

草原革蜱各发育阶段 对驽巴贝斯虫传播能力的研究*

白 启 刘光远 韩根凤

(中国农业科学院兰州兽医研究所, 兰州 730046)

摘 要 将实验室培育好的“清洁”草原革蜱成虫, 释放到驽巴贝斯虫单一种人工感染的驴体上, 使其自行叮咬吸血, 俟雌虫饱血脱落后, 置 28℃、相对湿度约 90% 的温箱中产卵孵化。而后用次代 3 个不同发育阶段的蜱, 分别叮咬除脾或非除脾健康易感驴。试验结果表明, 草原革蜱在成虫阶段被驽巴贝斯虫感染, 并经卵传递。次代幼虫、若虫和成虫都具有传播该种病原的能力。另外, 还发现在草原革蜱卵内发育的驽巴贝斯虫, 对易感宿主动物也具有感染性。

关键词 驽巴贝斯虫, 草原革蜱, 经卵传递

据文献记载, 驽巴贝斯虫 (*Babesia caballi*) 的媒介蜱有 3 属 14 种, 其中草原革蜱 (*Dermacentor nuttalli*) 在国外仅前苏联有过报道^[1,2]。而在我国, 该种蜱分布极为广泛, 是驽巴贝斯虫的主要媒介蜱^[3], 但其传播方式迄今未见系统记述, 仅知病原可经卵传递, 次代成虫具有传播能力^[2,4]。本文报道草原革蜱被驽巴贝斯虫感染的发育阶段、不同世代各变态期的蜱所具有的传播能力以及卵内发育阶段的虫体对宿主动物的感染性。

1 材料和方法

1.1 供试虫种 驽巴贝斯虫和马巴贝斯虫 (*B. equi*) 原始混合虫种采自黑龙江省肇源县, 笔者等采用生物学方法从混合种分离出驽巴贝斯虫单一种, 在本实验室用液氮保藏。

1.2 媒介蜱 草原革蜱采自安全地区的羊体, 在家兔体连续繁殖了 5 代, 其中 4 代和 5 代的成虫在健康易感驴体上繁殖, 试验驴经 30 d 反复检查均未遭感染。确认是不带病原的“清洁”蜱后, 方用于本试验。

1.3 试验动物 驴, 2~3 岁, 购自安全地区。除 T-202 号和 T-305 号驴, 其它均在试验前 1 个月左右手术摘除脾脏。每头驴的血液涂片经反复多次检查, 均无特异病原感染。试验驴在无蜱环境下隔离饲养, 当用蜱进行叮咬感染试验时, 动物均圈在铁栅栏内, 其外有注满杀虫药水溶液的水泥槽围绕, 用以防止蜱偶然出入。

1.4 药物 氢化泼尼松注射液, 上海第九制药厂出品, 批号 910904; 地塞米松磷酸钠注射液, 江西赣南制药厂出品, 批号 910314。

1.5 卵内虫体悬液制备 将 10 只感染饱血雌虫 (脱落自 T-201 号驽巴贝斯虫人工感染驴) 所

* 国家自然科学基金资助项目之一。胡弘博、周俊英同志参加了部分试验, 特致谢意。

** 收稿日期 1993-07-20。

产的卵,在加有双抗的灭菌无离子水中离心(500r/min)5 min,弃上清液,反复3次。洗涤后的卵置玻璃乳钵中加适量生理盐水研磨,而后再用生理盐水稀释,经G3过滤器过滤,除去卵壳和较大颗粒。滤液离心(3000r/min)10min,利用微型真空泵抽去上清液,留下所需量,置旋涡混合器上震荡,使之成为虫体悬液,用于静脉接种易感动物。

1.6 感染评价 逐日测温并由耳尖采血涂片,姬姆萨染色,观察虫体出现的时间,计算染虫率,并观察临床症状和死亡后的病理变化。

1.7 试验步骤 取液氮保藏的犛巴贝斯虫虫体悬液4ml,通过皮下接种T-201号驴,待血液涂片中查到虫体后,将“清洁”草原革蜱成虫释放到用锌明胶粘贴在该头驴体上的布袋中,使其自行叮咬(此时开始肌注泼尼松或地塞米松3~5d,下同)。俟饱血脱落后,置28℃、相对湿度约90%的温箱中,使其产卵孵化用卵研磨滤液接种T-202号驴;用次代幼虫、若虫和成虫,分别叮咬感染T-203、T-204和T-205号驴;用第3代若虫叮咬T-306号驴。

2 试验结果

2.1 卵内虫体悬液接种试验 利用上述方法制备的草原革蜱卵内发育阶段的犛巴贝斯虫虫体悬液20ml,通过静脉接种给T-202号驴。于接种后第9d的血液涂片中查到了犛巴贝斯虫,第14d染虫率达0.08%的高峰,随后下降。虫体形态和大小与Levine(1985)^[5]的记述以及与Schein(1988)^[1]所提供的照片相同。虫体出现后的次日,体温即达40.2℃的高峰,高烧持续4d。试验动物出现食欲减退,精神沉郁等临床症状,最后耐过自愈。

2.2 次代幼虫传播试验 由T-201号驴体脱落的饱血雌虫(吸血期间宿主动物的染虫率在0.01%~0.2%之间),待其产卵并孵出幼虫后,一部分饲喂在家兔体上,另用10只饱血雌虫的次代幼虫(未记数)饲喂在T-203号驴体上。从第4d开始,幼虫陆续饱血脱落,仅收集到10478只饱血幼虫。该头驴在蜱叮咬后第20d的血液涂片中才发现犛巴贝斯虫,第28d染虫率达0.61%的高峰。虫体出现后4d,体温才升至39℃以上,最高达40.2℃,高烧持续6d,一直到第30d突然死亡。死前出现犛巴贝斯虫病的典型临床症状,死后剖检也观察到典型的病理变化。这一试验结果进一步证实,草原革蜱成虫阶段可被犛巴贝斯虫经肠道感染(Alimentary infection)并能经卵传递。

2.3 次代若虫传播试验 上述家兔体上饱血的幼虫蜕化为若虫后,一部分仍饲喂在家兔体上,另用300只若虫叮咬感染T-204号驴。第7d开始饱血脱落,共收集到295只饱血若虫。在蜱叮咬后第11d的血液涂片中发现了犛巴贝斯虫典型虫体,第15d染虫率升至0.17%的高峰。虫体出现的当天,体温亦升高,次日升至40.1℃,随后的两天有所下降,第16d复又升至40.4℃的高峰。临床症状明显,第17d迫杀。

2.4 次代成虫传播试验 待上述兔体脱落的饱血若虫蜕变为成虫后,利用100只饥饿成虫(雌雄各半)叮咬感染T-305号驴。第10d雌虫开始饱血脱落,共收集到42只饱血雌虫。在蜱叮咬后第9d的血液涂片中查到了犛巴贝斯虫虫体,第14d染虫率达0.81%的高峰。个别红细胞寄生有4个梨形虫体,有时可在血浆中观察到由红细胞中逸出的游离虫体。发现虫体的当天,体温开始升高,第13d升至40℃,随后稍降,第16d又升至40.5℃的高峰。该头驴出现非常明显的临床症状,最后食欲废绝,于感染后的30d死亡。剖检观察到典型的病理

变化。

2.5 第3代若虫传播试验 利用500只3代若虫(第2代幼虫至第3代幼虫的各发育阶段, 均饲喂在非易感宿主家兔体上, 再未重新吸入病原)叮咬感染 T-306 号驴。该头试验驴也遭到了感染, 其它结果见表。这一试验结果表明, 草原革蜱可被驢巴贝斯虫垂直感染 (Vertical infection)。

表 不同阶段草原革蜱对驴传播驢巴贝斯虫的试验结果

Table The result of the experiment with the transmission of *Babesia caballi* to donkey by *Dermacentor nuttalli* of different stages

驴号 Donkey No.	媒介蜱 Vector ticks		虫体反应 Parasites response		体温反应 Temperature response		转归 Cause
	发育阶段 Stage	数量 No.	潜隐期 Prepatent period (days)	最高染虫率 Maximum parasitaemia (%)	最高体温 Maximum temp. (°C)	持续期 Duration (days)	
202	卵内虫体 Parasites in eggs	未计数 Uncounted	8	0.08	40.2	4	自愈 Recovered
203	次代幼虫 Second generation larvae	未计数 Uncounted	19	0.60	40.2	6	死亡 Died
201	次代若虫 Second generation nymphs	300	10	0.17	40.4	5	追杀 Killed
305	次代成虫 Second generation adults	100	8	0.81	40.5	5	死亡 Died
306	第3代若虫 Third generation nymphs	500	9	0.61	40.3	5	自愈 Recovered

3 结论

- 3.1 试验结果表明, 草原革蜱被驢巴贝斯虫感染有两种方式: 肠道感染和垂直感染。
- 3.2 进一步证实, 驢巴贝斯虫可通过草原革蜱经卵传递。
- 3.3 草原革蜱次代幼虫、若虫和成虫3个发育阶段都具有传播该种病原的能力。
- 3.4 卵研磨悬液人工接种试验结果表明, 在草原革蜱卵内发育阶段的驢巴贝斯虫, 对易感宿主动物也具有感染性。

4 论 讨

草原革蜱对犛巴贝斯虫的传播能力早已被证实, 但仅知病原可由该种蜱经卵传递, 次代成虫才具有传播能力^[2,4]。本试验除获得了与上述相同的结果而外, 还首次证实, 草原革蜱的幼虫和若虫也具有传播犛巴贝斯虫的能力。Stiller 等 (1979)^[6]利用一宿主蜱——马耳暗眼蜱 *Anocentor nitens* (=光亮革蜱 *Dermacentor nitens*) 对犛巴贝斯虫进行了传播试验, 该作者将饲喂在易感宿主动物体上的感染幼虫, 在其饱血蜕皮之前用镊子摘下, 并把仍留在动物体上的蜱用杀虫剂杀死, 终止感染。待摘下的饱血幼虫蜕皮后, 利用上述方法再进行若虫的感染试验, 成虫亦然。试验结果表明, 该种蜱在幼虫、若虫和成虫阶段都具有传播病原的能力。我们用3宿主蜱—草原革蜱传播犛巴贝斯虫所得结果与此相同。这一传播方式也与 Joyner 等 (1963)^[7]和 Donnelly 等 (1975)^[8]用蓖子硬蜱 (*Ixodes ricinus*) 传播分歧巴贝斯虫 (*B. divergens*)、Brooklesby 等 (1973)^[9]和 Morzaria 等 (1977)^[10]用刻点血蜱 (*Haemaphysalis punctata*) 传播大巴贝斯虫 (*B. major*)、白启等 (1992)^[11]用长角血蜱 (*H. longicornis*) 传播卵形巴贝斯虫 (*B. ovata*) 时所证实的传播方式相同。

一般认为, 蜱传性血液原虫, 病原在其媒介蜱的唾液腺中发育成孢子 (Sporozoite), 此时才具感染性, 并由蜱天然地传递给宿主动物, 宿主动物也能够通过人工接种含虫血而获得感染。Dalgliesh 等 (1978)^[12]将感染有牛巴贝斯虫 (*B. bovis*) 和双芽巴贝斯虫 (*B. bigemina*) 的微小牛蜱 (*Boophilus microplus*) 的卵研磨制成悬液, 经静脉接种给易感除脾牛时获得了阳性结果。Stiller 等 (1979)^[6]用感染有犛巴贝斯虫的光亮革蜱卵, 研磨并制成悬液后经静脉接种给矮种马, 也获得了成功。本试验利用感染有犛巴贝斯虫的草原革蜱卵的研磨滤液, 经静脉接种的健康易感驴也遭到了感染。这一试验结果, 尽管在流行病学上没有什么意义, 但对虫种资源库的建立却具有很大的适用价值, 或许在疫苗和抗原的制造上也将具有潜在的利用价值。

Dalgliesh 等 (1978)^[12]和 Stiller 等 (1979)^[6]用卵研磨悬液经静脉接种的部分牛和马死于急性休克。为了避免这一情况的发生, 本试验用 G₂ 滤器过滤卵研磨悬液, 用以除去卵壳和较大颗粒, 利用此种滤液静脉接种试验动物, 安全、省事且有效。

Dalgliesh 等 (1978)^[12]认为, 卵内发育阶段的虫体, 只有经高的环境温度刺激后才具有感染性, 因而他将卵在30℃、37℃下保持数天后才制备悬液。但本试验所用的卵一直保持在28℃的温度下, 而其卵内发育的虫体同样具有感染性。这一差别也可能与虫种的特性有关。

Ермова 等 (1964)^[13]在论及犛巴贝斯虫时提到, 在自然条件下, 革蜱的幼虫和若虫不叮咬马匹, 因而没有什么流行病学意义。但本试验证实, 草原革蜱的幼虫和若虫却可以在驴体上叮咬, 且具有传播犛巴贝斯虫的能力。鉴于此, 对草原革蜱幼虫和若虫的流行病学意义还有待进一步探讨。

我们试图使当年草原革蜱成虫提前结束“滞育期”, 遂将其置于-5℃冰盒中“越冬”, 45 d后用以叮咬健康驴, 经30 d观察, 蜱虽叮附但一直未吸血变大, 有趣的是该头驴仍然遭到了感染, 在第12 d的血液涂片中发现了典型犛巴贝斯虫, 最高染虫率仅达0.04% (试验结果中未列入)。这一结果表明, 感染蜱只要在易感动物体上叮附, 就可将病原传递给宿主。

参 考 文 献

- [1] Ristic M. Babesiosis of domestic animals and man, CRC Press, Inc. Boca Roton, Florida, 1988, 23~52, 197~208.
- [2] 牛泰勒焦虫病的研究编写组编, 牛泰勒焦虫病的研究. 宁夏人民出版社, 1980, 82~84.
- [3] 李德昌. 我国马梨形虫病及其传播者—蜱的地理分布. 军兽医大学学报, 1986, 6(3):279~283.
- [4] 周源昌. 黑龙江省西部草原地区马焦虫病的传播者—蜱的属性鉴别及其生物学试验. 东北农学院学报, 1962, 1:74.
- [5] Levine N D. Veterinary Protozoology, Iowa State University Press, Ames, 1985, 300~301.
- [6] Stiller D et al. Experimental transmission of *Babesia caballi* to equids by different stages of the tropical horse tick, *Anocentor nitens*. Recent advances in acarology, 1979, 2:263~268.
- [7] Joyner L P et al. The experimental transmission of *Babesia divergens* by *Ixodes ricinus*. EXP Parasito, 1963, 14:367~373.
- [8] Donnelly J et al. Experimental on the transmission of *Babesia divergens* to cattle by the tick *Ixodes ricinus*. Int. Parasito, 1975, 5(3):363~376.
- [9] Brocklesby D W et al. *Babesia major* in britain tick transmitted infections in splenectomised calves. Res. Vet. Sci, 1973, 14:47~52.
- [10] Morzaria S P et al. Experimental transmission of *Babesia major* by *Haemaphysalis punctata*. Res. Vet. Sci, 1977, 23:261~262.
- [11] 白 启等. 牛血孢子虫单一种的分离技术及其保藏方法的研究—卵形巴贝斯虫的传播试验. 畜牧兽医学报, 1992, 23(2):166~171.
- [12] Dalgliesh R J et al. The extraction of infective *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* from tick eggs and *B. bigemina* from unfed iarval ticks. Aust. Vet. J, 1978. 54(9):453~454.
- [13] Ершов В С и др. Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных. Изд. КОЛОС, Москва, 1964, 370.

**RESEARCH ON THE ABILITY OF VARIOUS DEVELOPMENT
STAGES OF DERMACENTOR NUTTALLI TO
TRANSMIT BABESIA CABALLI**

Bai Qi, Liu Guangyuan, Han Genfeng
(Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy
of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046)

Abstract

The "clean" adult *Dermacentor nuttalli* cultivated in the lab are allowed to bite and take blood from the donkey infected by the single species of *Babesia caballi*. When the female *Dermacentor nuttalli* have taken enough blood and taken off the donkey's body, they are put into the incubator to oviposit and incubate with the temperature at 28°C and R. H. at 90%. Then the *Dermacentor nuttalli* at three different stages of development are allowed to bite the splenectomized donkey and the unsplenectomized donkey respectively. The experiment shows that *Dermacentor nuttalli* transmits *Babesia caballi* to donkey by transovarian transmission. The second-generation larvae, nymphs and adults are all capable of transmitting the pathogeny. It has also been discovered that the *Babesia caballi* developed in eggs of *Dermacentor nuttalli* are capable of infecting the host animal.

Key words *Babesia caballi*, *Dermacentor nuttalli*, Transovarian transmission