasmodium yoelii yoelii*)是兰多(Landau)<sup>[6]</sup>等1965年自中非共和国红树鼠(*Thamnomys rutilans*)体内分离获得<sup>[9]</sup>。与伯氏疟原虫(*P. berghei berghei*)相比,具有毒力低、孢子增殖要求的温度不苛刻、囊合子和组织裂殖体大、裂殖体含的裂殖子数目多等优点<sup>[3,5,10]</sup>,故除广泛应用于疟疾免疫研究外,近些年来国内外也用其进行疟疾病因性预防研究<sup>[1,4,7]</sup>,而用于杀配子体药的研究未见有报告。

1979年,兰多等在研究约氏疟原虫(*nigeriensis*)配子体形态和感染性时指出,配子体血症与多因素有关,其中虫株和脊椎动物宿主的种株对血中配子体数量有重要影响。我们为了采用约氏疟原虫(By265株)和瑞士小白鼠(昆明株)进行杀配子体的药物研究,故在不经任何治疗与处理的条件下,对小鼠外周血中配子体自然消长情况及某些影响因素作了观察,现报道如下:

## 材料与方 法

### (一) 材 料

1. 疟原虫株 约氏疟原虫(By265),系1976年自法国巴黎自然博物馆动物学实验室引进。在本实验室血传间蚊传保种。

2. 动物 瑞士小白鼠,昆明株,远交系。4—5周龄,雄性,体重18—22克。由本院实验动物场供应。

3. 器材 均经高压灭菌。

(二) 方 法 以孢子接种或以阳性蚊媒叮咬后第7天的感染鼠为原代献血鼠。取其血,用生理盐水稀释成每毫升含 $5 \times 10^7$ 个寄生红细胞,以每鼠 $1 \times 10^7$ (0.2毫升)的剂量腹腔接种给8只实验鼠,作为血传I代鼠。于接种后第1天(D<sub>1</sub>),取尾静脉血制薄血膜,先镜检予选,剔除白血细胞过多或疟原虫寄生率过低的鼠,留下5只供正式实验,分别计数各鼠100个白血细胞视野内成熟的雌、雄配子体数量和无性体寄生百分率。每天准时检查1次,连续检查7天。第7天(D<sub>7</sub>)时,再取血传I代鼠的血,以相同剂量和途径接种给另外8只小鼠,作为血传II代鼠。以同样的方法进行予选和镜检。以此类推,直至V代。然后求出各代鼠逐日的配子体数和无性体寄生率的平均值,绘制成曲线或表进行比较。

## 结 果

通过逐日准时对各代实验鼠检查结果表明,约氏疟原虫(By265)在瑞士小白鼠昆明株外周血中,配子体的自然消长表现出如下的特点:

1. 配子体消长曲线具有明显的规律性。连

表1 约氏疟原虫各代逐日配子体数量\*

血传代数	平均值 (范围)/100 WBC						
	D <sub>+1</sub>	D <sub>+2</sub>	D <sub>+3</sub>	D <sub>+4</sub>	D <sub>+5</sub>	D <sub>+6</sub>	D <sub>+7</sub>
I	2.4(1-3)	26.8(10-42)	78.2(34-157)	35.2(18-48)	18.6(9-30)	12.3(1-26)	23.3(2-64)
II	3.2(2-6)	18.0(11-23)	63.0(24-130)	72.0(38-135)	30.8(20-48)	8.8(3-17)	2.3(1-4)
III	1.8(1-3)	13.0(7-28)	37.2(17-93)	57.4(22-78)	26.4(7-74)	7.6(2-16)	3.6(1-6)
IV	0.6(0-3)	5.6(1-12)	28.6(15-45)	38.0(25-51)	11.0(6-20)	9.5(5-14)	4.5(4-5)
V	2.6(1-8)	15.6(7-27)	30.4(15-39)	34.4(12-47)	9.0(9-9)	0	0

\* 峰值与白传代数相关系数  $r = -0.98$ , 由王少山同志计算。

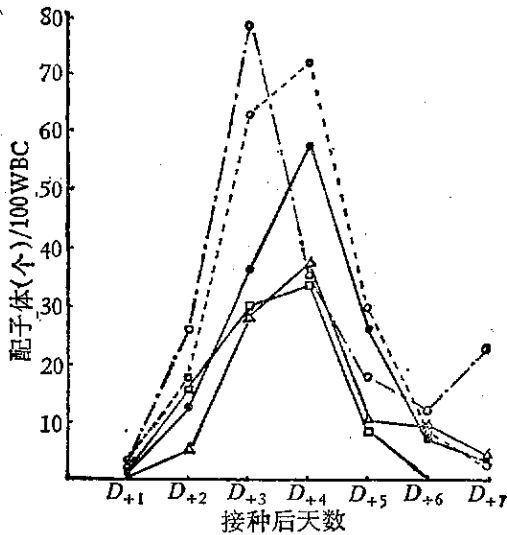


图1 约氏疟原虫配子体消长曲线  
 ○---○ I代    □---□ II代    ●---● III代  
 ▲---▲ IV代    □---□ V代

尤为规律。血传 I 代的峰值为 100 个白血细胞视野内平均 78 个；血传 II 代为 72；血传 III 代 57；血传 IV 代 38；血传 V 代 34。经统计学处理，配子体峰值与血传代数呈负相关 ( $r = -0.98$ )，显示出随着血传代数的增加，配子体峰值递减的规律(表 1、图 1)。

3. 配子体消长曲线的水平受疟原虫接种剂量的影响。以血传 II 代为例，每鼠接种  $1 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^6$  个被寄生的红血细胞，其配子体消长曲线的水平相仿。每鼠接种  $1 \times 10^6$ ，曲线明显变低(图 2)。

4. 配子体的高峰比无性体的高峰出现的早。多数情况下，配子体高峰比无性体高峰平均早出现 1—2 天。无性体寄生率上升至 20% 上下时，配子体数量最佳。血传 I 代，配子体峰值 78，相对应的无性体寄生率 14%；血传 II 代，配

续 5 代实验都表现为 D<sub>+1</sub>，绝大多数小鼠外周血内即可查见少量的配子体。从 D<sub>+2</sub> 起，配子体数量逐渐增加，D<sub>+3</sub> 或 D<sub>+4</sub> 达高峰，其峰值大约是 D<sub>+2</sub> 的 3—4 倍，D<sub>+5</sub> 时，陡然下降至相当于 D<sub>+2</sub> 的水平。D<sub>+6</sub>、D<sub>+7</sub> 时，能查见的配子体更少，个别小鼠为阴性(图 1)。

2. 配子体消长曲线的水平受疟原虫血传代数的影响。血传 I 代最高，随着血传代数的增加，消长曲线的水平逐渐下降，以各代峰值相比

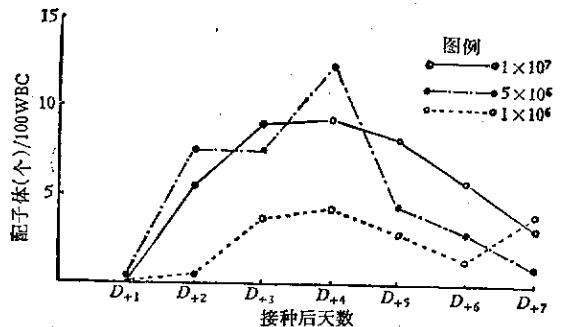


图2 约氏疟原虫剂量对配子体数量影响

表 2 约氏疟原虫配子体与无性体数量比较

血 传 代 数		逐日数量(配子体/100 WBC、无性体寄生百分率)						
		D <sub>+1</sub>	D <sub>+2</sub>	D <sub>+3</sub>	D <sub>+4</sub>	D <sub>+5</sub>	D <sub>+6</sub>	D <sub>+7</sub>
I	配	2.4	26.8	78.2	35.2	8.6	12.3	23.3
	无	0.7	10.8	14.6	27.4	28.0	21.3	17.7
II	配	3.2	18.0	63.0	72.0	30.8	8.8	2.3
	无	0.8	5.4	11.4	20.8	22.2	11.3	15.5
III	配	1.8	13.0	37.2	57.4	26.4	7.6	3.6
	无	0.7	7.2	12.2	15.6	17.0	15.8	17.6
IV	配	0.6	5.6	28.6	38.0	11.0	9.5	4.5
	无	0.3	5.2	11.6	25.0	34.6	13.5	19.5
V	配	2.6	15.6	30.4	34.4	9.0	0	0
	无	0.9	6.8	16.8	39.2	34.5 <sup>△</sup>	10.0	14.0

△ 三只鼠特异死亡。

表 3 约氏疟原虫雌雄配子体比较

血 传 代 数		逐 日 数 量/100WBC						
		D <sub>+1</sub>	D <sub>+2</sub>	D <sub>+3</sub>	D <sub>+4</sub>	D <sub>+5</sub>	D <sub>+6</sub>	D <sub>+7</sub>
I	♂ <sub>+0</sub>	2.0	17.0	57.0	25.0	11.8	7.3	10.0
	♀ <sub>+0</sub>	0.4	9.8	21.2	10.2	6.8	5.0	13.3
II	♂ <sub>+0</sub>	3.0	13.0	45.0	50.4	22.6	4.5	0.5
	♀ <sub>+0</sub>	0.2	5.0	18.0	21.6	8.2	4.3	1.8
III	♂ <sub>+0</sub>	1.6	10.0	35.4	42.8	16.6	3.0	1.8
	♀ <sub>+0</sub>	0.2	3.0	13.8	14.6	9.8	4.6	2.0
IV	♂ <sub>+0</sub>	0.6	4.8	23.0	27.8	5.2	4.5	1.8
	♀ <sub>+0</sub>	0	0.8	5.6	10.2	5.8	5.0	2.5
V	♂ <sub>+0</sub>	2.6	13.0	22.2	26.6	8.0	0 <sup>△</sup>	0
	♀ <sub>+0</sub>	0	2.6	8.2	7.8	1.0	0 <sup>△</sup>	0

△ 四只鼠特异死亡。

子体 72, 无性体 20%; 血传 III 代, 配子体, 57, 无性体 17%。无性体寄生率增高配子体数量反而减少。无性体寄生率于 D<sub>+5</sub> 时达高峰, 而此时配子体数量却是大幅度下降的低水平 (表 2)。

5. 雌性配子体与雄性配子体在数量上有很大差别。多数情况下, 同一时间内的雌性配子体比雄性配子体多, 前者大约是后者的 2—3 倍。峰值尤为规律。血传 I 代峰值 78 (D<sub>+3</sub>), 其中雌性配子体 57, 雄性 21; 血传 II 代峰值 72 (D<sub>+4</sub>), 雌性 50, 雄性 22; 血传 III 代峰值 57 (D<sub>+4</sub>), 雌性 43, 雄性 14。此外, 雌性配子体比雄性配子体出现的早, 消失的也略早。D<sub>+1</sub> 每 100 个白血细胞视野内能查见 2—3 个雌配子体时, 多数鼠雄配子体还没有出现。D<sub>+6</sub>、D<sub>+7</sub>, 数量上

曾是雄配子体 2—3 倍的雌配子体迅速减少至接近或低于雄配子体的水平 (表 3)。

6. 配子体数量鼠间波动比较大。以 D<sub>+3</sub> 为例, 同一批实验的血传 I 代鼠, 配子体多者可达每 100 个白血细胞视野内 157 个, 少者 34 个; 血传 II 代鼠, 多者 130 个, 少者 24 个; 血传 III 代, 多者 93 个, 少者 17 个 (表 1)。

## 讨 论

实验表明, 约氏疟原虫在瑞士小白鼠昆明株外周血中, 其配子体的自然消长具有一定的规律性。不管采用血传哪一代、哪种剂量观察, 配子体的数量总是 D<sub>+3</sub>—D<sub>+4</sub> 最多。国外采用伯氏疟原虫筛选配子体和孢子增殖杀灭剂, 实

验的良好时机都是选在接种后 3—4 天<sup>[8,9]</sup>, 或许就是这个道理。我们采用约氏疟原虫进行病因性预防药筛选的实践证明, 在最适条件下, 其对媒介蚊虫 (*Anopheles stephensi*) 的实验感染率比较高 (80—90% 左右)。因此, 笔者认为约氏疟原虫可以代替伯氏疟原虫用于配子体和/或孢子增殖杀灭剂的研究。这除了虫株本身的优点外, 在养蚊室条件上可与病因性预防取得一致, 节省面积, 减少开支, 便于调用, 比较经济。

配子体数量受血传代数、接种剂量影响。如果实验对配子体数量要求较高的话, 建议选用血传 I—III 代的鼠供实验。接种剂量以每鼠  $1 \times 10^7$  或  $5 \times 10^6$  个被寄生的红血细胞为宜。

我们从实验中还体会到, 配子体的多少与小鼠的健康状况有一定关系。为保证配子体有足够数量, 可于实验前进行预选, 剔除白血细胞过多或疟原虫寄生率过低或过高的鼠。然后将预选合格的鼠按配子体密度进行分层, 再随机分组。这样既可保证配子体的数量; 又可保证实验的可靠性和可重复性, 减少或避免由于鼠间波动大而造成的组间实验误差。

兰多指出, 输血接种量多少, 对宿主外周血中配子体成熟时间有影响。接种量多, 成熟的早; 接种量少, 成熟的晚。而在我们的实验中, 接种剂量虽然不同, 但配子体达峰值的时间基本是一致的, 只是峰的高低不同。如果接种剂量只影响配子体成熟时间, 那么高峰的出现应表现为提前或延后。因此, 笔者认为, 接种剂量可能不只影响配子体成熟时间, 更影响配子体成熟数量。

配子体高峰比无性体高峰出现的早。无性体寄生率达 20% 左右时, 配子体数量最多; 无性体达高峰, 配子体反而明显减少。这可能有三种原因: 其一配子体寿命比无性体短, 当配子体已处于衰亡时, 无性体仍为兴旺时期。其二无性体寄生率高, 对配子体的产生和生存有不利影响。其三配子体产生机制与无性体不同。兰多等也曾报道过另外的虫株健康的配子体多在原虫血症的早期出现, 寄生率一旦很高, 代之而出现的则是变性的配子体。

我们观察到的约氏疟原虫 (By265) 随着血传代数的增加配子体数量递减的规律与巴福特 (Bafort)<sup>[2]</sup>、德米那 (Demina) 等<sup>[3]</sup> 在约氏疟原虫 (17×) 和文氏疟原虫 (*P. vinckei*) 中观察到的“血传代数多, 产生配子体的能力逐渐减弱, 甚至完全丧失”现象一致。

本文只限  $D_{+1}$ — $D_{+7}$  的情况。 $D_{+7}$  以后因部份实验鼠特异死亡, 故未作进一步观察。

## 参 考 文 献

- [1] 王淑芬等 1983 不同品系小鼠对约氏疟原虫——斯氏接取系统敏感性的观察 动物学杂志 (3): 4—7。
- [2] Bafort, J. et al. 1965 Gametogenesis of *P. vinckei*. *Nature* (London) 208(5016): 1230—1.
- [3] Demina NA, et al. 1969 The course of malaria infection, caused by different strains of *Plasmodium berghei yoelii* Landau and Killick-Kendrick, *Med Parasitol* (Mosk) 38(3): 294—9.
- [4] Fink E. 1974 Assessment of causal prophylactic activity in *Plasmodium berehei yoelii* and in value for the development of new antimalaria drugs. *Bull. WHO*, 50(3—4), 213—22.
- [5] Landau, I. and R. Killick-Kendrick, 1966 Rodent Plasmodia of the Republique Centrafricaine: The sporogony and tissue stages of *P. chabaudi* and *P. b. yoelii*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 60 (5): 633—649.
- [6] Landau I. et al. 1979 Study of gametocytes from the *Plasmodium "vivax"* group: morphology, development in *Anopheles* and infectivity of *P. yoelii* microgametocytes. *Ann Parasitol Hum Comp* 54(2): 145—61.
- [7] Peters, W. et al. 1975 The chemotherapy of rodent malaria. XXIII. Causal prophylaxis, part II: Practical experience with *P. yoelii nigeriensis* in drug screening. *Ann Trop Med Parasitol* 69(3): 311—28.
- [8] Ramkaran, A. E., Peters, W. 1969 The chemotherapy of rodent malaria. VIII. The action of some sulphonamides alone or with folic reductase inhibitors against malaria vectors and parasites, part 3: The action of sulphamethoxine and pyrimethamine on the sporogonic stages. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 63(4): 449—454.
- [9] Ramkaran, A. E. and Peters, W. 1969 Infectivity of chloroquine resistant *Plasmodium berghei* to *Anopheles stephensi* enhanced by chloroquine. *Nature*, London. 223(5201—5207): 635—636.
- [10] Wéry, M. 1966 Étude du cycle de *Plasmodium berghei yoelii* en vue de la production massive de sporozoites viables et de formes exo-erythrocytaires. *Annales des Sociétés Belges de Médecine Tropicale, de Parasitologie et de Mycologie Humaine et Animale* (Anvers), 46(6): 755—787.