

约氏疟原虫配子体在蚊媒叮咬的鼠体内 自然消长观察

王 淑 芬

(军事医学科学院 微生物流行病学研究所)

疟原虫配子体数量随着血传代数的增加而减少,这一规律已在不同的虫株观察中得到了证实^[1,3,4]。为了保持小鼠外周血中成熟配子体的高密度,必须维持一定的血传代数^[1]。至一定的血传代数以后,必须使该虫株通过媒介昆

虫体内一次,获得由子孢子引起感染的“原代”鼠,以此“原代”鼠为血源再行血传,如此循环,就能得到一定密度的配子体血症鼠,满足各种研究使用。我们为了研究药物的配子体和孢子增殖期效果,于1985年对约氏疟原虫配子体在

蚊媒叮咬的 C₅₇BL/6Jax 小鼠体内消长情况作了为期 14 天的观察,现报道如下:

材料与方 法

(一) 材料

1. 疟原虫株 约氏疟原虫 (*Plasmodium yoelii yoelii* By265), 1976 年自法国巴黎自然博物馆动物学实验室引进。

2. 媒介昆虫 斯氏按蚊 (*Anopheles stephensi* Hor), 1973 年自英国伦敦 Horton 医院引进。

3. C₅₇BL/6Jax 鼠 纯品系小黑鼠, 美国 Jackson 研究所纯化, 1973 年中国科学院遗传研究所从日本引进, 1977 年又引至我院。实验采用 6—8 周、体重 18—22 克, 雌或雄性健康小鼠, 本院实验动物场供应。

(二) 方法 以血传至一定代数的约氏疟原虫——瑞士小白鼠为血源(至少每 2—3 个油镜视野能见 ♂ 或 ♀ 配子体), 血餐感染羽化后 3—5 日龄、饥饿 24 小时的斯氏按蚊 100 只左右, 血餐时间视置放的献血鼠数量而移, 如置放 2 只, 血餐 30—60 分钟足够。然后喂以 5—10% 葡萄糖水, 置 25±0.5℃、相对湿度 80±5% 的养蚊室内饲养。至 12—14 天时, 每次取对约氏疟原虫子孢子高度敏感的 C₅₇BL/6Jax 鼠^[2] 2 只, 机械固定、腹部去毛后, 紧贴在蚊笼纱面上, 让蚊媒叮咬 30 分钟, 然后置于 19±1℃ 条件下饲养。在叮咬后第 1—14 天 (D₁—D₁₄) 每

天取尾血, 涂制薄血膜, 甲醇固定, 吉氏染色, 检查疟原虫血症。见有疟原虫在外周血内出现即开始计数 100 个白血细胞 (WBC) 视野内成熟的配子体数和无性体寄生的百分率 (虫体少时计数千分率)。重复 4 次, 然后以平均数统计比较。

结 果

先后 4 次实验共叮咬 8 只 C₅₇BL/6Jax 鼠, 出虫率均 100%, 虫现前期 4 天 (D₁—D₄)。寄生率起初很低, 以后逐渐上升, 第 6—7 天 (D₆—D₇) 寄生率出现约 6% 左右的小高峰、第 14 天 (D₁₄) 出现 23% 的最高峰, 8 只小鼠无 1 只特异性死亡 (图 1)。

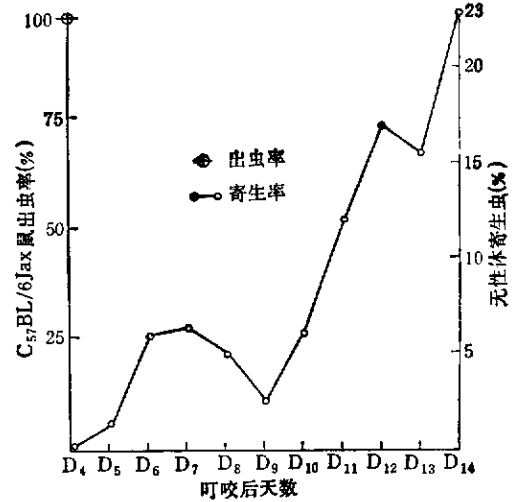


图 1 C₅₇BL/6Jax 鼠外周血中无性体消长与分布

表 1 C₅₇BL/6Jax 鼠外周血中配子体总数/100WBC†

小鼠编号	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	D ₉	D ₁₀	D ₁₁	D ₁₂	D ₁₃	D ₁₄
1	0	8	71	34	11	1	1	23	6	1	0			
2	0	0	90	59	18	8	4	41	1	2	1			
3	0	1	32	67	19	1	1	8	7	4	3			
4	0	2	19	16	3	2	1	1	6	39	7			
5	0	0	39	8	4	0	11	9	3	6	5			
6	0	0	5	25	8	8	1	2	4	8	11			
7	0	0	2	13	6	2	0	1	4	35	29			
8	0	2	4	13	56	10	2	15	47	14	...			
平均	0	1.625	32.75	29.375	9.375	4	2.625	12.5	9.75	13.625	8			

† 100 个白血细胞视野内; ‡ D₁₋₁₄ 为蚊媒叮咬后天数(此注解适用表 2 和表 3)。

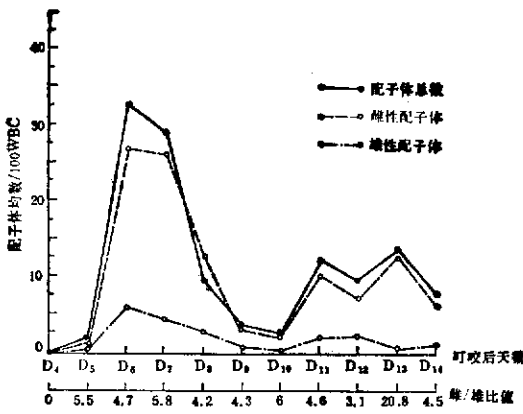


图2 C₅₇BL/6Jax 鼠外周血中配子体消长与分布

配子体比无性体出现的晚，而且规律也不一样。第4天查不见配子体，第5或第6天方出现，一经出现就“迅猛”地达到最高峰(约1天时间)，随后下降，第10天降至最低水平，第11—第13天又陆续出现小的高峰，但峰高大约只有前一峰的一半(表1、图2)。

配子体第一次高峰除1只小鼠出现在叮咬后第8天外，其余都出现在第6或第7天；而第二次小高峰出现的则较分散，4只出现在第11天、1只第12天、2只第13天、1只第14天。第一次高峰配子体数量最多可达90个/每100个白血细胞视野(100WBC)；而第二次峰最多只有47个/100WBC(表1)。

雌配子体出现时间早，且数量多。4只小鼠第5天出现，另4只第6天出现；配子体数量最多可达80个/100WBC。而雄配子体比雌性出现的晚且数量少，第5天只有1只出现，其余

表2 C₅₇BL6/Jax 鼠外周血中雌配子体数量/100WBC

小鼠编号	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	D ₉	D ₁₀	D ₁₁	D ₁₂	D ₁₃	C ₁₄
1	0	6	66	28	9	1	1	17	5	1	●
2	0	0	80	54	18	8	3	33	0	1	1
3	0	1	19	59	15	0	1	7	6	3	2
4	0	2	16	12	2	2	1	1	6	39	7
5	0	0	25	5	2	0	9	9	2	6	5
6	0	0	4	20	7	4	1	2	2	8	3
7	0	0	2	12	5	2	0	1	4	34	22
8	0	2	4	19	43	9	2	12	34	12	---
平均	0	1.38	27	26.13	12.63	3.25	2.25	10.25	7.38	13	6.43

表3 C₅₇BL/6Jax 鼠外周血中雄配子体数量/100WBC

小鼠编号	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	D ₉	D ₁₀	D ₁₁	D ₁₂	D ₁₃	D ₁₄
1	0	2	5	6	2	0	0	6	1	0	0
2	0	0	10	5	0	0	1	8	1	1	0
3	0	0	13	8	4	1	0	1	1	1	0
4	0	0	3	4	1	0	0	0	0	0	0
5	0	0	14	3	2	0	2	0	1	0	0
6	0	0	1	5	1	4	0	0	2	0	3
7	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	7
8	0	0	0	4	13	1	0	3	13	2	---
平均	0	0.25	5.75	4.5	3	0.75	0.375	2.25	2.375	0.625	1.43

第6或第7天方出现，配子体最多只有14个/100WBC(表2、3)。

雌、雄配子体比例，在第一次高峰期间平均为4.2—5.8:1；第二次高峰期间小者3.1:1、大者20.8:1(图2)。

讨 论

1. 采用叮咬方式，能比较满意地获得由约氏疟原虫孢子引起感染的“原代”鼠。先后共试验了8只小鼠，均于叮咬后第4天100%出现原虫血症。此法简单易行、省工省时，且因叮咬方式完全是自然状态下的模式，故孢子生物学活性丝毫不受破坏。人工腹腔接种本虫孢子孢子25000条/每鼠，出虫率为95.24%^[2]，如无需作严格地定量比较，只希望获得“原代”鼠或配子体血症鼠，采取本方法、每次叮咬2只C₅₇BL/6Jax 鼠有把握达到目的。

2. 鉴于叮咬后第6—7天约氏疟原虫配子体在C₅₇BL/6Jax 鼠外周血中达最高峰，且此时无性体寄生率也可达6%左右的消长特点，因此不管是血餐感染蚊媒还是输血传代，目的都是为了获得由配子体引起的最好的实验结果时，使用此“原代”鼠的时机以在叮咬后第6或第7天为宜。

3. 本叮咬方法与人工腹腔接种孢子方法(25000条/每鼠)比较^[2]，前者C₅₇BL/6Jax 虫现前期略短，出虫率、达高峰时间和峰值二者相近。与本虫株腹腔输血接种瑞士小白鼠(1×10⁷RBC/每鼠)比较^[1]，二者相同之处都是配子

体一经出现,就迅速地达最高峰,持续约两天左右逐渐下降;雌配子体比雄配子体出现的早且数量也较多;配子体最高峰先出现,无性体最高峰后出现,无性体寄生率高时配子体数量反而减少。不同的是叮咬引起的 C₅₇BL/6Jax 鼠感染,原虫血症第 4 天出现、14 天达高峰;配子体血症第 5 或第 6 天出现,第 6—7 天达最高峰。而腹腔输血感染瑞士小白鼠,原虫血症和配子体血症第 1 天即出现,第 3—4 天配子体达最高峰,第 5 天无性体达最高峰。高峰期间雌、雄之比(雌/雄),C₅₇BL/6Jax 为 4.2—5.8:1,瑞士小白鼠为 2—3:1,此外,在 C₅₇BL/6Jax 鼠中,配子体于最高峰之后 (D₆—D₇), 又出现一小高

峰(D₁₁—D₁₃)。研究工作者,可根据自己的需要选用不同的动物宿主和接种方法。

参 考 文 献

- [1] 王淑芬等 1984 约氏疟原虫配子体在小鼠外周血中自然消长观察 动物学杂志(6): 15—18。
- [2] 王淑芬等 1983 不同品系小鼠对约氏疟原虫——斯氏按蚊系统敏感性观察 动物学杂志(3): 4—7
- [3] Bafort, J., et al., 1965. Gametogenesis of plasmodium vinckei. *Nature* (London), **208** (5016): 1230—1231.
- [4] 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—299.