

应用比色法测定蚊虫摄血量

刘燕明 孔德芳 王瑞芳

(北京第二医学院寄生虫学教研组)

估测蚊虫的摄血量对某些蚊媒病的流行病学和有关蚊虫生理学研究均有一定参考价值。前人曾应用称重法和放射性同位素示踪技术来测定蚊虫摄血量 (Clements, 1963)。我们曾采用酸化血色素稀释比色法(简称比色法)对3种较常见的实验室蚊虫——白纹伊蚊、中华按蚊和斯氏按蚊的摄血量进行了初步测定,并与称重法进行了比较,现简介如下。

材料与方 法

以小白鼠或豚鼠饲喂3—5日龄的白纹伊蚊 (*Aedes albopictus*)、中华按蚊 (*Anopheles sinensis*) 或斯氏按蚊 (*An. stephensi*), 先用称重法对吸血蚊的摄血量进行初测,然后用比色法复测。

1. 称重法 每种蚊虫各取两笼,饥饿24小时左右,一笼不饲血为对照,另一笼饲血,饲血时间不超过1小时。从两笼中分别取出未吸血雌蚊和吸血蚊,均以3—5只为一组,麻醉后在分析天平上称重,操作在蚊虫血餐后1小时内完成。最后以吸血蚊各组的体重均值与对照雌蚊的平均体重之差为摄血量测定值。

2. 比色法 以原称重组为单位,截取吸血蚊腹部,放入小玻管内捣碎,加入0.1N盐酸5滴,搅匀后,用蒸馏水稀释到一定量,并以吸管除去较大的蚊虫组织碎片;另取数目相同的未吸血雌蚊(本实验中为对照蚊的称重中值组),依同法制备空白液;然后进行光电比色。另于供血前从供血动物尾部或耳部取定量血(由微量进样器准确取得),也同样加入5滴0.1N盐酸并用蒸馏水稀释,制得标准物;其空白为蒸馏水加少量盐酸。血量与光密度关系的参考标准曲线在预试中测定,在直线段内进行实验。比色系统为581-G型光电比色计(应用紫色滤光片)和721型分光光度计(因仪器误差,本实验中应用了样品实测吸收峰附近的390毫微米波长)。最后以光密度测定值确定蚊虫的摄血量。

实 验 结 果

3种蚊虫各一批的典型测定结果如下:白纹伊蚊对照雌蚊100只,吸血蚊55只(均以5只为一组测定),其平均体重分别为1.74mg/只和4.69mg/只,净摄入量约为2.95mg/只;中华按蚊对照雌蚊33只,吸血蚊30只(均以3只为一组),其平均体重分别为2.13mg/只和5.41mg/只,净摄入量为3.28mg/只;斯氏按蚊对照雌蚊48只,吸血蚊44只(均以4只为一组),其平均体重分别为1.40mg/只和3.41mg/只,净摄入量为2.01mg/只。所用两种光电比色系统测得的蚊虫摄血量彼此无显著差异 ($P > 0.05$),均明显高于对应称重法所得结果。结果分别为:白纹伊蚊3.6 μ l/只,中华按蚊4.3—4.4 μ l/只,斯氏按蚊2.9—3.0 μ l/只。具体测定数值见表1。两法结果按血液比重为1.050统一单位后,进行统计处理,差异非常显著 ($P < 0.001$)。本实验所应用的吸血蚊摄血一般均较充分,测定值的分布情况见图1所示,初步结果显示,除白纹伊蚊和中华按蚊的个别测样的两法测定结果较接近外,其余测定值均以比色法明

本文于1981年9月收到。

本工作承蒙我组张志敏、军事医学科学院时云林、王淑芬等同志提供蚊虫,特此致谢。

显为高。

表 1 3 种蚊虫的平均摄血量——称重法和比色法测定结果比较 ($\bar{X} \pm SD$)

蚊 种	称 重 法		比 色 法	
	结 果 (mg/只)	折合容量 (μ l/只)	光电比色计结果 (μ l/只)	分光光度计结果 (μ l/只)
白纹伊蚊	2.95 ± 0.31	2.81 ± 0.30	3.60 ± 0.27	3.59 ± 0.30
中华按蚊	3.28 ± 0.41	3.12 ± 0.39	4.31 ± 0.62	4.38 ± 0.60
斯氏按蚊	2.01 ± 0.41	1.92 ± 0.39	2.91 ± 0.24	2.98 ± 0.21

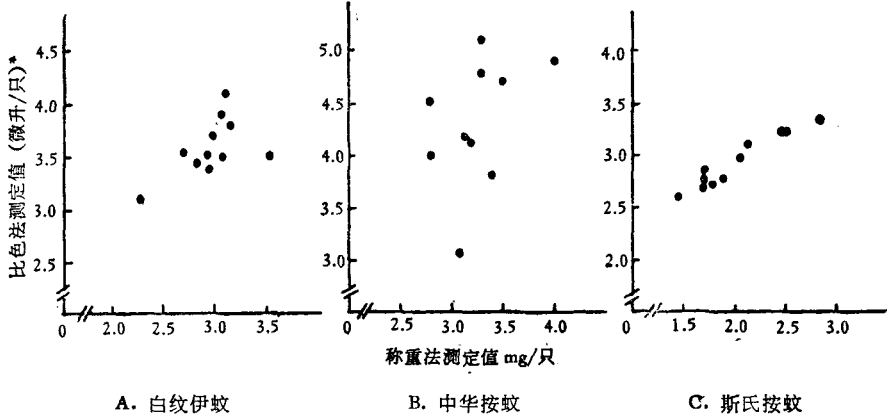


图 3 种蚊虫摄血量测定结果的分布情况
* 581-G 型光电比色计(紫色滤光片)测定值

实验中观察到 3 种蚊虫吸血后 5—10 分钟有排水样液滴行为，一般每分钟排 0.5—8 滴。斯氏按蚊血餐后排水样液滴行为似稍早于另两种蚊虫，其排滴数也较少，饱餐者仅几十滴，一般在半小时内结束；白纹伊蚊和中华按蚊饱餐者可排 100 多滴，排滴持续时间较长，在血餐后 1 小时仍可见一些蚊虫在排滴。此现象与本实验中 3 种蚊虫摄血量的测定结果基本符合，并表明蚊虫血餐后滴有明显的血管浓集效应。

斯氏按蚊和部分中华按蚊在吸血同时尚可排出一些血性液体。

讨 论

Boorman 氏(1960)曾观察了埃及伊蚊吸血后不久排水样液滴的行为，他应用称重法和放射性 ^{144}Ce 示踪法测定了埃及伊蚊的平均摄血量，两法测定数值差距很大，分别为 2.5—2.7 μ l/只和 4.2 μ l/只，其差额大约相当于蚊虫吸血后不久排出的水样液体量（近 1.5 μ l/只）也即称重所得的净摄入量及排出液量的和与放射性同位素示踪法的测定值基本一致。本实验观察到白纹伊蚊、中华按蚊和斯氏按蚊在吸血后不久也有排水样液体的行为，这提示蚊虫血餐后浓集可能是一种较普遍的行为，它对吸血蚊自身的运动等是有利的，但使应用称重法测定蚊虫摄血量遇到了一定的困难，往往造成称重所得结果偏低。本实验中，蚊虫称重时距吸血结束约 10—100 分钟，吸血蚊多已排出了水样液体，故用称重法测得的蚊虫摄血量结果明显偏低，这与 Boorman 氏的测定结果是类似的。

利用放射性同位素示踪技术测定蚊虫摄血量，不仅需要一定的实验室设备和条件，而且还需考虑示踪物质的分布情况，否则测定结果偏差较大。De Freitas 和 Silveira Gudes 二氏(1961)曾把 ^{59}Fe 注入

供血动物,测定致乏库蚊 (*Culex pipiens fatigans*) 的摄血量,结果显示这种体重约 2.2mg, 净摄入重量仅 3.3mg 的库蚊竟平均摄入了 10 μ l 的血液,最高甚至超过 16 μ l; 这个结果令人难以置信。我们曾把含 ^3H 的药液注入供血小鼠,利用常规液体闪烁计数技术测定白纹伊蚊的摄血量,发现同是摄血较充分的蚊虫,其摄血量测定结果竟可分别为 3.4 μ l/只和 6.6 μ l/只(均为 4 只蚊虫的平均摄血量,我组实验资料)。我们初步分析系标记物在血中分布不均所致; De Freitas 和 Silveira Gudes 二氏的测定结果可能也与此有关。总之,放射性同位素示踪技术本身的特点以及用来测定蚊虫摄血量时的复杂性,使得它很难常规应用。

本实验引用的比色法所计量的是血色素,为血液本身所固有的组分,可较直接地反映蚊虫摄取的血红蛋白或红细胞的量,并基本不受蚊虫血餐浓集的影响,其结果对某些蚊媒病(如疟疾)的流行病学和蚊虫有关生理学研究有较大的参考价值。在应用比色法进行预试时发现,此法测定结果基本不受蚊虫血餐消化的影响,自蚊虫吸血后,直到棕褐色的血餐残渣排泄之前的若干小时内,其测定结果均比较稳定,这就为操作提供了充裕的时间;并且此法的特异性也较好,如一些仅吸食组织液的中华按蚊(净摄入量均超过 2mg/只),经比色法测定,其摄血量测定值均接近于 0。鉴于以上特点,比色法显然是一种测定蚊虫摄血量的较理想的方法,并可供测定其它吸血昆虫的摄血量时参考。

参 考 文 献

- Boorman, J. P. T. 1960 Observation on the feeding habits of the mosquito *Aedes aegypti*: the loss of fluid after a blood-meal and the amount of blood taken during feeding. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 54: 8—14.
- Clements, A. N. 1963 The physiology of mosquitoes. Pergamon Press. p. 129.
- De Freitas, J. R. and A. Silveira Guedes 1961 Determination by radioactive iron (^{59}Fe) of the amount of blood ingested by insects. *Bull. WHO*, 25: 271—3.

DETERMINATION BY HAEMOCHROME COLORIMETRY OF THE AMOUNT OF BLOOD TAKEN BY MOSQUITOES

LIU YAN-MING, KONG DE-FANG, WANG RUI-FANG
(Beijing Second Medical College)