DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.02.008

营养对约氏疟原虫在斯氏按蚊体内孢子增殖的影响

任慧娴 王兴相 邓宝忠

（寄生虫学教研室）

提 要

斯氏按蚊感染约氏疟原虫后，饲以10%的蔗糖水加入适量之对氨苯甲酸（PABA）并增加一次血餐，可促进疟原虫在蚊体内之发育。表现为：卵囊数较单饲以10%蔗糖水的对照组高出近一倍，卵囊发育较快，在第七天测量卵囊平均直径大于对照组。在24℃左右子孢子于第八天开始进腺，较对照组提早一天。腺感染率在第14天实验组达82%，对照组则为63.5%。

约氏疟原虫——斯氏按蚊系统是疟疾实验研究中常用的动物实验模型。在适宜条件下该种疟原虫在斯氏按蚊体内能得到良好的发育。一般胃感染率在80%～95%左右，但腺感染率则较低，在30%～50%左右[1][2][3]。我们在斯氏按蚊感染约氏疟原虫试验中，也常见到胃卵囊感染率高、感染度重，而得不到相应高度的腺感染率。Peters[4]报导感染约氏疟原虫的斯氏按蚊，如饲以含对氨苯甲酸（PABA）的糖水，胃卵囊数明显较对照组高，但未涉及对腺感染率的影响。这种高胃感染率和不相适应的低腺感染率的现象，是否由于原虫发育过程中某种营养物质不足引起的，值得进一步探讨。本文目的就是观察营养条件（加喂一次血及饲以含PABA糖水），对约氏疟原虫在斯氏按蚊体内发育的影响。

材料与方法

疟原虫 约氏疟原虫(Plasmodium yoelii yoelii BY265) 于1982年2月自军事医学科学院五所引进，每血传五代经斯氏按蚊传一代。保存于小白鼠（昆明株）体内。

小白鼠 昆明株，体重18～22g，由我校动物所供应。

斯氏按蚊Hor株 1983年自军事医学科学院五所引进，在26±1℃ R.H.80%～90%下饲养繁殖。实验感染过程及吸血感染后饲养在24±1℃的恒温室内。

斯氏按蚊的感染及观察方法 每只小白鼠经腹腔接种红内期约氏疟原虫200万个，接种后第3～4天，原虫率在3～5%左右作供血鼠，用羽化后3～5天的斯氏按蚊吸血感染。蚊虫羽化后饲以10%蔗糖水，吸血感染前12～24小时停糖水。每次实验用蚊4笼（每笼蚊约300～400只）。每笼蚊用三只感染鼠供血，让蚊饱吸血液。为消除每笼蚊的不同供血鼠的差别，分别从4笼中，依次用指头管扣出饱血蚊，轮流放入实验笼与对照笼内，每次扣5～10只蚊为一轮，直至扣足所需数量为止。饱血蚊进入实验笼后，则饲以含0.05%PABA之10%蔗糖水，并在饲血后48小时放入产卵纸。产卵后饲一次兔血，

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

再把饱血蚊扣入另一笼内，作为实验笼。对照笼一直饲以10%蔗糖水，同实验笼同时放入产卵纸产卵，但不再喂血。实验笼与对照笼均于感染后第七天解剖蚊胃，计算感染率、卵囊数、测量卵囊大小范围，每组并抽测4个阳性胃计算全部卵囊直径平均大小，计算含成熟卵囊的蚊虫的百分数。于感染后第七、八、九天解剖胃、腺，了解最早进腺时间及腺感染的进展情况。于第14天解剖腺，确定腺感染率。凡高倍镜下见涎腺子孢子在一视野下超过100个及至密集不可数者定为重度感染。

表1 感染第七天蚊胃卵囊发育情况

组别	实验次别	温度℃	阳性率（阳性数/解剖数）	平均卵囊数	卵囊直径范围(μm)	测量卵囊数	卵囊直径平均(μm)	含成熟卵囊蚊 %
实验组	①	18—24	90（18/20）	197.8	22.8—67.5	—	—	25（5/20）
	②	23—24.5	95（19/20）	542.6	15.2—64.6	250	45.2±14.4	85(17/20）
	③	23—25	100（20/20）	526.4	15.8—60.8	144	35.9± 7.4	65(13/20）
	④	21—23	100（20/20）	353.1	15.4—51.8	275	34.5± 6.7	0(0/20）
	小计		96.3（77/80）	404.9	15.2—67.5			43.8(35/80）
对照组	①	18—24	95（19/20）	134.1	15.8—60.8	—	—	0（0/20）
	②	23—24.5	100（20/20）	226.2	15.2—64.6	184	35.3±7.6	10(2/20）
	③	23—25	100（20/20）	377.3	15.8—56.3	243	32.1±7.7	40(8/20）
	④	21—23	100（20/20）	173.5	11.3—46.2	135	29.4±6.0	0（0/20）
	小计		98.8（79/80）	227.7	11.3—64.6			12.5(10/80）

表2 感染后不同时间蚊涎腺解剖结果

组别	实验次别	温度℃	各日腺阳性率（阳性数/解剖数）				第14天重度腺感染率**
			7	8	9	14*	
实验组	①	18—24	—	—	40（8/20）	80（40/50）	58（29/50）
	②	23—24.5	0（0/20）	60（12/20）	80（16/20）	90（45/50）	80（40/50）
	③	23—25	0（0/20）	30（6/20）	60（12/20）	84（42/50）	70（35/50）
	④	21—23	0（0/20）	0（0/20）	35（7/20）	74（37/50）	42（21/50）
	小计		0（0/60）	30（18/60）	53.8（43/80）	82(164/200)	62.5(125/200
对照组	①	18—24			10（2/20）	56（28/50）	42（21/50）
	②	23—24.5	0（0/20）	0（0/20）	15（3/20）	84（42/50）	60（30/50）
	③	23—25	0（0/20）	0（0/20）	15（3/20）	60（30/50）	22（11/50）
	④	21—23	0（0/20）	0（0/20）	5（1/20）	54（27/50）	20（10/50）
	小计		0（0/60）	0（0/60）	11.3（9/80）	63.5(127/200)	36(72/200）

注：* 实验组与相应对照组比较四次实验$\Sigma X^2 = 18.87$ $P<0.01$

**实验组与相应对照组比较四次实验$\Sigma X^2 = 36.4$ $P<0.01$

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

结果与分析

1．胃感染 四次实验结果基本一致。四次实验平均数，在感染后第七天实验组与对照组卵囊阳性率分别为96.3%、98.8%，感染率都很高，二者无差别，说明所取血源对蚊的感染性并无差别；但从平均卵囊数及卵囊直径大小来看，两组有明显差别，两组卵囊数分别为404.9、227.7，实验组高于对照组近一倍。三次实验计算，两组卵囊平均直径分别为 45.2±14.4μm、35.3±7.6μm；35.9 ± 7.4μm、32.1 ± 7.7μm；34.5 ± 6.7μm、29.4±6.0μm。实验组均大于对照组。从第七天卵囊发育进度看，含成熟卵囊（即卵囊内出现子孢子者）之蚊之百分率，在实验组与对照组分别为43.8%、12.5%，可见实验组疟原虫发育较快于对照组。

2．腺感染

（1）最早进腺时间：从表2中可见，两组在感染后第七天，无一腺感染阳性，但在第八天实验组中，子孢子已有进腺，进腺率平均为30%，而对照组在第九天才开始进腺，这时实验组进腺率已高达53.8%，而对照组进腺率仅为11.3%。故最早进腺时间实验组较对照组早一天，即在感染后第八天。

（2）腺感染率：以感染后第14天的感染率计算，实验组平均腺感染率为82%，对照组则为63.5%。其各次实验结果为：实验组与对照组进腺率分别为80%、56%；90%、84%；84%、60%；74%、54%。四次实验结果实验组均高于对照组，其结果趋势一致（$\sum X^2 = 18.87$）$P<0.01$ 相差非常显著。以重度感染者计算，实验组与对照组的腺感染率分别为62.5%、36%。各次实验组与对照组的重度腺感染率分别为58%、42%；80%、60%；70%、22%；42%、20%。实验组均高于对照组，趋势一致（$\sum X^2 = 36.4$）$P<0.01$ 相差非常显著。

陈佩蕙等[3]报导约氏疟原虫在斯氏按蚊体内发育，在适宜条件下，子孢子最早进腺时间为感染后第九天和第十天。本试验的实验组，由于补充了营养物质，最早进腺时间为第八天，提早了一天；而对照组按常规饲养，第九天为最早进腺时间，与陈佩蕙氏报导的一致，而比实验组迟1天进腺。

关于腺感染率，陈佩蕙氏的报导，在第12天进腺数超过半数，累积子孢子进腺率为52.17%。本实验实验组在第14天进腺率为82%，较之为高，而对照组为63.5%与之近似。

本实验结果说明，在蚊媒感染后的常规饲养中，特别在感染严重时，如果只饲以糖水，很可能造成营养不足，不能满足疟原虫发育的需要，从而造成原虫发育迟缓及腺感染率较低，糖水中加入适量的PABA，以及补充血食一次，则可弥补营养物质的不足，进而促进疟原虫的发育，提高子孢子的进腺率。

关于营养对疟原虫发育的影响，早即有人注意，如Wery（1968）[1]就在斯氏按蚊感染疟原虫后，每周增加二次血食，虽然其实验结果认为增加血食与单用糖水为食，对卵囊发育及子孢子进腺率并无区别，然而国内外不少学者在用蚊媒感染疟原虫时，还常常增加一次血餐，结果已如上述，进腺率仍偏低，与其胃感染率比较，未达到相应高度。本实验除了增加一次血餐外，并在糖水中，加入疟原虫发育中，合成DNA所必需之PABA，而得到相应较高的腺感染率，可以看出，本实验所加之PABA对疟原虫的发育，是起了较重要作用的。

本实验过程中温度经常保持24± 1 ℃，波动范围在18～25℃，在这温度范围内约氏疟原虫在蚊体内能正常进行孢子增殖。四次实验中，无论在最适宜的温度条件下，或偏低的温度条件，实验结果都表现出附加的营养对孢子增殖的促进作用。

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

参 考 文 献

1. Wery M, et al: Studies on the Sporogony of Rodent Malaria Parasites. Ann Soc Belge Med Trop 1968; 48:1—57

2. 陈 林等：疟疾防治药物的研究：Ⅰ疟疾病因性预防药物筛选试验动物型模：1. 约氏鼠疟原虫—斯氏按蚊系统。药学学报 1981; 16(4):260

3. 陈佩忠等：约氏疟原虫约氏亚种在斯氏按蚊体内发育及三种按蚊敏感性的观察。畜牧兽医学报 1983; 14(3): 146—154

4. Peters W, et al: The Chemotherapy of Rodent Malaria. XXXII. The Influence of p-aminobenzoic acid on the Transmission of P. yoelii and P. berghei by A. stephensi. Ann Trop Med Parasit 1980; 74(3):275

Effect of Nutrition on Sporogony of Plasmodium yoelii yoelii in Anopheles stephensi

Ren Huixian, Wang Xingxiang, Deng Baozhong

(Department of Parasitology, Third Military Medical College)

After an infective blood-meal, the mosquitoes were divided into two groups: the test group was fed on 10% sucrose solution containing 0.5% PABA throughout the course of the experiment and an extra non-infective blood-meal was given on the 3rd or 4th day after infection, while the control group was fed on 10% sucrose solution only.

The mean number of oocysts per mosquito of the test group was nearly as twice as that of the control group. The average diameter of the oocysts in the test group was also larger than that in the control group.

Sporozoites could be found in the salivary glands on the 8th day in the test group but on the 9th day in the control group, that is, one day earlier in the test group. On the 14th day, the infective rate of the salivary glands was 82% in the test group but only 63.5% in the control group.

These findings suggest that the sporogony of P. yoelii yoelii in A. stephensi can be promoted provided that additional nutrition including PABA and non-infective blood-meal is furnished.

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