

# 不同蚊宿主体内马来丝虫 微丝蚴黑化的实验比较\*

潘实清 李树桃 黄炯烈

(寄生虫学教研室)

**提 要** 羽化1~2天的中华按蚊、致倦库蚊和白纹伊蚊分别胸内接种马来丝虫微丝蚴,在接种后的第3、4、5和9天,分头、胸、腹3部解剖计算各种蚊虫体内黑化微丝蚴及发育各期幼虫。结果表明:中华按蚊、致倦库蚊和白纹伊蚊的微丝蚴黑化率分别为51.6%、86.1%和69.5%,差异显著;3种蚊虫体内的感染期幼虫率及感染期幼虫阳性率分别为35.3%、1.6%、0%和83.9%、23.5%、0%。黑化微丝蚴较多地集中在蚊虫腹部,占黑化微丝蚴总数61.6%~78.4%。

**关键词** 马来丝虫蚊类;微丝蚴;黑化现象

**中图分类号** R384.1

微丝蚴在蚊虫体内的黑化现象是蚊虫宿主对入侵病原丝虫的免疫应答现象的表现<sup>[1~4]</sup>。有关学者认为微丝蚴在蚊虫体内黑化的比率高低是蚊虫对丝虫易感的一个衡量指标<sup>[3]</sup>。近年来国内已有不少文献报道对丝虫和蚊虫宿主相互关系的研究<sup>[6~10]</sup>。但以国内丝虫——蚊媒为材料研究微丝蚴黑化与蚊虫易感性关系的报道仅见罗华等<sup>[8]</sup>。

本实验以我国3种蚊虫和马来丝虫微丝蚴为材料,通过胸内接种感染,研究微丝蚴在不同蚊种体内黑化的强度以及黑化率与易感性的关系,以助于进一步阐明蚊虫对丝虫的易感性机制。

## 材 料 和 方 法

### 蚊 虫

实验用中华按蚊由遵义医学院寄生虫学教研室引进,经本实验室饲养20代以上。致倦库蚊由广州市防疫站提供,经本实验室饲养30代以上。白纹伊蚊由本实验室驯化饲养5年以上。在 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 昆虫培养室,按本实验室常规饲养。取1~2天内羽化的雌蚊作为实

验用蚊。

### 马来丝虫微丝蚴

实验用马来丝虫微丝蚴由大连医学院寄生虫学教研室提供阳性长爪沙鼠腹腔内获得。实验前用乙醚麻醉长爪沙鼠,按常规消毒后,注射1~2 ml灭菌生理盐水至腹腔内,并抽取含微丝蚴的腹腔冲洗液约0.5~1 ml,加4℃灭菌生理盐水10 ml,混匀,在4℃低温条件下1500 rpm离心5分钟;取沉淀约1 ml,重复上述离心2次,获得洁净微丝蚴,再用灭菌生理盐水稀释至可计数密度,放进冰浴中备用。

### 胸内接种

供实验用3种蚊虫同时进行实验,每次吸取20只雌蚊,分别放置培养皿中,经4℃冰冻麻醉后,在双目解剖镜下,用自制玻璃毛细吸管接种针吸取1  $\mu\text{l}$ 含15~20条微丝蚴的灭菌生理盐水,经蚊虫胸侧接种至蚊虫体内。接种针口径以微丝蚴能顺利吸进为宜,口径太窄容易阻塞,口径过大,接种后蚊虫因损伤造成死亡。接种后蚊虫分别单只放置蚊虫指管中,按黄炯烈<sup>[3]</sup>的方法处理后,在 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 昆虫培养室中饲养。

### 解剖与观察

接种后第3、4、5和9天,3种蚊虫同

\* 国家自然科学基金资助课题

时分批解剖。待解蚊虫用乙醚麻醉后,去掉蚊脚及翅,并将每只蚊分头、胸、腹3部份,各加1滴生理盐水,置于解剖镜下充分撕碎后,盖上15 mm×15 mm盖玻片,在低倍光学显微镜下观察,记录每只蚊虫各部分体内黑化、死亡、存活微丝蚴及各期幼虫数。

## 结 果

表1 不同蚊种实验感染马来丝虫微丝蚴后的感染期幼虫率

| 蚊 种  | 观察蚊虫总数 | 发现幼虫总数 | 感染期幼虫数 | 感染前期幼虫数 | 黑化微丝蚴数 | 感染期幼虫率(%) | 感染期幼虫阳性率(%) |
|------|--------|--------|--------|---------|--------|-----------|-------------|
| 中华按蚊 | 31     | 289    | 102    | 44      | 121    | 35.3      | 83.9(26/31) |
| 致倦库蚊 | 34     | 367    | 8      | 9       | 334    | 1.6       | 23.5(8/34)  |
| 白纹伊蚊 | 30     | 330    | 0      | 1       | 254    | 0         | 0(0/30)     |

表2 不同蚊种胸内接种马来丝虫微丝蚴后体内的微丝蚴黑化率

| 蚊 种  | 观察蚊虫总数 | 幼虫总数 | 胸部   |       |       | 腹部   |       |       | 黑化率(%) |
|------|--------|------|------|-------|-------|------|-------|-------|--------|
|      |        |      | 存活幼虫 | 死亡微丝蚴 | 黑化微丝蚴 | 存活幼虫 | 死亡微丝蚴 | 黑化微丝蚴 |        |
| 中华按蚊 | 88     | 816  | 345  | 6     | 91    | 40   | 4     | 330   | 51.6   |
| 致倦库蚊 | 88     | 1140 | 119  | 10    | 214   | 13   | 17    | 767   | 86.1   |
| 白纹伊蚊 | 86     | 809  | 169  | 34    | 216   | 21   | 23    | 346   | 69.5   |

表3 黑化微丝蚴在蚊体内的分布

| 蚊 种  | 黑化微丝蚴总数 | 胸部     |             | 腹部     |             |
|------|---------|--------|-------------|--------|-------------|
|      |         | 黑化微丝蚴数 | 占黑化微丝蚴比率(%) | 黑化微丝蚴数 | 占黑化微丝蚴比率(%) |
| 中华按蚊 | 421     | 91     | 21.6        | 330    | 78.4        |
| 致倦库蚊 | 981     | 214    | 21.8        | 767    | 78.2        |
| 白纹伊蚊 | 562     | 216    | 38.4        | 346    | 61.6        |

## 讨 论

实验结果表明,经蚊虫胸内接种马来丝虫微丝蚴,不管是易感还是不易感蚊虫宿主体内均可观察到微丝蚴黑化现象。如表1所示,看来微丝蚴在蚊虫体内黑化反应现象很可能是宿主蚊对异物入侵的非特异性防御反应<sup>[5,6]</sup>。但

实验共进行3次。中华按蚊、致倦库蚊、白纹伊蚊的感染期幼虫率分别为35.3%、1.6%、0%,感染期幼虫阳性率为83.9%、23.5%、0%(见表1)。3种蚊虫的微丝蚴黑化率分别为51.6%、86.1%、69.5%(见表2)。观察结果表明黑化微丝蚴主要分布于腹部,占61.6~78.4%不等(见表3)。

从表2的结果来看,不同宿主对微丝蚴的黑化反应确实存在明显的差异( $P<0.01$ )。

反应强度从轻到重依次为中华按蚊、白纹伊蚊、致倦库蚊,但从易感性经典的指标感染期幼虫率来看,易感性的程度从高到低如表1所示,应是中华按蚊、致倦库蚊、白纹伊蚊<sup>[8,10]</sup>。因此单一的微丝蚴黑化率作为蚊虫对

微丝蚴易感性指标显然不够充分,应考虑其它与易感性有关的因素<sup>[10]</sup>。我们注意到第9天的解剖结果中,30只白纹伊蚊始终没有感染期幼虫发现,仅见1条发育不良的感染前期幼虫,因此比较肯定,白纹伊蚊在生理上对马来丝虫是不易感的。

对解剖3种不同蚊虫中发现存活幼虫和微丝蚴及黑化的微丝蚴在蚊虫体内分布表明,其体内黑化微丝蚴主要分布在蚊虫的腹部,如表3所示,占黑化微丝蚴总数的61.6%~78.4%。存活的幼虫如表2所示,主要分布在蚊虫的胸部,与黄炯烈<sup>[3]</sup>所报道一致。至于黑化反应多发生在蚊虫的腹部,对此尚未有满意的解释。微丝蚴的黑化可能与蚊体内的酚氧化酶活性有关<sup>[1,11]</sup>,与血淋巴中其它有形成份如血细胞等也有一定的关系<sup>[12]</sup>。我们在解剖过程中,发现部分黑化及没有黑化或者少数存活微丝蚴虫体周围出现沉积物包裹,其中有明显的细胞成份,可能是除黑化以外,蚊虫将限制丝虫在其体内发育的另一种形式,有待进一步研究。

### 参 考 文 献

1. 黄炯烈。蚊虫胸内接种微丝蚴后血淋巴酚氧化酶活性的变化。中山医科大学学报 1991; 12(1):20
2. Lackie AM. Immune mechanisms in insects. *Parasitology Today* 1988;4(4):98
3. 黄炯烈。埃及伊蚊血淋巴被动转输后受体蚊对彭亨丝虫易感性的变化。中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1990;8(4):253

4. 黄炯烈。蚊体内微丝蚴的黑化及对丝虫易感性机制初步的研究。医学动物防制 1989;5 (3):82
5. Bruce M, et al. Defecense reactions of mosquitoes to filarial worms: comparative studies on the response of three different mosquitoes to inoculated *Brugia pahangi* and *Dirofilaria immitis* microfilariae. *J Invertebrate Pathol* 1984;44:267
6. 罗 华,等。中华按蚊对周期型马来丝虫的实验感染指数及幼虫黑化现象的探讨。中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1990;8(4):260
7. 黄炯烈,何桂铭。马来丝虫幼虫在中华按蚊体内移行的观察。中山医科大学学报 1987; 8(1):59
8. 黄炯烈,何桂铭。中华按蚊感染马来丝虫后产卵力及存活率的变化。中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1988;6(2):99
9. 黄炯烈,何桂铭。实验研究中华按蚊对马来丝虫微丝蚴吸入率及宿主效率。中华流行病学杂志 1989;10(6):344
10. 许锦江,等。马来微丝蚴注射感染四种蚊虫的实验观察。寄生虫学与寄生虫病杂志 1986;4(3):192
11. Nappi AJ, et al. Quantitative analysis of hemolymph monophenol oxidase activity in immune reactive *Aedes aegypti*. *Insect Biochem.* 1987;17(5):685
12. Gotz P, et al. Insect immunity. In: Kerkut GA, et al. ed. *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology*. Vol 3. 1st ed. New York: Pergaman Press, 1985:453

(1992-05-15收稿 1992-08-31修回)

## COMPARATIVE STUDIES OF MICROFILARIAL MELANIZATION IN THREE SPECIES OF MOSQUITOES

Pan Shiqing    Li Shutao    Huang Jionglie

(Department of Parasitology)

One- to two day old mosquitoes *Anopheles sinensis*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes albopictus* were thoracically inoculated with 15~20 *Brugia malayi* microfilariae per individual. The inoculated mosquitoes subsequently were dissected into head, thorax and abdomen to count the number of melanized microfilariae other developing stages of melanized microfilariae varied with the species and related to the susceptibility of the mosquitoes to the filaria. At the same time, differences in the rate of mature larvae and the rate of infective mosquitoes were also found among the species. Most (61.6%~78.4%) of the melanized microfilariae were observed in the abdomens of mosquitoes.

**Key words** *Brugia malayi*; microfilaria; melanization mosquitoes

### • 简 讯 •

#### 一次国际血管性头痛专题学术研讨会在我校举行

一次民间国际性血管性头痛专题学术研讨会于1992年10月12日在我校举行。来自美国、加拿大、瑞士、法国、英国、埃及、墨西哥、波多黎各等国的代表和我校附属第一医院神经科、广东省人民医院神经科、以及广州医学院神经病学研究所的专家代表参加了讨论。美国著名神经病学家 Meyer 教授介绍了血管性头痛发病机制研究的新进展, 我校附一院神经科梁秀龄教授、钱采韵副教授、张成博士介绍了我院对血管性头痛尤其是偏头痛的研究, 各国专家就血管性头痛的中药治疗、鉴别诊断等进行了热烈的讨论, 大家互相学习、交流经验。在此之前, 美国等代表团还在北京、杭州进行了头痛专题讨论。他们认为在广州的讨论是最为难忘的一次。

(张 成)