

影响马来丝虫对长爪沙鼠感染率因素的观察*

徐大刚¹ 万启惠² 李杰³ 聂文清³

1 上海第二医科大学寄生虫学教研室 上海 200025

2 遵义医学院寄生虫学教研室 遵义 563003

3 大连医科大学寄生虫学教研室 大连 116023

摘要 目的: 探讨影响马来丝虫对长爪沙鼠感染率的因素。方法: 用含马来丝虫感染期幼虫(L_3)生理盐水感染长爪沙鼠, 并分别加用抗生素、葡萄糖或培养液RPMI 1640, 观察接种鼠的存活率、感染率和感染度。结果: 用含 L_3 生理盐水组鼠存活率为80.9%, 存活鼠感染率为60.5%, 高感染度率为43.4%。加用抗生素组, 鼠存活率为98.8%, 存活鼠感染率为52.9%, 高感染度率为30.6%。加用葡萄糖或RPMI 1640组, 鼠存活率(分别为98.0%和91.2%)、感染率(分别为68.8%和67.7%)和高感染度率(分别为50.0%和51.6%)均较高。长爪沙鼠感染马来丝虫浙江株(6代), 存活鼠感染率和高感染度率均较贵州株(31代)高。结论: 加用抗生素能提高感染鼠存活率, 但其感染率和感染度降低。加用葡萄糖和RPMI 1640, 能提高感染鼠存活率、感染率和感染度。长爪沙鼠对浙江株(6代)较贵州株(31代)易感。

关键词 马来丝虫 长爪沙鼠 感染率 感染度

近年来, 关于蚊虫对马来丝虫易感性的研究有些报道^[1-3], 但马来丝虫对长爪沙鼠感染率和感染度方面研究较少。国内曾报道马来丝虫感染长爪沙鼠的最适 L_3 接种量^[3]。本文从获取马来丝虫虫源的角度考虑, 就影响马来丝虫感染长爪沙鼠的感染率和感染度方面的因素进行了探讨。

材料与方法

虫源 从已感染周期型马来丝虫阳性的长爪沙鼠腹腔内获取微丝蚴感染中华按蚊, 感染后4 d 喂兔血1次, 第9 d, 用贝氏分离法获取 L_3 , 分离液为500 ml 生理盐水加青霉素80万单位、链霉素100万单位。

感染方法 将获取的 L_3 由腹腔接种2-3月龄健康幼鼠, 每鼠约200条。

1 生理盐水组 由贝氏分离获取的 L_3 感染沙鼠后, 不再作其它处理。

2 加用抗生素组 感染后第1 d, 每鼠腹腔加注双抗各2 000单位/d, 连续3 d。

3 添加葡萄糖组 感染后第1 d, 每鼠腹腔加注葡萄糖200 mg/d, 隔天1次, 连续2 wk。

4 添加 RPMI 1640培养液组 感染后第1

d, 每鼠腹腔注入RPMI 1640培养液1 ml, 隔天1次, 连续2 wk。

计算方法

1 鼠存活率 指接种 L_3 后存活一个月以上鼠数/接种鼠数 × 100%。

2 存活鼠感染率 阳性鼠数/存活鼠数 × 100%

3 高感染度率

高感染度率= 高感染度鼠数/存活鼠数 × 100%

高感染度鼠是指感染后3个月每鼠腹腔注射4 ml 生理盐水, 抽出腹腔洗出液含微丝蚴约400条/ μ l。

结 果

对四种不同方法处理后长爪沙鼠的感染率和感染度的合计数(表1)作了比较。组间的存活率经 χ^2 检验, 有显著性差异($P < 0.05$), 加用抗生素和添加葡萄糖后, 接种鼠的存活率分别为98.8%和98.0%, 明显高于单用生理盐水组的80.9%。

存活鼠感染率经 χ^2 检验, 无显著性差异

* 国家自然科学基金资助项目(No. 39160073)
本研究在遵义医学院完成

($P > 0.05$), 但各组不同感染批次存活鼠感染率仍存在差异。高感染度率经 χ^2 检验, 组间有高度显著性差异 ($\chi^2 = 17.52$, $P < 0.01$), 添加葡萄糖和 RPM I 1640 培养液后, 高感染度率均较高(表1)。加用抗生素后, 存活鼠的感染率和高感染度率均较其他各组为低。

长爪沙鼠感染周期型马来丝虫贵州株(31代)和浙江株(6代), 存活率经 χ^2 检验无显著性差异, 但存活鼠感染率浙江株在 54.5% - 83.3%, 而贵州株只有 35.7% - 58.3%。高感染度率浙江株在 45.5% - 83.5%, 贵州株在 21.4% - 58.3%, 无显著性差异(表2)。

表 1 长爪沙鼠感染马来丝虫 L₃后的感染率和感染度

Table 1 The positive rate and infection intensity of *M. unguiculatus* infected with *B. malayi* L₃

| 感染批次 Infection batch | 接种鼠数 No. of jird inoculated | 存活率 Living rate (%) | 存活鼠感染率 Infection rate of living jird (%) | 高感染度率 Rate of high infection intensity (%) |
|--|--------------------------------|------------------------|---|---|
| 单用生理盐水 Normal saline alone | | | | |
| 1 | 13(6, 7) | 69.2(9/13, 5, 4) | 77.8(7/9, 4, 3) | 77.8(7/9, 4, 3) |
| 2 | 20(9, 11) | 75.0(15/20, 5, 10) | 66.7(10/15, 4, 6) | 66.7(10/15, 4, 6) |
| 3 | 17(4, 13) | 88.2(15/17, 4, 11) | 53.3(8/15, 2, 6) | 26.7(4/15, 2, 2) |
| 4 | 21(4, 15) | 81.0(17/21, 6, 11) | 70.6(12/17, 3, 9) | 52.9(9/17, 3, 6) |
| 5 | 8(4, 4) | 87.5(7/8, 4, 3) | 42.9(3/7, 2, 1) | 14.3(1/7, 1, 0) |
| 6 | 15(9, 6) | 86.7(13/15, 8, 5) | 46.2(6/13, 4, 2) | 15.4(2/13, 1, 1) |
| 合计(Total)* | 94(38, 56) | 80.9(76/94, 32, 44) | 60.5(46/76, 19, 27) | 43.4(33/76, 15, 17) |
| 加用抗生素 Adding antibiotic | | | | |
| 1 | 11(3, 8) | 100.0(11/11, 3, 8) | 63.6(7/11, 2, 5) | 54.5(6/11, 2, 4) |
| 2 | 12(7, 5) | 100.0(12/12, 7, 5) | 58.3(7/12, 4, 3) | 41.7(5/12, 3, 2) |
| 3 | 4(0, 4) | 100.0(4/4, 0, 4) | 25.0(1/4, 0, 1) | 25.0(1/4, 0, 1) |
| 4 | 7(3, 4) | 100.0(7/7, 3, 4) | 71.4(5/7, 3, 2) | 57.0(4/7, 2, 2) |
| 5 | 6(3, 3) | 100.0(6/6, 3, 3) | 16.7(1/6, 0, 1) | 0(0/6, 0, 0) |
| 6 | 4(2, 2) | 100.0(4/4, 2, 2) | 75.0(3/4, 2, 1) | 25.0(1/4, 0, 1) |
| 7 | 10(6, 4) | 90.0(9/10, 5, 4) | 66.7(6/9, 3, 3) | 22.2(2/9, 1, 1) |
| 8 | 13(8, 5) | 100.0(13/13, 8, 5) | 46.2(6/13, 2, 4) | 30.8(4/13, 1, 3) |
| 9 | 19(10, 9) | 100.0(19/19, 10, 9) | 47.4(9/19, 3, 9) | 15.8(3/19, 0, 3) |
| 合计(Total)** | 86(42, 44) | 98.8(85/86, 41, 44) | 52.9(45/85, 19, 26) | 30.6(26/85, 9, 17) |
| 添加葡萄糖 Adding glucose | | | | |
| 1 | 10(5, 5) | 90.0(9/10, 5, 4) | 66.7(6/9, 3, 3) | 22.2(2/9, 0, 2) |
| 2 | 13(4, 9) | 100.0(13/13, 4, 9) | 53.8(7/13, 2, 5) | 53.8(7/13, 2, 5) |
| 3 | 14(4, 10) | 100.0(14/14, 4, 10) | 85.7(12/14, 2, 10) | 64.3(9/14, 2, 7) |
| 4 | 12(5, 7) | 100.0(12/12, 5, 7) | 66.7(8/12, 3, 5) | 50.0(6/12, 1, 5) |
| 合计(Total)*** | 49(18, 31) | 98.0(48/49, 18, 30) | 68.8(33/48, 10, 23) | 50.0(24/48, 5, 19) |
| 添加培养基 RPM I 1640 Adding culture medium RPM I 1640 | | | | |
| 1 | 6(4, 2) | 100.0(6/6, 4, 2) | 50.0(3/6, 2, 1) | 50.0(3/6, 2, 1) |
| 2 | 18(9, 9) | 88.9(16/18, 8, 8) | 62.5(10/16, 3, 10) | 50.0(8/16, 3, 5) |
| 3 | 10(5, 5) | 90.0(9/10, 4, 5) | 88.8(8/9, 3, 5) | 55.6(5/9, 1, 4) |
| 合计(Total)**** | 34(18, 16) | 91.2(31/34, 16, 15) | 67.7(21/31, 8, 13) | 51.6(16/31, 6, 10) |

* 存活鼠感染率(%) Infection rate of living jird: 59.4% (19/32), 61.4% (27/44)
高感染度率(%) Rate of high infection intensity: 49.6% (15/32), 40.9% (18/44)

** 存活鼠感染率(%) Infection rate of living jird: 46.3% (19/41), 59.1% (26/44)
高感染度率(%) Rate of high infection intensity: 22.0% (9/41), 38.6% (17/44)

*** 存活鼠感染率(%) Infection rate of living jird: 55.6% (10/18), 74.2% (23/30)
高感染度率(%) Rate of high infection intensity: 27.8% (5/18), 63.3% (19/30)

**** 存活鼠感染率(%) Infection rate of living jird: 50.0% (8/16), 86.7% (13/15)
高感染度率(%) Rate of the high infection intensity: 37.5% (6/16), 66.7% (10/15)

表 2 长爪沙鼠感染贵州株(G)和浙江株(Z)马来丝虫后感染率和感染度的比较

Table 2 Comparison of infection rate and infection of *M. unguiculatus* infected with Guizhou strain (G) and Zhejiang strain (Z) of *B. malayi*

| 感染批次 Infection batch | 接种鼠数 No. of jirds inoculated | | 存活率 Survival rate (%) | | 存活鼠感染率 Infection rate of survived jird (%) | | 高感染度率 Rate of high infection intensity (%) | |
|-------------------------|---------------------------------|-----|--------------------------|-------------|---|-------------|---|-------------|
| | (G) | (Z) | (G) | (Z) | (G) | (Z) | (G) | (Z) |
| 1 | 11 | | 100.0(11/11) | | 54.5(6/11) | | 45.5(5/11) | |
| 2 | 14 | 9 | 85.7(12/14) | 66.7(6/9) | 58.3(7/12) | 83.3(5/6) | 58.3(7/12) | 83.3(5/6) |
| 3 | 14 | 12 | 100.0(14/14) | 91.7(11/12) | 35.7(5/14) | 63.6(7/11) | 21.4(3/14) | 63.6(7/11) |
| 合计(Total) | 28 | 32 | 92.5(26/28) | 87.5(28/32) | 46.2(12/26) | 64.3(18/28) | 38.5(10/26) | 60.7(17/28) |

讨 论

虽然接种鼠的存活率与接种L₃量有一定关系^[3], 但从媒介蚊虫分离的L₃易受细菌污染^[4], 本实验分离L₃的全过程添加了抗生素, 接种液体量控制在0.3~0.5 ml, 以减少异性蛋白注入鼠体内。在接种后连续3 d 加用抗生素。结果, 接种鼠的存活率由未加抗生素的69.2%~88.2%提高到98.9%~100.0%。但不能提高存活鼠的感染率和高感染度率(表1), 反而是降低。这也许与抗生素对幼虫发育具有抑制作用有关^[5]。

加用葡萄糖后, 存活鼠感染率较高, 为68.8% (其中为55.6%, 为74.2%), 高感染度率(50.0%, 其中为27.8%, 为63.3%)也较单用生理盐水和加用抗生素组(分别为43.4%, 其中为59.4%, 为60.4%和30.6%, 其中为22.0%, 为38.6%)高。在本研究中也显示, 相同的实验条件, 分别加用葡萄糖(表1感染批次4)和抗生素(表1感染批次8), 结果添加葡萄糖的存活鼠感染率和高感染度率分别为66.7%和50.0%, 而加用抗生素的只有46.2%和30.8%。表明葡萄糖对L₃的生长发育有促进作用, 我们在体外培养L₃时也有此作用^[6], 而抗生素则无促进作用。添加RPMI 1640培养液, 存活鼠感染率和高感染度率, 均高于单用生理盐水和加用抗生素的。RPMI 1640富含20种氨基酸, 可能对丝虫的生长有一定促进作用。我们在体外培养L₃时, 曾采用含人

羊膜细胞系的RPMI 1640培养系统, 添加葡萄糖2 mg/ml, 获得较好结果^[6]。但本研究表明RPMI 1640促进作用不优于添加葡萄糖的(表1), 这也许与体内和体外条件差异有关。如以获取虫体量为目的, 则添加葡萄糖或RPMI 1640都是有效可行的。

通过对马来微丝蚴体核数的比较, 各地理株间不存在差异^[7], 但本研究显示, 长爪沙鼠感染马来丝虫浙江株第6代, 其存活鼠的感染率和高感染度率, 均高于贵州株第31代。这也许与长爪沙鼠对不同地理株的易感性不同有关。本研究按不同方法接种长爪沙鼠, 存活鼠的感染率, 雄鼠均高于雌鼠。尤其是添加葡萄糖和RPMI 1640组, 无论是存活鼠感染率和高感染度率雄鼠均显著高于雌鼠(表1)。

此外, 对近千只长爪沙鼠每鼠感染L₃约200条或300的分析结果表明, 以每鼠感染L₃约200条, 鼠的感染率和感染度较高。

参 考 文 献

- 1 马晓星, 王永祥 不同蚊种对周期型马来丝虫的易感性研究 中国寄生虫病防治杂志 1991; 4:190
- 2 金立中, 许锦江 注射感染马来丝虫微丝蚴在蚊虫体内早期发育的观察 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1992; 10:298
- 3 尹克霞, 徐建霞, 李桂萍 马来丝虫感染中华按蚊、长爪沙鼠最适虫体接种数量的实验观察 中国寄生虫病防治杂志 1992; 5:299
- 4 陈佩惠, 周述龙主编 医学寄生虫体外培养 北京: 科学出版社, 1995:347
- 5 Lok JB, Pollack RJ, Cupp EW, et al Development of *Onchocerca lienalis* and *O. volvulus* from the third to the fourth larval stage in vitro. Trop Parasit 1984; 35:

- 209
 6 徐大刚, 黄蕙芬, 叶淑铭, 等. 体外培养周期型马来丝虫感染期幼虫. 动物学报 1989; 35: 104
 7 王 莹 周期型马来丝虫微丝蚴体核数的比较 大连
- 医科大学学报 1995; 17: 4
 1996年10月27日收稿 1997年10月22日修回
 (编辑: 富秀兰)

OBSERVATION ON THE FACTORS INFLUENCING INFECTION RATE OF MERIONES UNGUICULATUS WITH BRUGIA M ALAYI *

Xu Dagang¹, Wan Qihui², Li Jie³, Nie Wenqing³

¹ Department of Parasitology, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025

² Department of Parasitology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003

³ Department of Parasitology, Dalian Medical University, Dalian 116023

ABSTRACT

AM: To explore the factors influencing the infection rate of *M. unguiculatus* with *B. malayi*. **METHODS:** The survival rate, infection rate and infection intensity were observed in *M. unguiculatus* infected with the infective larvae of *B. malayi* contained in normal saline, antibiotic, glucose or culture medium RPM II640, respectively. **RESULTS:** The survival rate, infection rate and rate of infection intensity in normal saline group, antibiotic group, glucose group and RPM II640 group were 80.9%, 60.5%, and 43.4%; 98.8%, 52.9% and 30.6%; 98.0%, 68.8% and 50.0%; 91.2%, 67.7% and 51.6%, respectively. The rate and the infection intensity were higher in the jirds infected with the 6th generation of Zhejiang strain than that with the 31st generation of Guizhou strain. **CONCLUSION:** The antibiotic was found to raise the living rate of the infected jirds, but reduce the infection rate and infection degree intensity; whereas glucose and culture medium RPM II640 could raise the positive rate and the infection. The jird was more susceptible to the 6th generation of Zhejiang strain than the 31st generation of Guizhou strain of *B. malayi*.

Key words: *B. rugia malayi*, *M eriones unguiculatus*, infection rate, infection degree

* Project was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 39160073)

缩小膜壳绦虫感染一例

海南省热带病防治研究所 海口 570203 陈绩彰 徐凤翔 吴让庄 李善文

患者女性, 33岁, 海南省琼海市博鳌镇农民。2年前开始头晕、恶心、反复上腹部阵发性疼痛和腹泻。近半年来病情加重, 并伴流涎前来就诊。体检无特殊。经改良加藤氏法检查粪便, 查见缩小膜壳绦虫卵和鞭虫卵。给予吡喹酮1 g(25 mg/kg)口服, 2 h后给硫酸镁30 g导泻, 收集24 h全粪淘虫, 查见成虫节片

46节, 总长547.4 cm, 其中40节片均有比较完整的颈节(0.2—0.25 mm), 成熟节片及妊娠节片, 其余6个节片为脱落的妊娠节片。治疗后症状消除, 1年后同法粪检, 未查见虫卵。

1996年5月6日收稿 1997年10月10日修回

(编辑: 李雅卿)