DOI:10.16016/j.1000-5404.1996.02.010

猴疟B株感染后猴抗体水平与虫血症对蚊媒感染情况的观察*

祁兆平 宋宗臣 况明书 韩万柏** (第三军医大学基础部寄生虫学教研室)重庆,630038

提 要 用食蟹猴疟原虫B株子孢子感染的3只恒河猴,虫现前期分别是8、10和11 d,虫血症高峰时间在14～25 d,3只猴均有两个以上高峰,原虫密度波动于0.03%～59.6%。初次抗疟原虫抗体反应於感染后13～17 d测得,抗体高峰在感染后16～20 d(1∶80～1∶320)。在虫血症显著期供46批大劣按蚊血餐,获得好的感染蚊(M>5)30批,平均为10批,好的感染蚊批的血餐时间分布在抗体滴度高峰期前为23.33%(7/30),高峰期为33.33%(10/30),高峰期后为43.33%(13/30)。抗疟原虫抗体在初次测得后,随着红内期原虫密度的增加,抗体滴度短时间内很快上升,达到高峰后持续一段时间再缓慢下降。同时观察到在原虫血症高峰前,常出现一次较好的感染蚊批;抗体滴度高峰之前期间获感染好的蚊批率最低46.67%(7/15),而高峰之后滴度仍维持较高时期获感染好的蚊批率最高100%(13/13)。

关键词 食蟹猴疟原虫B株;大劣按蚊;抗疟原虫抗体;虫血症
中图法分类号 R531.3;R382.31

食蟹猴疟原虫B株-按蚊-恒河猴猴疟模型是研究疟疾较理想的常用猴模,恒河猴经B株猴疟子孢子感染后,血中抗疟原虫抗体水平的变化及其与虫血症和感染按蚊情况的关系,国内报道不多。本文较系统地观察了3只感染猴的抗体水平与虫血症及按蚊血餐感染情况,旨在进一步探索三者之间的关系,为疟疾免疫情况及防治提供一些线索。

1 材料和方法

食蟹猴疟原虫B株(*Plasmodium cynomolgi bastianellii*):1984年由中山大学从英国引进,1987年引入本实验室。

大劣按蚊(*Anopheles dirus*)海南株:本室建立的自然交配繁殖种群,用3～5 d龄成蚊。

恒河猴(*Macaca mulatta*):1991年捕于四川涪陵地区,体重5.5～6.3 kg,编号为14、15、16。

猴和蚊虫的感染:用分离的B株猴疟子孢子(4.5×10^3～3.17×10^7个)静脉内接种2只猴和用腺阳性蚊(46只)叮咬接种1只猴(No16),接种后第7～30天每日(08∶30～11∶30)血检,血膜用姬姆萨氏染色,计数原虫密度(有虫rbc/10^3 rbc,为≥5×10^3 rbc视野的统计数)。制作血膜后立即用大劣按蚊吸血15～30 min,吸出饱血蚊在26±2℃常规饲养至第6～8天解剖检查,记录蚊胃上的卵囊数和计算蚊批的卵囊均数(M=卵囊数/检查蚊数)。用M作为判定血餐蚊批感染好坏的主要指标,M>10者为最佳感染蚊批,M=5～10者为较好感染蚊批,M<5者为不好的感染蚊批,前二者又称为好的感染蚊批。

羊抗人IgG荧光抗体:由军事医学科学院微生物流行病研究所供应,批号9406,工作浓度1∶8。

抗原片的制备,受检血标本的采集,间接荧光染色及镜检:按文献[1]操作。

2 结果

2.1 3只猴感染B株猴疟后抗疟原虫抗体水平、虫血症等一般情况(见表1和附图)

表1 子孢子感染猴原虫血症及抗体水平

Tab 1 Parasitemia and antibody level of sporozoite-induced monkey

Monkey No	Sex	Body weight (kg)	Parasitemia			Antibody	
			Patent period (d)	Peak period (d)	Density (‰)	Date of appearance (titer)	Date of peak(titer)
14	♀	6.3	8	14	17.0	13(1∶20)	16(1∶160)
				17	4.8		
15	♀	5.5	10	18	9.5	16(1∶20)	19(1∶80)
				25	10.7		
16	♂	5.6	11	18	34.3	17(1∶20)	20(1∶320)
				25	59.1		
				30	59.6		

* 国家自然科学基金资助项目,No.39170693
** 大连高等医学专科学校 大连,116013

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

上述结果显示血内显虫后5～6 d可测得抗体，原虫密度升至初峰顶后1～2 d抗体滴度达到高峰，保持2～5 d后回落，并在较高水平中维持一段时间。两只雌猴(No14和15)虫血症峰顶较低，虫血症显著期较短，抗体滴度高峰也比较低(1∶160和1∶80)，雄猴(No16)虫血症初峰顶和次峰顶的原虫密度均较高，虫血症显著期的时间较长，抗体高峰滴度也较高(1∶320)。

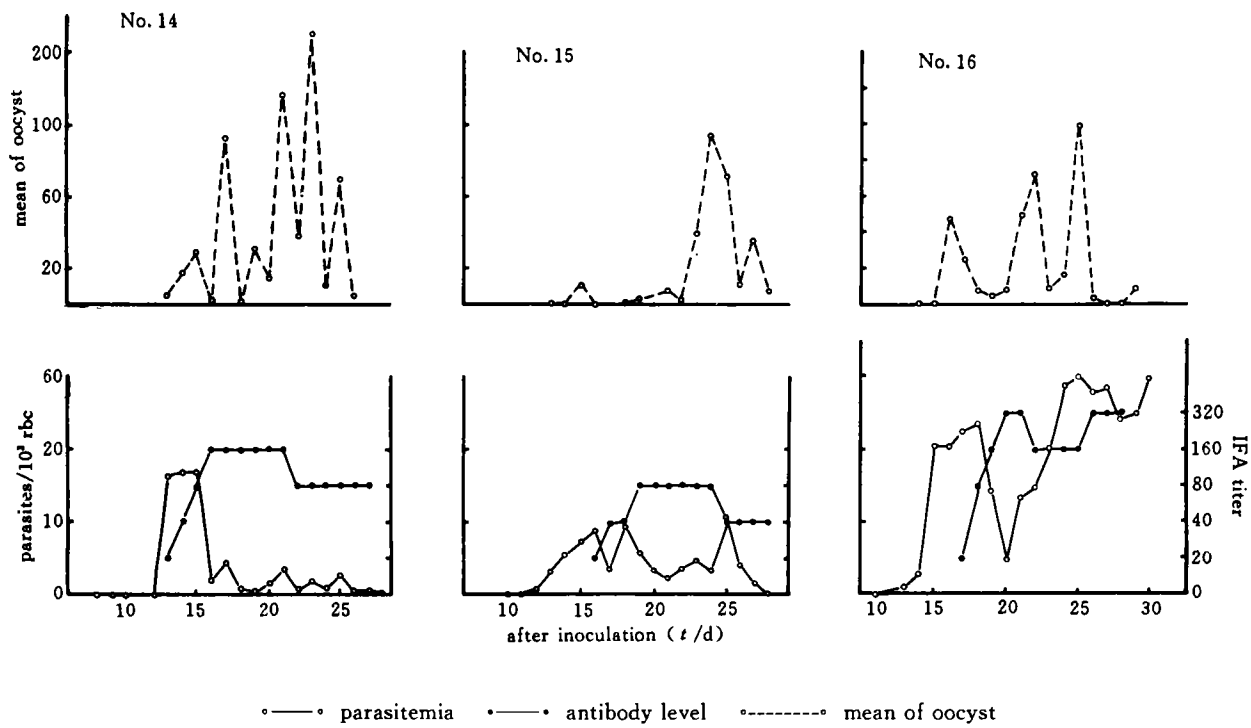
2.2 蚊媒感染情况(见表2和附图)

表2 蚊媒感染情况

Tab 2 Date of mosquito infection

Monkey No	Number of blood meal	Number of better lots	Infective rate(%) and M* at different antibody titer					
			Prepeak period		Peak period		Postpeak period	
			%	M	%	M	%	M
14	14	12	100(3/3)	18.6	66.7(4/6)	49.3	100(5/5)	71.2
15	16	8	16.7(1/6)	11.2	50(3/6)	24.2	100(4/4)	31.2
16	16	10	50(3/6)	19.8	50(3/6)	28.3	100(4/4)	49.6

M* = No of oocyst/No of mosquitoes dissected



附图 子孢子感染后猴抗体水平、虫血症和蚊媒感染情况

Fig The antibody level, parasitemia and infectivity to mosquito of sporozoite-induced monkey

好的感染蚊批(M≥5，胃感染率≥75%)的血餐时间分布在虫血症的初峰期为26.7%(8/30)，次1峰期为60.0%(18/30)，次2峰期为13.3%(4/30)。在虫血症高峰前常出现1～3 d较好的感染时间。3只恒河猴在抗体滴度高峰前期感染好的蚊批率为46.7%(7/15)，M最高者48.1；高峰期好批率为55.6%(10/18)，M最高者为141.3；高峰期后好批率为100%(13/13)，M最高者为228.2。

3 讨论

本文观察的B株猴疟感染3只恒河猴初发期抗体动态变化与Collins[2]和Naotunne[3]报告的结果基本相同：抗体在初次测得后，随着红内期原虫密度的增加，在短期内很快上升，达到高峰持续一段时间再缓慢下降。同时观察到抗体滴度高峰水平似乎与虫血症初峰顶的密度有关(表1)，抗体滴度高低的变化与原虫密度变化不完全同步(见附图)。Akenji[4]等在喀麦隆检测恶性疟感染者，发现抗体滴度高者原虫血症低或血中未见原虫。Graczyk[5]等也观察到鸟类疟原虫(*P. relictum* 和 *P. elongatum*)感染中虫血症与抗体滴度

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

或最大抗体反应时间无相关性。上述资料说明其它种疟原虫也有抗体滴度与虫血症不一致现象。

在首次原虫血症高峰前，抗体滴度较低时，3只猴都出现了一次较好的感染蚊批，与Naotunne观察结果相同；但在抗体滴度高峰和高峰后的观察一段时期，也出现了较多感染好的蚊批，此点与Naotunne的结果不同，这可能和配子体密度有关，在抗体滴度高峰及较高期间配子体密度略有升高，似乎配子体的形成与抗体水平适当有些关系。此外，我们是用多克隆抗体（含抗配子体和抗无性期）测定，选用B株猴疟-大劣按蚊-恒河猴为试验模型，Naotunne采用锡兰株猴疟-嵌斑按蚊-食蟹猴为模型，是否因为两试验选用的疟原虫虫株、蚊媒及宿主种类不同，试验方法也不完全相同等因素而出现以上差异。总之，血清抗疟原虫抗体水平高低影响配子体的易感性，既可增强也可抑制其感染性，影响因素较多。本文通过对3只感染猴抗体水平，虫血症及按蚊血餐感染情况较系统地观察，为B株猴疟-大劣按蚊-恒河猴猴疟模型及疟疾免疫防治的研究提供一些资料。

参考文献

1 卫生部地方病防治局. 疟疾防治手册. 北京：人民卫生出版社，1988：187～189

2 Colling WE, Skinner JC, Contacos PG *et al*. Fluorescent-antibody studies on simian malaria Ⅰ. Development of antibodies to Plasmodiun cynomolgi. Am J Trop Med Hyg, 1967;16(3):267

3 Naotunne TDS, Rathnayake KDL, Jayasinghe A *et al*. Plasmodium cynomolgi: Serum-mediated blocking and enhancement of infectivity to mosquitoes during infection in the natural host, Macaca sinica. Exp Parasit, 1990;71:305

4 Akenji TN, Deas J. Definition of populations at risk for Plasmodium falciparum infection in three endemic areas of Camerroon. J Parasit, 1994 Dec;80(6):895

5 Graczyk TK, Cranfield MR, McCutchan TF *et al*. Characteristics of naturally acquired avian malaria infections in native juvenile African black-footed penguins (Spheniscus demersus). Parasit Res, 1994;80(8):634

（收稿：1995-09-11；修回：1996-01-18）

（编辑　刘　鹏）

Effects of antibody level and parasitemia of sporozoite-induced infection of Plasmodium cynomolgi strain B on gametocyte infectivity to mosquitoes

Qi Zhaoping, Song Zongchen, Kuang Mingshu, Han Wanbai (Department of Parasitology, Third Military Medical University. Chongqing, 630038)

Abstract The prepatent period of parasitemia was 8, 10 and 11 days in 3 monkeys infected with *Plasmodium cynomolgi* strain B respectively. Peak parasitemia occurred between 14～25 days. Two and more peaks of parasitemia were observed in all the 3 monkeys. The density of malaria parasites fluctuated between 0.03% and 59.6%. Initial antibody response was observed on the 13 th to 17 th day and the peaks of antibody titers occurred on the 16 th to 20 th day after infection (1∶8～320). Among the 46 lots of *Anopheles dirus* fed on the 3 monkeys in the period of peak parasitemia, 30 lots were found to have a better infectivity (M>5) with an average of 10 lots per monkey. 23.33% (7/30) of the mosquito lots with better infectivity occurred in the prepeak period of antibody titer, 33.33% (10/30) in the peak period and 43.33% (13/30) in the postpeak period. The antibody titer increased with the increase of parasitemia and it quickly reached the peak, kept on for a short while and declined gradually. Before the occurrence of peak parasitemia, more better infective mosquito lots were found. A least number of better infective lots were found before peak antibody level and a largest number of better infective lots after the peak antibody level.

Key words *Plasmodium cynomolgi* strain B; *Anopheles dirus*; antibody; parasitemia; monkey

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net