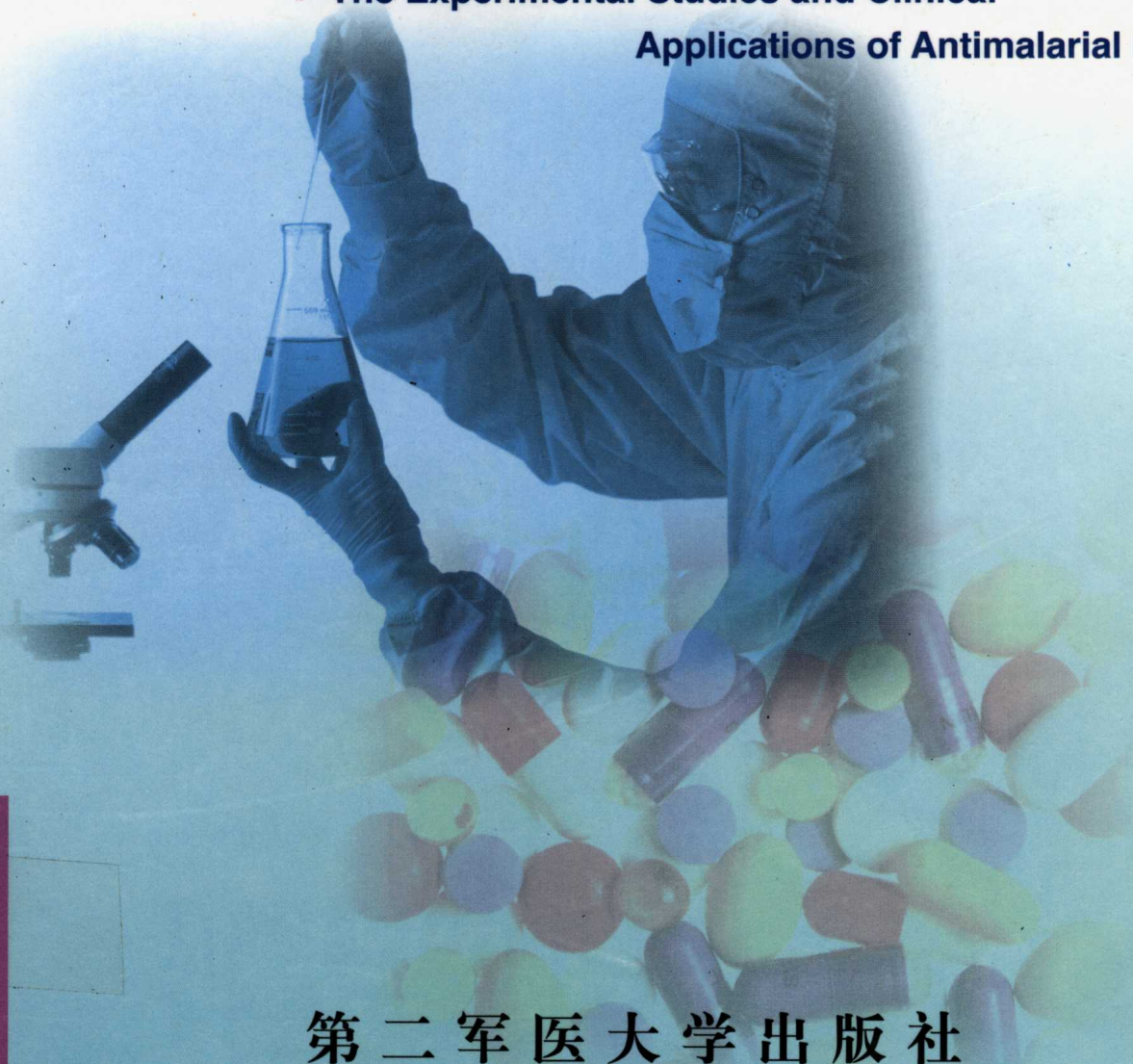


编著 陈 林

抗疟药的实验研究 与临床应用

The Experimental Studies and Clinical
Applications of Antimalarial Drugs



第二军医大学出版社

抗疟药的实验研究与 临床应用

The Experimental Studies and Clinical Applications
of Antimalarial Drugs

编著 陈 林

第二军医大学出版社

内 容 简 介

本书是陈林教授从事抗疟药研究 30 多年的心得体会,共选编了 50 篇论著及综述,既有理论思索,也有现场临床试验,具有一定的深度和广度,从一个侧面反映了我国抗疟药研究的现状和进展。

本书读者对象为医学生、研究生及从事新药研究的科研人员。

图书在版编目(CIP)数据

抗疟药的实验研究与临床应用/陈 林编著. - 上海:第二军医大学出版社,2001.10

ISBN 7-81060-140-7

I. 抗… II. 陈… III. ①抗疟药-实验-文集 ②抗疟药-临床应用-文集 IV. R 978.61-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 07900 号

抗疟药的实验研究与临床应用

编 著 陈 林

责任编辑 尹 茶

第二军医大学出版社出版发行

(上海市翔殷路 818 号 邮政编码:200433)

全国各地新华书店经销

上海锦佳装璜印刷发展公司

开本:787×1092 1/16 印张:17 彩插 1 字数:412 千字

2001 年 10 月第 1 版 2001 年 10 月第 1 次印刷

印数:1~500

ISBN 7-81060-140-7/R·091

定价:48.00 元



陈林教授简历:

男, 1929 年 7 月生, 江苏省靖江市人。

1953 年 11 月于上海第二军医大学军医系本科毕业。历任第二军医大学寄生虫学教研室、抗疟药研究室助教、讲师、副教授、教授。1995 年至今为广州中医药大学热带医学研究所疟疾研究室教授。

主要著作有徐叔云等主编的《药理实验方法学》(人民卫生出版社, 1994 年第 2 版) 中“抗疟药实验法”; 徐秉鲲等主编的《人体寄生虫电镜图谱》(人民卫生出版社, 1989 年第 1 版) 中“疟原虫部分”。已公开发表论文 60 余篇。

曾任南京药物研究所顾问 (1982~1998), 现为中华医学会、中国昆虫学会、中国原生动物学会会员和广州中医药大学客座教授 (1999~)。自 1993 年起曾多次访问美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health, USA) 等单位, 进行有关疟疾和抗疟药研究的学术交流。

曾获得军队科技进步三等奖 6 项 (其中作为第一作者 3 项), 全国科学大会奖 1 项, 国家发明二等奖 1 项。

44MB/3

序

疟疾是一种十分严重的热带传染病,自古至今一直威胁着人类的健康与生命。据统计,全世界每年约有 4 亿人患病,其中约 250 万人因此而丧生,其中大部分为儿童及妊娠妇女。疟疾在我国也曾十分流行,经过 30 多年的努力,当前疫情已得到了一定控制,但由于疟原虫复杂的生活史、抗原的高度变异性和易于产生耐药性等因素,疟疾形势正在恶化。就药物治疗而言,除了青蒿素类衍生物,疟原虫可能对每一种抗疟药都产生了耐药性;同类药物之间的交叉耐药使这个问题更加复杂化。因此,新的治疗药物的研究显得日益重要。

陈林教授选择抗疟药研究作为自己毕生奋斗的目标,持之以恒,潜心研究,并把他与合作者们 30 多年抗疟药研究的心得体会汇编成集,供同行参考,体现出一名科学工作者良好的思想素质和敬业精神。选编的 50 篇论文及综述,既有理论思索,也有现场临床试验;有深度,也有一定的广度,从一个侧面反映了我国抗疟药研究的现状和进展,具有较高的学术参考价值。特别是陈林教授的执着追求和严谨的治学态度与求真务实的工作作风,更值得大家学习。

是以为序。

第二军医大学校长

李家顺

2001 年 1 月

序

当今世界约有 25 亿人仍处于疟疾的威胁之中,这些人分布在 90 多个国家。世界卫生组织报告:1995 年全球疟疾病人达 5 亿,并导致 210 万人死亡,其中 100 万是儿童。20 年前人们还以为疟疾在全球已经得到了控制,遗憾的是,由于疟原虫对许多抗疟药以及传疟蚊媒对杀虫剂都产生了抗药性,致使近 5 年来全球各地疟疾暴发流行的次数增加了 3 倍,一些早已宣布消灭疟疾的国家也重新发现了病例。疟疾对非洲的危害尤为严重,全世界每年死于疟疾的人中非洲人占 80%~90%。在东南亚、印度和南美的某些地区,疟疾流行仍然相当严重。在印度,1950~1970 年间疟疾发病人数从每年 7 500 万减少到 10 万,死亡人数从每年 80 万下降到接近于零,但自 1994 年以来又出现了 4 次疟疾流行,据报道 1996 年有 285 万病例,死亡 3 000 余人。

我国地处亚热带及温带地区,许多地区曾是疟疾高发区。经过多年的抗疟工作,疟疾疫情已经明显得到控制,80 年代以来,全国疟疾发病人数稳定下降,九十年代以来,全国每年发病人数在 10 万以下。在南方原有疟疾流行省份的大多数地区,疟疾发病率已降至万分之五以下,但在某些局部地区,如海南省的山林区和云南省的边境地区疟疾发病率仍较高,恶性疟疾的流行范围也未有明显改变。由于我国尚处于社会主义初级阶段,经济还比较落后,疟区农村人民生活条件较差,个别地区甚至还未脱贫,加之蚊媒种类复杂,目前尚难以控制疟疾的发生。因此,仍须保持高度的警觉,采取有效措施防止疟疾疫情的回升,努力消除局部地区暴发流行的隐患。

原上海第二军医大学抗疟药研究室的陈林教授自七十年代初就从事疟疾研究,至今逾 30 余载,虽已年过古稀仍在勤奋耕耘,积极进取。他与他的同事们先后在国内发表论著 60 余篇,内容涉及疟原虫生物学研究、超微结构观察、疟疾动物模型的建立、抗疟新药和复方的研究以及现场临床试验等领域。其学术造诣颇深,学术见解有独到之处,从一个侧面反映了我国疟疾研究的面貌。现在将其多年研究成果汇编成集,供有志于此领域的研究者参考,相信此论文集的出版,对疟疾的研究实践将发挥其应有的作用。

广州中医药大学热带医学研究所

李国桥

2000 年 9 月

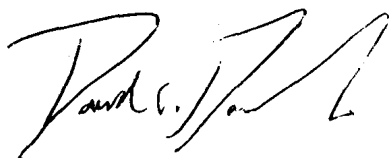
PREFACE

I am pleased and honored to pay tribute and to congratulate Professor Lin Chen, a colleague and friend of many years, on the occasion of his Seventieth Birthday. Professor Chen has contributed much to the knowledge of malaria which has benefitted China and the International Scientific Community, both in understanding the basic biology of the malaria parasite and in developing tools and strategies for treatment and control. He was a 1953 medical graduate of the Second Military Medical University, Shanghai, and distinguished himself there as teacher and scientist from 1988 to the present time as Professor of Medical Parasitology. Also, since 1995, he has continued his research and teaching as Professor of Malariology in the Institute of Tropical Medicine, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, and at the internationally renowned Sanya Tropical Institute in Hainan.

He has authored more than 60 scientific research papers, and chapters on experimental methods for antimalarial drugs in *Pharmacological Methodology* (1991) and on the malaria parasite in the *Electromicroscopical Atlas of Human Parasites* (1989). He has contributed significantly to the understanding of malaria and to new treatments to combat this disease. The importance of his contributions has been recognized by a number of Military and National awards, including, in 1985, the sharing of the Second Class China National Invention Prize.

In all of my associations and collaborations with Professor Chen, I have appreciated his enthusiasm, expertise, hospitality and sound judgement. He has often provided wise counsel. In recent years, when I was secretary of the Steering Committee on Chemotherapy of Malaria of the Special Programme for Research and Development in Tropical Diseases, World Health Organization, he has been a generous and valuable contributor, and an esteemed advisor. In addition, I wish to thank and congratulate the family of Professor Chen for their support and generosity throughout his eminent career.

Professor Chen deserves the gratitude of China, the international community of malariologists, and the medical community. His scientific writings, presented in this compendium, bear witness to his many and varied contributions.



David E. Davidson, PhD

World Health Organization, Retired

15 February 1999, Damascus, Maryland, USA

目 录

一、疟原虫生物学和致病作用的研究

1. 伯氏疟原虫和约氏疟原虫经输血感染在小鼠体内自然消长的观察 1
2. 安徽省淮北地区间日疟原虫的异常形态 4
3. 伯氏疟原虫 ANKA 株红前期的初步观察 7
4. SMMC/C 系小鼠生物学特性研究Ⅳ. SMMC/C 系小鼠对疟原虫敏感性的初步观察 ... 10
5. Histopathological changes of *Macaca mulatta* infected with *Plasmodium knowlesi* 12

二、疟疾实验动物模型的建立

1. 疟疾防治药物的研究Ⅱ. 疟疾病因性预防药物筛选试验动物模型 1. 约氏鼠疟原虫-斯氏按蚊系统 20
2. 食蟹猴疟原虫-斯氏按蚊系统-猴疟模型的一些生物学特性和对常用抗疟药物的生物效应 28
3. 伯氏疟原虫 ANKA 株模型的建立及其在抗疟药筛选中的应用 34
4. 食蟹猴疟原虫 B 株-斯氏按蚊-恒河猴模型在国内的建立 39

三、抗疟药新药与复方的实验研究

1. 疟疾防治药物的研究Ⅳ. 5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐抗疟作用的实验观察 42
2. 甲氯苄喹及其盐类的抗疟作用 46
3. 羟基哌喹及其磷酸盐的抗疟作用 50
4. 伯氏疟原虫 ANKA 株对常用抗疟药的治疗效应 54
5. Antimalarial activity of tripyridine in mice and mokeys 58
6. 13 种抗疟药复方对伯氏疟原虫抗氯喹‘NS’株的疗效 62
7. 三种抗疟药复方对食蟹猴疟原虫的疗效 65
8. Fluorometric determination of antimalarial efficacy of artemisinin and artemether against *Plasmodium falciparum* in vitro 68
9. Recent studies on antimalarial efficacy of piperazine and hydroxypiperazine 72
10. 三吡萘啉在动物模型上的长效预防抗疟作用 76

四、抗疟新药对疟原虫超微结构的影响

1. 哌喹对伯氏疟原虫 ANKA 株红内期超微结构的影响 81
2. 三吡萘啉对伯氏疟原虫 ANKA 株超微结构的影响 85
3. Effects of dihydroartemisinin on fine structure of erythrocytic stages of *Plasmodium berghei* ANKA strain 88
4. 复方萘酚喹对伯氏疟原虫 ANKA 株红内期超微结构的影响 94
5. Effects of new antimalarial drugs in combination, artekin, on ultrastructure of erythrocytic stages of *Plasmodium berghei* ANKA strain 99

五、抗性培育与观察

1. 伯氏疟原虫 ANKA 株抗哌喹系的培育 105
2. 伯氏疟原虫 K173 株对哌喹抗药性的实验研究 110
3. 伯氏疟原虫 ANKA 株抗哌喹系红内期超微结构的观察 116
4. 伯氏疟原虫 ANKA 株抗羟基哌喹系的培育 119
5. Antagonism of serum of mice infected with chloroquine-resistant 'NS' line to the antimalarial action of chloroquine 124

六、临床和现场应用

1. 抗疟新药哌喹在海南现场防疟效果的观察 129
2. 海南岛某地抗氯喹恶性疟 2 例报告 135
3. Field observation on the antimalarial piperazine 137
4. 几种新抗疟药联合应用治疗海南省恶性疟的效果观察 144
5. A field trial of a fluorometric *in vitro* drug sensitivity test for *Plasmodium falciparum* in Hainan Island 148
6. A DNA hybridization assay for use in drug sensitivity test *in vitro* for *Plasmodium falciparum* under field conditions 151
7. 我国海南省抗药性恶性疟流行情况的变迁 155
8. A preliminary study on the infectivity of *Plasmodium falciparum* gametocytes with artesunate versus quinine 159

七、抗疟药筛选

1. 疟疾防治药物的研究 I. 2,4-二氨基-5-取代氨基嘧啶和 2,4-二氨基-6-甲基-5-取代氨基嘧啶衍生物的合成及其抗疟作用 166
2. 疟疾防治药物的研究 III. 2,4-二氨基-6-取代哌嗪基喹唑啉衍生物的合成及其抗疟作用 174
3. 疟疾防治药物的研究 VI. 2,4-二氨基-6-取代氨基-磺酰基喹唑啉衍生物的合成及其抗疟作用 184
4. 疟疾防治药物的研究 VII. 2,4-二哌啶(或吡咯啉)基-6-取代氨基喹唑啉衍生物的合成及其抗疟作用 188
5. 疟疾防治药物的研究 X. 2,4-二氨基-6-N¹,N²-二取代胍基-喹唑啉类衍生物的合成及其抗疟作用 196
6. 4',6-二脒基-2-苯基吡啶的合成及其抗疟作用 203
7. 疟疾防治药物的研究 XI. 2,4-二氨基-6-(N-取代-对氯苄氨基)喹唑啉衍生物的合成及其抗疟作用 206
8. 疟疾防治药物的研究 XII. 2,4-二取代-6-取代氨基喹唑啉衍生物的合成及其抗疟作用 218
9. 2,4-二氨基-6-(N-甲基-取代苄氨基)喹唑啉类化合物的合成和抗疟以及抗肿瘤活性 223

八、综述

1. 近年来国外关于疟原虫超微结构研究的一些进展	230
2. 疟原虫抗药性机制研究的进展	241
3. 抗疟药实验法	245
4. New advances of antimalarial drug research	255

一、疟原虫生物学和致病作用的研究

伯氏疟原虫和约氏疟原虫经输血感染在小鼠体内自然消长的观察

提要 约氏疟原虫对小鼠具有高度的感染力,每鼠接种 5 个感染疟原虫的红细胞时,66.6% 的小鼠出现原虫血症。伯氏疟原虫的接种剂量如低于 1×10^6 个感染疟原虫的红细胞,只能使部分小鼠出现原虫血症。两种鼠疟原虫用相同剂量接种小鼠后,原虫血症的出现时间前者早于后者。接种约氏疟原虫的阳性小鼠能自然转阴,不引起小鼠死亡;但接种伯氏疟原虫的阳性小鼠则不能自然转阴。

在疟疾防治研究中,建立和选用合适的动物模型是一项重要的工作。我国早已先后从国外引进了伯氏疟原虫(*Plasmodium berghei*)和约氏疟原虫(*Plasmodium yoelii*)用作研究疟疾的动物模型。文献报道,鼠疟原虫的生物学特性有很大差异,同一虫株在不同实验室观察到的特性也有所不同^[1,2]。1978 年我们用输血感染方法,比较观察了这两种鼠疟原虫在昆明株小鼠体内的自然消长情况。

材料和方法

实验小鼠均为雄性,体重 18~22 g,为本校动物室繁殖的昆明株品系。伯氏疟原虫引自中国医学科学院寄生虫病研究所,在本实验室输血接种传代。约氏疟原虫系该所在 1976 年自巴黎自然博物馆动物学实验室引进,1977 年转种至本实验室经子孢子接种后,再经输血接种 2~3 代后进行实验。

本试验均采用输血感染,在接种前半小时,取种源鼠心脏血,以 3.8% 枸橼酸钠抗凝,5% 葡萄糖生理盐水逐级稀释,使成为每 0.2 ml 接种液中分别含有 5×10^6 、 1×10^6 、 1×10^5 、 1×10^4 、1 000、100、10、5 和 1 个感染约氏疟原虫的红细胞。小鼠分 9 个组,每组每次试验 6 只鼠,每鼠腹腔接种 0.2 ml,接种时间均在上午 9~10 时。从接种的当天下午起,每天取小鼠尾血涂制薄血膜 1 次,甲醇固定,吉氏染色,计数每 1 000 个红细胞中感染疟原虫的红细胞数。如连续 2 天计数 10^3 个红细胞未查见疟原虫,则定为阴性。接种原虫当天为零天(D_0)。

结 果

用 5×10^6 、 1×10^6 、 1×10^5 、 1×10^4 、1 000 及 100 个感染约氏疟原虫的红细胞接种的各实验组,小鼠全部获得感染,其阳性率为 100%;用 10、5 和 1 个感染约氏疟原虫的红细胞接种的各实验组小鼠的阳性率依次为 83.3%、66.6% 和 16.7%。而用 5×10^6 、 1×10^6 个感染伯氏疟原虫的红细胞接种的各实验组,也能使全部小鼠获得感染,其阳性率也为 100%,但 1×10^5 个及其以下接种量的各实验组,只能使部分小鼠获得感染,接种 1×10^5 的阳性率为 76.6%,接种 1×10^4 的为 30.0%,接种 10、5 和 1 个的依次为 23.3%、25.0%、及 16.7%(见表 1)。

表1 两种疟原虫在小鼠体内的自然消长比较

组别	剂 量 (感染细胞个/鼠)	约氏鼠疟原虫						伯氏鼠疟原虫						死亡时间(天)
		小鼠数(只)	阳性小鼠数(只)	阳性率(%)	原虫血症出现时间(天)	原虫高峰时间(天)	原虫转阴时间(天)	小鼠数(只)	阳性小鼠数(只)	阳性率(%)	原虫血症出现时间(天)	原虫高峰时间(天)	接种后小鼠平均	
1	5×10 ⁶	12	12	100	0*	9.6(7~14)	13~20	12	12	100	1~3	5(4~6)	6~7	
2	1×10 ⁶	6	6	100	1~2	7.9(7~14)	15~19	6	6	100	2~3	5.1(5~6)	6~7	
3	1×10 ⁵	6	6	100	2	8(7~11)	14~19	30	23	76.6	3~4	5(4~5)	5~6	
4	1×10 ⁴	6	6	100	3	8(7~10)	17~19	30	9	30	3~4	4.6(3~5)	6~7	
5	1×10 ³	6	6	100	3~4	8(4~10)	4~10							
6	1×10 ²	12	12	100	4	7.6(7~9)	9~24							
7	10	12	10	83.3	4~5	8.8(4~12)	11~24	30	7	23.3	4~5	4.7(4~5)	5~6	
8	5	6	4	66.7	4~5	8.5(7~10)	18~21	24	6	25.0	6~7	5(4~6)	5~6	
9	1	6	1	16.7	5	7(7)	17	30	5	16.7	5~7	4.6(3~5)	5~7	

*接种原虫当天为零天(D_0),第2天为 D_1 ,余类推

用 5×10^6 个感染约氏疟原虫的红细胞接种的实验组,小鼠都于 D_0 出现原虫血症,而低于 5×10^6 个的各实验组,则随着接种量的减少,原虫血症出现的时间也相应推迟,接种量愈小,推迟的时间愈长。例如每鼠接种5个和1个感染约氏疟原虫的红细胞的小鼠,大多于 D_4 和 D_5 才出现原虫血症。但用 5×10^6 个感染伯氏疟原虫的红细胞接种的各实验组,少数小鼠于 D_1 开始出现原虫血症, D_3 全部鼠出现阳性。 1×10^6 个及其以下接种量的各组,也随接种量的减少而相应地推迟原虫血症出现时间。例如每鼠接种5个和1个感染伯氏疟原虫的红细胞的小鼠,多数于 D_6 和 D_7 才出现原虫血症。因此,在相同接种量的情况下,约氏疟原虫的原虫血症出现通常比伯氏疟原虫的要提前1~2天。

如表1所示,约氏疟原虫接种的小鼠,在出现原虫血症后,小鼠体内的原虫密度稳步上升,波动不大,多数在 $D_7 \sim D_{10}$ 达到高峰,这时红细胞感染率平均为12.5%。而当伯氏疟原虫接种的小鼠出现原虫血症后,原虫密度上升很快,通常在2~4天内上升最快,多数小鼠至 $D_4 \sim D_6$ 时原虫密度可高达70%左右,少数可超过90%。约氏疟原虫密度达到高峰后,其密度相对稳定,4~6天后下降。多数鼠于原虫血症出现后的 $D_{16} \sim D_{17}$ 天转阴,少数鼠延至 $D_{20} \sim D_{21}$ 才转阴,结果所有小鼠均自行痊愈。伯氏疟原虫密度达到高峰后仅维持极短时间(1~2天),小鼠即开始死亡,多数小鼠 $D_6 \sim D_7$ 死亡,其余小鼠延至 D_{12} 死亡。

讨 论

约氏疟原虫和伯氏疟原虫对本校动物室繁殖的昆明品系小鼠均有较强感染力,特别是约氏疟原虫,即使每鼠腹腔接种5~10个感染疟原虫的红细胞,仍有66.7%~83.3%的小鼠获得感染。而伯氏疟原虫在每鼠腹腔接种低于 1×10^6 个感染疟原虫的红细胞时,只能使极少数小鼠获得感染。我们认为这一实验结果的实用意义在于:①在疟疾实验研究中,如用伯氏疟原虫作为动物模型时,其输血接种不宜低于 1×10^6 个感染疟原虫的红细胞;②在用约氏疟原虫

作疟疾病因性预防药物筛选时,如将经 D₇ 和 D₁₄ 血检阴性小鼠的血液转种给健康小鼠后血检仍保持阴性,则初步可以认为药物有病因性预防作用。因为如血内有少量原虫残存,即足以引起健康小鼠重新出现原虫血症。我们用伯氏疟原虫转种的各批实验小鼠的感染率波动较大,为了解其是否与种源鼠的原虫密度有关,分别用 38 % 和 98 % 原虫密度的种源进行试验,结果两者无明显差别。这与 Schneider(1954)^[1] 报道认为阳性小鼠输血转种给健康小鼠并无固定的接种期的看法相一致。Schneider(1954)^[1] 和 Raffaele(1954)^[2] 等曾用伯氏疟原虫感染小鼠,多数小鼠在接种后 10 天内死亡,余下的也在 20 天左右陆续死去。我们用不同数量伯氏疟原虫接种小鼠后,多数在 D₆~D₇ 死亡,仅个别延长到 D₁₂。我们所用小鼠的品系虽与文献不同,但实验结果与上述文献的实验结果相似,而感染约氏疟原虫的阳性小鼠则均能自行痊愈,说明两种鼠疟原虫对宿主的致病性存在着种的特异性,其毒力也完全不同。

戴祖瑞 严序川 陈 林等

寄生虫学与寄生虫病杂志,1983,1(3):138

参 考 文 献

- 1 Schneider J. *Plasmodium berghei* and chemotherapy. Ind J Malariol, 1954, 8: 275
- 2 Raffaele G. On some problems arising from the observation of the infection with *plasmodium berghei* in mice and rats. Ind J Malariol, 1954, 8: 291

Growth and decline of parasitemia in trophozoite-induced *Plasmodium berghei* and *P. yoelii* infections in mice

ABSTRACT After blood inoculation with different doses of *P. yoelii*, the mice (Kunming strain) were found to be very susceptible. Even with 5 infected red blood cells, the infection rate of mice was 66.7%. But when inoculated with *P. berghei* in doses less than 1×10^6 infected red blood cells, only some mice were infected. Using similar doses, the parasitaemia with *P. berghei* had a slower course than that with *P. yoelii*. After inoculation with *P. yoelii* parasites disappeared naturally, but with *p. berghei* all the mice died soon after the peak parasitemia.

Dai Zurui, Yan Xuchuan, Chen Lin, *et al.* J Parasitol Parasit Dis, 1983, 1(3): 138

安徽省淮北地区间日疟原虫的异常形态

间日疟原虫(*Plasmodium vivax*)红细胞内期的形态异常,国外早有报道^[1]。国内自60年代江静波等(1961, 1965)^[2,3]对广东的间日疟形态进行了系统的观察以来,河南(1965, 1982)^[4,7]、广西^[7]、安徽淮南(1981)^[5]和山东(1982)^[6]等地都先后发现间日疟原虫的异常形态、重复感染及不同期混合感染。1982年7~9月,我们在安徽省淮北市验证5-对氟苯氧基伯喹柠檬酸盐对间日疟患者的毒副反应时,在收治的139例间日疟患者中,也发现6例原虫形态与经典描述不一致,其中1例形态明显异常。现将观察结果报告如下。

观察方法

所有观察病例均为确诊的间日疟现症病人,近2周内未服过任何抗疟药物。取患者耳垂血制成厚、薄血膜。薄血膜用甲醇固定,待厚血膜自然干燥后一同用pH 7.2~7.4的磷酸盐缓冲液稀释的吉氏染液染色20~30分钟。油镜观察,按薄血膜100个白细胞视野范围计算原虫总数;并统计正常早期滋养体、双核早期滋养体、双核晚期滋养体和双重、多重感染数。重点观察双核早期滋养体和双核晚期滋养体以及双重感染的原虫形态。

结 果

在观察的139例患者中,原虫形态异常者6例,占4.32%。其中王××的血片中原虫感染率较高,原虫形态异常者也较多。在薄血膜100个白细胞视野范围内,共检得被感染的红细胞455个,其中双核早期滋养体17个,占3.74%;两个核以上的早期滋养体3个,占0.66%;双核晚期滋养体18个,占3.96%。现将其异常形态描述如下。

一、异常形态的早期滋养体

在双核早期滋养体中多数原虫的两个核呈圆形、等大,位于环的两端,但也有一大一小,或一核在环上,另一核不在环上者,偶见3~4个核。染色后核呈红色;胞质呈蓝色,多为环状,也可见条状、块状、翼状或碎片状。也有的胞质与核截然分离。被寄生的红细胞一般不胀大,也无薛氏小点(图1)。

二、异常形态的晚期滋养体

双核晚期滋养体两核多为圆形,大小相等,彼此相距较远。偶见有一大一小和相并列的核。胞质呈条状,或多块相连,比正常晚期滋养体粗、短。被寄生的红细胞明显胀大,有薛氏小点和疟色素。疟色素为褐黑色,短杆状,分布不均匀(图2)。

三、双重和多重感染

一个红细胞中有两个原虫寄生(双重感染)者查见9个红细胞(图3~5),占查见被感染红细胞总数的1.98%;一个红细胞中有3个原虫寄生(多重感染)者查见两个红细胞(图6),占查见被感染红细胞总数的0.44%。在双重感染中,以两个单核早期滋养体或一个单核和一个双核早期滋养体同时寄生于一个红细胞内为多见,也有两个双核早期滋养体同时寄生于一个红细胞内,偶见有3个单核早期滋养体同时寄生于一个红细胞内的。此外,还见到有3个大小不等的小核(图6)。无论双重或三重早期滋养体感染的原虫,它们多数处于同步发育阶段,但原虫的形态可不完全相似,如有的一个细胞质呈环状,而另一个细胞质为条状或翼状。被双重早

期滋养体寄生的红细胞均不胀大,而被双重晚期滋养体感染的红细胞则明显胀大(图5)。

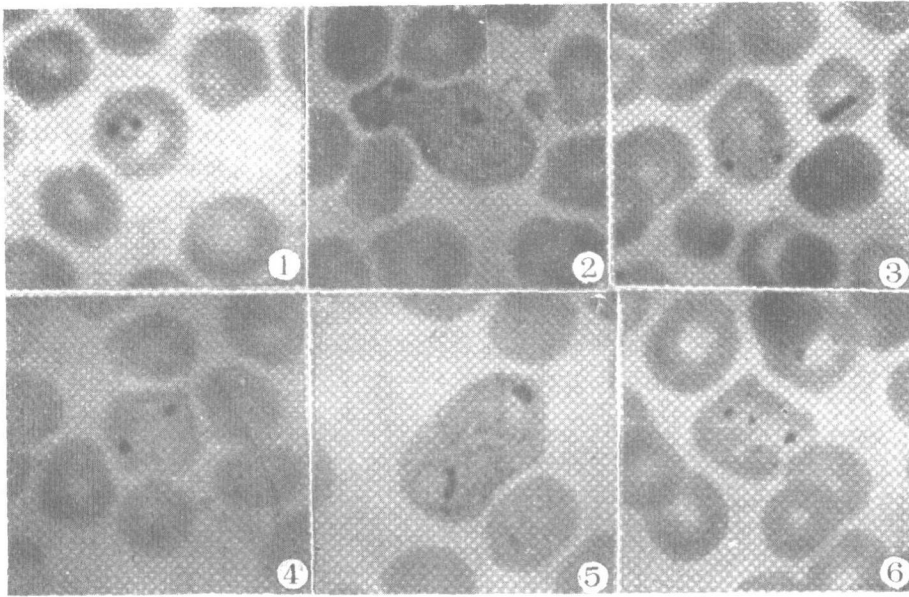


图1 间日疟原虫双核早期滋养体

图2 间日疟原虫双核晚期滋养体

图3、4 一个红细胞内有两个早期滋养体寄生(双重寄生)

图5 一个红细胞内有两个晚期滋养体寄生(双重寄生)

图6 一个红细胞内有3个早期滋养体寄生(多重寄生)

讨 论

我国间日疟原虫的异常形态,江静波等^[3]早就有报道,并于1965年命名为间日疟原虫多核亚种(*Plasmodium vivax multinucleatum*),其后张绍武(1965)^[4]、彭德华(1978)、沈继桢等(1981)^[5]和滕斌等(1982)^[6]相继报道了间日疟原虫形态变异,其主要特征是早期滋养体常见两个或两个以上的核;晚期滋养体细胞质呈块状,或多块相连的条状或带状,一般无伪足,重复感染多见等。杨柏林等(1982)^[7]在河南开封、广西南宁与百色等地对原虫形状进行了计量研究,观察结果显示两地双核疟原虫的检出率分别为63.2%和88.9%,双重感染检出率分别为61.8%和94.4%。双核早期滋养体和双核晚期滋养体在同期原虫中的百分率,河南为5.9%和1.4%,广西为9.2%和2.2%。我们在安徽省淮北地区也发现6例间日疟原虫形态异常,其特征与上述报道的描述相似,但双核疟原虫检出率和双重感染检出率较杨柏林等报道为低。但也说明1个间日疟原虫早期滋养体有两个核及两个早期滋养体寄生于1个红细胞的现象均较普遍。

钱永乐 戴祖瑞 陈 林等

第二军医大学学报,1984,5(1):67

参 考 文 献

- 1 Mohi-Ud-Din A, Rohim A. Abnormal forms of *Plasmodium vivax* in Pakistan. J Health, 1951, 1(3):9
- 2 江静波,等. 广东一种人体寄生疟原虫的特异形态研究. 中山大学学报(自然科学版), 1961, (2):7
- 3 江静波,等. 流行我国的间日疟原虫一新亚种 *Plasmodium vivax multinucleatum* subsp. nov. 中山大学学

报(自然科学版),1965,(1):131

- 4 张绍武. 河南省间日疟原虫多核亚种初步报告. 河南省地方病防治通讯,1965,(4):14
- 5 沈继桢,等. 安徽省首次发现特异形态间日疟原虫感染一例. 安徽医学院学报,1981,16(3):58
- 6 滕 斌,等. 山东省间日疟原虫红内期形态变异的初步观察. 山东中医学院学报,1982,6(增刊):94
- 7 杨伯林,等. 我国豫桂二地间日疟原虫的形态特征. 动物学研究,1982,3(增刊):173

伯氏疟原虫 ANKA 株红前期的初步观察

提要 将含有伯氏疟原虫 ANKA 株孢子的斯氏按蚊涎腺制成悬浮液,经尾静脉注入小鼠(C₅₇BL、ICR/JCL 和昆明株)和大鼠,46~47 小时后在大鼠和小鼠的肝组织切片中均找到红前期裂殖体,呈椭圆形,大小为 $8.07\ \mu\text{m} \times 16.13\ \mu\text{m} \sim 25.80\ \mu\text{m} \times 30.54\ \mu\text{m}$ 。

伯氏疟原虫红前期的研究对于了解疟原虫生物学特性和疟疾病因性预防药物的筛选具有重要意义。对此,国外已做了不少工作^[1,2]。但国内至今仅见陈林等(1981)^[3]报道了约氏疟原虫 BY265 株的红前期的初步观察。我们于 1983 年建立了伯氏疟原虫 ANKA 株-斯氏按蚊-小鼠模型。与此同时,对伯氏疟原虫 ANKA 株的红前期进行了初步观察,结果报告如下。

材料和方法

一、原虫

伯氏疟原虫 ANKA 株,1981 年 10 月从英国伦敦卫生与热带医学院医学原虫学系引进。

二、蚊虫

斯氏按蚊(*Anopheles stephensi*)1973 年引自英国伦敦 Horton 医院,定名为 HOR 株,1974 年转引自中国预防医学中心寄生虫病研究所。感染伯氏疟原虫 ANKA 株后,饲养于实验室内($20 \pm 1^\circ\text{C}$, 80 % RH)。

三、实验动物

C₅₇BL 小鼠(近交小鼠):17 g,ICR/JCL 小鼠(近交小鼠):20 g,昆明株小鼠(远交小鼠):19 g,大鼠 100 g 左右。

四、孢子的收集、制备与感染实验动物

斯氏按蚊经饲血感染伯氏疟原虫 ANKA 株后,在实验室饲养 14~18 天,解剖出蚊虫涎腺制成悬浮液。孢子悬浮液保持在 4°C 冰浴中,用 10 % 小鼠血清加 Locke 液或 M 199 或 RPMI 1640 培养液作为保护剂,经尾静脉接种小鼠或大鼠。从解剖按蚊涎腺起至感染实验动物,在 2 小时内完成。

五、组织切片

感染孢子后 46~47 小时将受试动物杀死,在无菌条件下取出肝脏,用 Carnoy 液固定(固定液在使用前临时配制)1 小时左右。用石蜡包埋组织切片法制片,每片厚 $4\ \mu\text{m}$,用 Giemsa-Colophonium 法^[4]染色,Euparal 封片,镜检疟原虫红前期裂殖体。

结 果

接种伯氏疟原虫 ANKA 株孢子(每只大鼠 7.5×10^5 个,每只小鼠 $1.3 \times 10^5 \sim 2.0 \times 10^5$ 个)后 46~47 小时,在小鼠(C₅₇BL,ICR/JCL,昆明株)和大鼠的肝组织切片中均找到了红前期裂殖体(图 1~4)。由图可见 4 种实验动物肝脏内红前期裂殖体均含有大量的裂殖子,原生质凝聚成块,裂殖体内含有大小不同的空泡,并可见许多小空泡围绕着原生质凝块,被寄生的肝细胞胀大,有时可见肝细胞核偏于一边(图 3)。当用偏酸性溶液配制染液时,则清晰可见裂殖子的核呈点状,色稍红(图 2、4),但如用中性溶液配制染液时,则裂殖体染成深蓝色,裂殖子的