

杜氏利什曼原虫体内ACP酶的研究*

李国茹 吴远祥

(四川省医学科学院寄生虫防治研究所, 成都)

摘要 用酶组织细胞化学技术检测杜氏利什曼原虫(*Leishmania donovani*)犬分离株的无鞭毛体和前鞭毛体的酸性磷酸酶(*Acid phosphatase*), 结果仅在无鞭毛体体内检测出该酶活性。

关键词 利什曼原虫 酸性磷酸酶 酶组织细胞化学技术

利什曼原虫在巨噬细胞(M)内的寄生机理目前仍不太明了, 有人认为与利什曼原虫自身的某些酶有关。酸性磷酸酶(简称ACP酶)被视为溶酶体的标志酶, 可用酶组织细胞化学技术检测出来。为了了解杜氏利什曼原虫的无鞭毛体和前鞭毛体体内是否存在溶酶体酶, 用此技术对*Leishmania donovani*犬分离株原虫进行了ACP酶的研究。

1 材料和方法

1.1 虫源标本 取自四川汶川县感染内脏利什曼病的病犬。无鞭毛体标本的制作系取病犬骨髓直接涂片。前鞭毛体标本系取病犬骨髓分离接种于NNN培养基, 经转种培养至对数生长期, 洗涤离心后涂片。

1.2 方法 采用的金属盐法(Gomori法)基本按文献〔1〕操作, 仅将漂洗液改为生理盐水, 固定液改为4%甲醛溶液或0.02mol/L硫酸铜溶液。对照片除孵育液中不加底物外, 操作步骤与试验片相同。标本经金属盐法处理后, 再用Giemsa染液复染。

2 结果

2.1 前鞭毛体 经金属盐法处理的前鞭毛体, 其形态和结构同常规Giemsa染色标本没有区别, 虫体内不存在显示ACP酶活性的黑色或褐色颗粒。

2.2 无鞭毛体 试验片上, 游离的和在M内的无鞭毛体胞浆中均含有黑色的颗粒(显示ACP酶活性的部位)。虫体内的ACP酶颗粒数一般为1—2个, 个别虫体多达4个。酶颗粒均一, 形状规则, 大小似间日疟原虫的疟色素颗粒, 以沿虫体边缘分布和位于核侧多见(见图)。

单核白细胞和直径约20 μm未寄生原虫的M胞浆中都含有分布均匀的黑褐色酶颗粒, 但被原虫寄生的M, 有的ACP酶活性颗粒聚集成1—3个大的团块, 呈褐色或浅褐色, 有的则已没有酶颗粒。此外, 有的M除有原虫寄生外同时还含有白细胞裸核和其它的残骸碎片。

2.3 不同固定液的比较 用甲醛溶液或硫酸铜溶液作标本固定液检出原虫ACP酶活性的结果一致, 但以硫酸铜溶液固定的骨髓细胞形态好些。

3 讨论

用金属盐法检测的结果, 发现在杜氏利什曼原虫犬分离株的无鞭毛体体内存在较强的ACP酶活性, 但未检出前鞭毛体有此酶活性。这种差异说明同株原虫在生活史的不同阶段

*本工作得到张选明、陈智、刘光惠、汪少英同志的支持, 特此一并致谢。

不仅有形态结构上的区别，可能还有些化特性方面的不同。从无鞭毛体体内检测到ACP酶，表明无鞭毛体体内存在溶酶体，无鞭毛体能够在M 内逃避杀伤并生长繁殖，虫体内的溶酶体酶可能起了重要作用。然而起作用的系何种酶，为单一酶还是多种酶参与，以及其作用方式等等，这些问题有待进一步研究。

从ACP酶颗粒呈色的深浅，可判断出无鞭毛体的ACP酶活性强于单核白细胞和正常M 。被原虫寄生的M ，或酶颗粒聚集色变浅，或不含酶颗粒，这一点同Alexander [2] 在感染了*Leishmania mexicana*原虫的小白鼠的M 中观察到的结果一致。这一现象提示M 的ACP酶活性受利什曼原虫寄生的影响。在寄生了原虫的M 中含白细胞裸核及细胞碎片的现象，表明在利什曼病感染过程中M 对异物仍具吞噬能力。

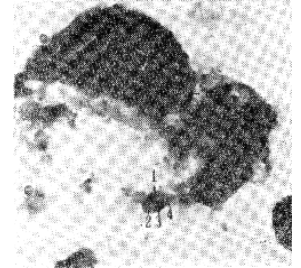


图 金属盐法处理后的杜氏利什曼原虫无鞭毛体 (1. 原虫核 2、4. ACP酶颗粒 3. 原虫动基体)

4 参考文献

- 1 小川和郎 中根一穗 主编 钟慈声 主译 酶组织细胞化学技术第一版 上海医科大学出版社 1989年5月 111
- 2 Alexander J. Fate of *Leishmania mexicana amastigotes* in cultured mouse macrophages. Trans R Soc Trop Hyg 68 : 273, 1974

四川省南江县蚊种调查

王成第

(南江县卫生防疫站)

1984年4月、1990年10月，我们在南江县海拔最高1 525米，最低186米地桃园、正直、玉堂水库、沙河洛坪、金盆、碾盘、城郊、光明、魏家坝等8个乡镇、18个村的不同生境作蚊类调查，采集蚊虫标本4 475只，制成雄蚊尾器100张，经培养制作幼虫皮、蛹皮和蚊的标本300份。经四川省寄生虫病防治研究所鉴定得蚊类5属，10个亚属，26个蚊种。名录如下：

1. 林氏按蚊 *An. (Ano.) lindesayi* ; 2. 中华按蚊 *An. (Ano.) sinensis* ; 3. 微小按蚊 *An. (Cel.) minimus* ; 4. 帕氏按蚊 *An. (Cel.) pattoni* ; 5. 刺扰伊蚊 *Ae. (Adm.) vexans* ; 6. 银雪伊蚊 *Ae. (Fin.) albonivens* ; 7. 棘刺伊蚊 *Ae. (Fin.) elsiae* ; 8. 双棘伊蚊 *Ae. (Fin.) hatorii* ; 9. 日本伊蚊 *Ae. (Fin.) japonicus* ; 10. 金叶伊蚊 *Ae. (Fin.) oreophilus* ; 11. 美腹伊蚊 *Ae. (Fin.) pulchriventer* ; 12. 骚扰阿蚊 *Ar. (Arm.) subalbatus* ; 13. 二带喙库蚊(麻翅库蚊) *Cx. (Cux.) bitaeniorhynchus* ; 14. 棕盾库蚊(吉氏库蚊) *Cx. (Cux.) jacksoni* ; 15. 斑翅库蚊(拟态库蚊) *Cx. (Cux.) mimeticus* ; 16. 类斑翅库蚊 *Cx. (Cux.) murrelli* ; 17. 小斑翅库蚊(小拟态库蚊) *Cx. (Cux.) mimulus* ; 18. 淡色库蚊 *Cx. (Cux.) pipiens pallens* ; 19. 致倦库蚊 *Cx. (Cux.) pipiens quinquefasciatus* ; 20. 三带喙库蚊 *Cx. (Cux.) tritaeniorhynchus* ; 21. 迷走库蚊 *Cx. (Cux.) vagans* ; 22. 薛氏库蚊 *Cx. (Cux.) shebbearei* ; 23. 贪食库蚊 *Cx. (Lut.) halifaxii* ; 24. 林氏库蚊 *Cx. (Eum.) hayashii* ; 25. 马来库蚊 *Cx. (Eum.) malayi* ; 26. 银带脉毛蚊 *Cs. (Cus.) niveitaeniata*.