DOI:10.16016/j.1000-5404.1982.03.001

硝喹治疗食蟹猴疟前后猴抗体水平

寄生虫学教研室 赖福春 冯崇英 董丽娟 纪 英

摘 要

用间接荧光抗体技术系统地观察了五只恒河猴感染食蟹猴疟原虫并经硝喹或氯喹治疗后抗疟虫原抗体的动态变化。另外一只未经治疗的带虫猴作为对照。4只恒河猴接种子孢子，虫血症前期都是8天，在虫血症的第五天开始治疗：2只用复方硝喹，2只用氯喹基质。另一只恒河猴（4号）为再次感染，血传接种，虫血症前期2天，在感染后25天用复方硝喹治疗。各猴在开始服药后48～144小时内原虫消失。4只接种子孢子的恒河猴的初次抗体反应，在虫血症的第3—11（平均9）天测到；血传感染的4号猴在虫血症的第7天测到。5只恒河猴首次抗体高峰在感染后19—33（平均24）天测到。子孢子接种各猴的最高抗体水平分别为1:40和1:160。血传接种且虫血症期较长（27天）的4号猴，其最高抗体水平为1:640。经硝喹或氯喹治疗后，各猴上升后的抗体分别在感染后26—63（平均36）天开始下降。经硝喹治疗、无原虫复燃的两只恒河猴，抗体分别在感染后310天及373天转阴；经硝喹治疗而有原虫复燃的一只恒河猴，复燃后抗体水平从已下降到1:20上升到1:80，此水平比首次高峰高一个倍比稀释度，并至观察期末（464天），抗体仍维持在阳性低水平。

恒河猴感染食蟹猴疟原虫后，其抗疟原虫抗体水平可用间接荧光抗体技术测出，经抗疟药氯喹治疗终止感染后，抗体下降较快[1]。新抗疟药硝喹对恒河猴感染食蟹猴疟原虫后抗体反应的影响，国内外尚无报导。本文研究的目的在于运用间接荧光抗体技术观察恒河猴感染食蟹猴疟原虫并经硝喹治疗过程抗体（IgG）的变化，为疟疾血清流行病学调查及硝喹的实验研究积累有关资料。

材料与方法

实验用猴：购自贵州、云南、广西等省野生的恒河猴共6只，其中一只（4号猴）为再次感染（上次感染系接种食蟹猴疟原虫子孢子，经复方硝喹根治，原虫转阴后未再现），本次感染始于上次原虫消失376天后，当时荧光抗体效价小于1:10，接种含食蟹猴疟原虫（原虫率为0.6%）的同种猴血1毫升。另外4只恒河猴（26号，107号，204号及500号）各于腹腔内接种食蟹猴疟原虫子孢子400万，都是初次感染。501号猴血传接种食蟹猴疟原虫后未经治疗，虫血症长期存在，本次观察在其感染后1140～1544天间。

食蟹猴疟原虫：1972年自上海生物制品研究所移种而来，在我校“523”组保种。据张家埙等鉴定为食蟹猴疟原虫，株未定[2]。子孢子的准备及接种猴的方法同前[3]。

治疗：接种子孢子的4只恒河猴于虫血症的第五天（感染后13天）开始治疗。26号及204号猴各用复方硝喹（硝喹及氨苯砜各半）根治，其中硝喹剂量为每公斤体重2.5毫克，连服8天；107号及500号猴各用氯喹基质每公斤体重20毫克，连服3天，作为对照。血传感染的4号猴于感染后25天用复方硝喹每公斤体重硝喹1毫克治疗一天，原虫于96小时内消失，又

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

于感染后32天再用复方硝喹根治，剂量同26号及204号猴者。各猴如有原虫复燃，仍分别用原法治疗。

抗原：由四川省寄生虫病防治研究所供应的食蟹猴疟原虫抗原片（80—6—9）。密闭于装有变色硅胶的塑料袋内，放普通冰箱的冷冻室内保存备用。

兔抗猴IgG免疫血清及异硫氰酸荧光黄标记的荧光抗体制备按我校《细菌武器的医学防护》编写组介绍的方法[4]进行。已标记的兔抗猴IgG荧光抗体经测定其效价后保存于普通冰箱内备用。工作浓度1：8。

试验及对照血标本的采取用滤纸干血滴法[5]。试验猴于感染前各取血样一次；感染后的前四周每周采血一次；四周后则每月采血一次（观察期共464天）。长期带虫猴（501号）在观察期每月采滤纸血一次，并不定期涂制厚血膜供疟原虫镜检用。另选荧光强度为强阳性(卅或卅)的带虫猴血为阳性对照血；未经感染的恒河猴血为阴性对照血。阴性、阳性对照猴血样不定期采取。带血滤纸条吹干后密闭于装有变色硅胶的塑料袋内，保存于普通冰箱内备用。在采取试验猴血（4号，26号，204号，107号及500号）血滴的同时涂制厚、薄血膜供镜检疟原虫用，在治疗期间，每天血检疟原虫，直到原虫转阴为止。原虫转阴后每周血检一次，持续半年原虫阴性后则每月血检一次。

间接荧光抗体染色及镜检：抗原片于加样前先经蒸馏水浸泡10分钟以脱去血红蛋白，再经磷酸盐缓冲生理盐水（PBS,pH7.4）浸泡10分钟，中间换液一次。每张抗原片都设置试验点，阴性、阳性及PBS空白对照点。抗原抗体反应时的温度为20～30℃。荧光显微镜为东德Zeiss产品。观察时用落射光。荧光强度分级参照吴开琛等介绍的标准[5]。本试验阴性对照血1：10稀释度的荧光强度可达十。待测血滴浸出液从1：10开始各稀释度的荧光强度≥++者为阳性滴度。

结　　果

各恒河猴感染食蟹猴疟原虫并分别经复方硝喹或氯喹治疗后，其抗疟原虫抗体水平见表1及图1—3；带虫猴（501号）的虫血症存在情况及抗体水平见表2及图4。

表1　　恒河猴感染食蟹猴疟原虫并经治疗后的抗体（IgG）水平

猴号	感染方式	虫血症前期（天数）	虫血症持续期（天数）	开始治疗在感染后的天数	治疗用药	开始用药至原虫消失的时间（小时）	在感染后的天数（当时抗体效价）			
							抗体开始	抗体高峰	抗体开始下降	抗体转阴
4	血传*	2	27	25	复方硝喹	96	9(1:160)	24(1:640)	30(1:160)	310
26	子孢子	8	10	13	复方硝喹	144	19(1:20)	33(1:160)	63(1:10)	373
204	子孢子	8	9**	13	复方硝喹	120	11(1:40)	26(1:40)	33(1:20)	>464
107	子孢子	8	7**	13	氯喹基质	72	19(1:40)	19(1:40)	26(1:20)	>464
500	子孢子	8	6**	13	氯喹基质	48	19(1:160)	19(1:160)	26(1:20)	189

* 为再次感染，始于上次虫血症消失376天后

** 首次虫血症期

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

表2　恒河猴血传感染食蟹猴疟原虫未经治疗虫血症持续情况与抗体水平

感染后天数	疟原虫数（周围血厚血膜）	抗体水平
1140	20T*/200wbc	1:40
1173	4T/200wbc	1:80
1226	3T/200wbc	—
1236	——	1:40
1264	——	1:80
1289	8T/200wbc	—
1296	——	1:80
1326	——	1:160
1355	——	1:20
1365	阴性	—
1376	全厚片2个	—
1387	——	1:20
1420	全厚片1个	1:80
1434	9T/200wbc	—
1446	——	1:20
1483	——	1:20
1511	——	1:20
1520	全厚片1个	—
1544	全厚片1个	1:20

* 疟原虫滋养体

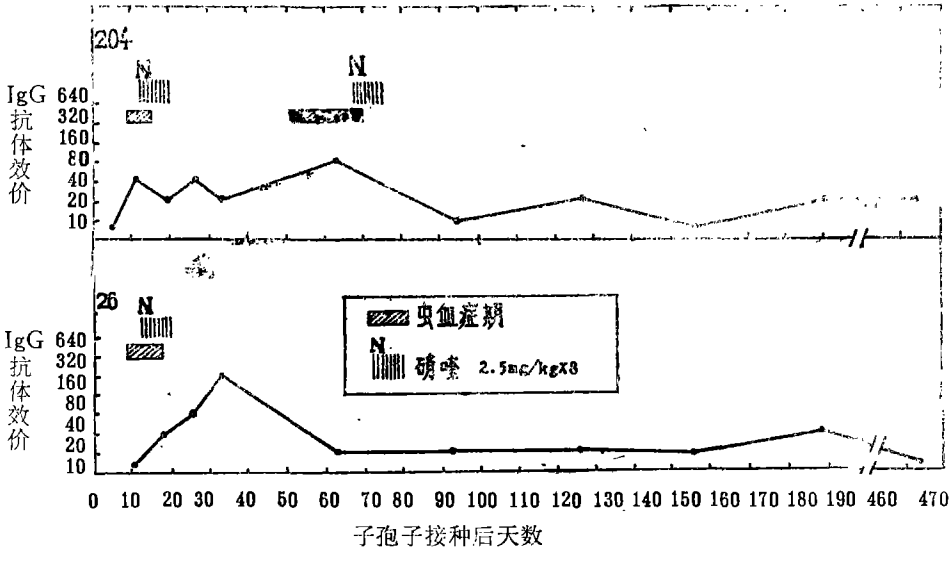


图1　恒河猴接种食蟹猴疟原虫子孢子并经硝喹治疗过程虫血症与抗体水平变化的关系

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

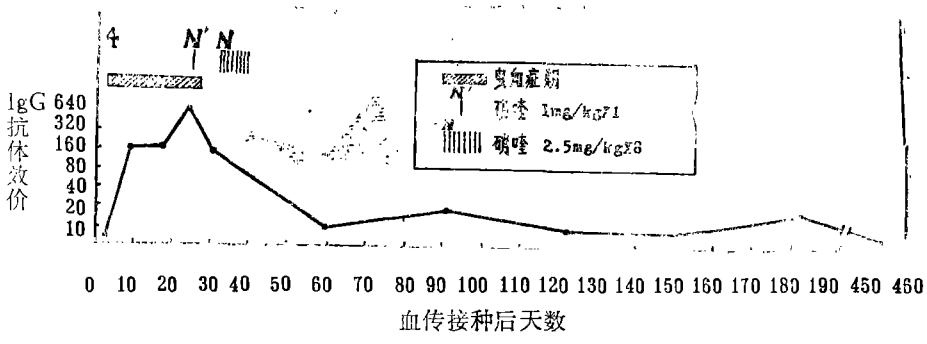


图 2　恒河猴血传接种食蟹猴疟原虫并经硝喹治疗过程虫血症与抗体水平变化的关系

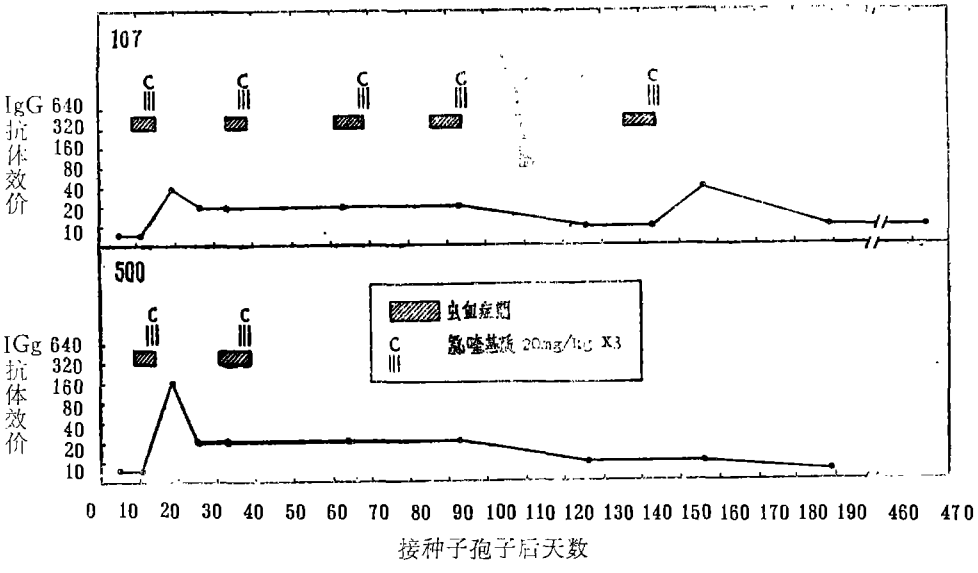


图 3　恒河猴接种食蟹猴疟原虫子孢子并经氯喹治疗过程虫血症与抗体水平变化的关系

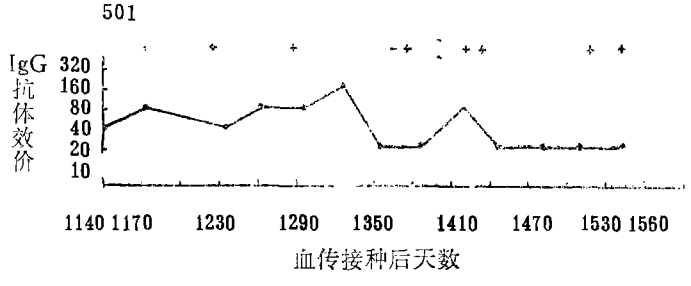


图 4　恒河猴血传接种食蟹猴疟原虫1140—1544天间的虫血症及抗体水平（+代表虫血症阳性；－代表虫血症阴性）

4 号猴：血传接种 2 天后就有可检出的虫血症。可检出的虫血症持续27天。抗疟原虫抗体反应于血传接种后 9 天测出。第24天测到最高抗体水平为 1 ：640。荧光抗体于感染后310天转阴。

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

子孢子接种的4只恒河猴，虫血症前期都是8天。

26号猴：虫血症持续10天。初次抗体反应于感染后19天测出。感染后33天测到其抗体高峰为1∶160。抗体在感染后373天转阴。

204号猴：首次虫血症期9天。原虫消失35天后血内原虫复燃持续20天，于复燃的虫血症的第18天再次用复方硝喹治疗。原虫未再现。初次抗体反应于首次虫血症的第3天开始测出，首次高峰在感染后26天测出（1∶40）；原虫复燃12天后，也就是感染后63天测到第二次高峰（1∶80），此复燃后的高峰比首次高峰高一个倍比稀释度。抗体于观察期末(464天)仍维持在阳性低水平（1∶20）。

107号猴：首次虫血症期7天，以后4次原虫复燃，每次原虫血症期分别为7—9天，各在虫血症的第5—8天再度用氯喹治疗。初次抗体反应在感染后19天测出，也即抗体高峰（1∶40），此后抗体下降，波动于1∶10～1∶20间。最后一次原虫血症消失11天后，抗体又从1∶10回升到1∶40，此后即下降，于观察期末(464天)仍维持在阳性低水平(1∶10)。

500号猴：首次原虫血症期6天。感染后31天原虫复燃，虫血症持续9天，于复燃的虫血症的第7天再用氯喹治疗。初次抗体反应于接种后19天测出，也即抗体高峰（1∶160），一周后即下降，此后抗体水平波动于1∶10～1∶20间，于感染后189天抗体转阴。

501号猴：抗疟原虫抗体的观察在感染后1140～1544天间进行。这期间抗体水平在1∶20～1∶160间，原虫血症情况，10次有记录的结果，除一次阴性外，其余都是阳性（图4，表2）。

讨　论

硝喹治疗对恒河猴感染食蟹猴疟原虫后抗体高峰的影响：接种子孢子的4只恒河猴，初次抗体反应测得时间在虫血症的第3—11（平均9）天，首次抗体高峰在感染后19—33（平均24）天测得，各猴高峰抗体水平分别为1∶160，1∶40，1∶160（表1），硝喹治疗的与氯喹治疗的相同。Collins等观察了接种食蟹猴疟原虫子孢子而未经治疗的3只恒河猴的抗体反应，首次抗体高峰在感染后21—25天测得。最高抗体水平分别为1∶640，1∶160，1∶160[1]。本组接种子孢子的4只恒河猴，都在虫血症的第五天开始治疗，疟原虫于开始服药后48—144小时内消失。治疗对首次抗体高峰出现的时间似无多大影响，虽然抗体水平似较Collins等所观察的未经治疗的恒河猴为低，这可能与因治疗而中断虫血症有关，同时也可能与血标本采取的方法不同有关，Collins等用血清而我们用滤纸血滴浸出液，浸出液内含血红蛋白，后者能减弱荧光[6]。

血传接种同时又是再次感染的4号猴，初次抗体反应在虫血症的第7天测得，虫血症持续23天才开始用硝喹治疗，其抗体高峰在感染后24天测得，最高抗体水平（1∶640）也较其他各猴为高。再次感染抗体反应出现较快，水平也较高[7]。

硝喹治疗对抗体持续及转阴时间的影响：感染食蟹猴疟原虫而未经治疗的恒河猴，虫血症可较长时间存在，抗体虽不持续上升，但较高的抗体水平可存在较久，如501号猴，虫血症存在1544天以上，在感染后1140～1544天间观察，抗体水平波动于1∶20～1∶160。经硝喹治疗的恒河猴，随着虫血症期的长短以及有无原虫复燃不同而抗体持续时间长短也不同：虫血症期达27天的4号猴，较高的抗体水平（1∶160～1∶640）持续达22天，再经30天从

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

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