

WSTĘPNE BADANIA ROLI KOMARÓW LEŚNYCH W FORMOWANIU ODPORNOŚCI PRZECIWZAKAŻNEJ W POPULACJI ŻYWICIELI

ZBIGNIEW ŻÓLTOWSKI i BARBARA K. STEJGWILŁO-LAUDAŃSKA

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Warszawa

W Polsce z odławianych w naturze komarów należących do rodzajów *Anopheles*, *Aedes* i *Culex* izolowano kilka szczepów arbowirusów z grupy A i B, w tym także typowych przedstawicieli środkowoeuropejskiego kleszczowego zapalenia mózgu [1, 2, 5, 6]. Jak wiadomo, wirusy kleszczowego zapalenia mózgu (e.k.z.m.) nigdy dotychczas nie były izolowane z komarów. Badania doświadczalne wykonane przez Żółtowskiego i Wróblewską-Mularczykową nie potwierdziły, że mogłaby wchodzić tu w rachubę więź biologiczna między danym wirusem a komarami [6]. W związku z tym założono, że spontanicznie zakażone wirusem e.k.z.m. komary były to owady niedossane na zwierzęciu w stanie wiremii, a więc zdolne do dalszego atakowania oraz mechanicznie czynnego udzielania zakażenia w trakcie dopełniania przerwanej ssania krwi na nowym żywicielu. Hipoteza ta została doświadczalnie udowodniona przez Żółtowskiego [7].

Możliwość rozpowszechniania różnorodnych antygenów przez komary leśne wykonujące ssania przerywane nasunęły myśl, że zjawisko to mogłoby stanowić dodatkowy, a dotychczas pomijany, czynnik sprzężenia zwrotnego w samosterownym układzie biocenozy zakażno-pasożytniczej.

Przedmiotem niniejszego doniesienia jest wstępne, doświadczalne sprawdzenie tej hipotezy w zrozumieniu:

1. stwierdzenia, czy w warunkach eksperymentalnych możliwe jest swoiste uodpornianie przez komary ich żywicieli oraz

2. ustalenia, czy również w naturze owady te wykonują czynność warunkującą powyższy efekt — to jest ssania przerywane.

Material i metody

Do badań używano wzorcowego szczepu wirusa środkowoeuropejskiego kleszczowego zapalenia mózgu, izolowanego w Polsce z kleszczy *Ixodes ricinus* (L.).

W laboratoryjnym eksperymencie serologicznym posługiwano się 2-5-dniowymi samicami komara *Aedes (O.) communis* (Deg.) hodowanymi z larw odławianych w naturze. Badanie przynależności gatunkowej krwi, zalegającej w przewodzie pokarmowym samic, wykonywano na puli komarów odłowionych w Puszczy Kampinoskiej, wśród których gatunkiem dominującym (72,1%) był *Aedes cinereus* M., a jednym z influentów — *A. (O.) communis* (Deg.).

Komary zakażano w trakcie ssania biorczego na aparacie z biomembraną, będącym własną modyfikacją urządzenia opisanego w 1956 r. przez Rossa [6]. Zbiornik aparatu napełniano zawiesiną odwłóknionej krwi zwierzęcej, glukozy i badanego wirusa o znanej koncentracji. Otwór zbiornika zaciągano biomembraną z błony lotnej nietoperza.

Mechanicznie czynne przenoszenie wirusa przez komary z aparatu z biomembraną na unieruchomioną mysz przeprowadzano stosując sposób ssania przerywanego.

Badanie immunologicznych skutków dla myszy mechanicznie czynnego przenoszenia wirusa przez komary przeprowadzano następująco: komary zakażano przez biomembranę niskimi dawkami wirusa e.k.z.m. z tym, że ssanie biorcze przerywano przed jego ukończeniem, a niedossane owady natychmiast przenoszono na myszy dla dokończenia ssania. W ten sposób każdą mysz zakażano ukłuciami 8 komarów. Po upływie 6 tygodni myszy skrwawiano. W surowicach ich określano metodą zahamowania hemaglutynacji poziom swoistych przeciwciał.

Technika określania przynależności gatunkowej krwi w przewodzie pokarmowym komarów: zalegające od ostatniego ssania w przewodzie pokarmowym atakujących samic komarów ślady krwi identyfikowano sposobami stosowanymi w kryminalistyce, tj. metodą spektroskopową oraz elektroimmunoprecypitacją w żelu agarowym.

Wyniki

Wyniki swoistego uodpornienia myszy za pośrednictwem komarów zakażonych wirusem e.k.z.m., które dopełniały na nich przerwane ssanie biorcze, przedstawiono w tab. 1. Wynika z niej, że już 8 sztuk komarów *A. (O.) communis* (Deg.) zakażonych odpowiednio dobraną dawką wirusa e.k.z.m. może, wykonując ssania przerywane, uodpornić swoiście swego żywiciela.

Jak widać w tab. 2, w odłowionej puli komarów z gatunkiem *A. cinereus* M., jako formą dominującą, 74% osobników zawierało w swym przewodzie pokarmowym ślady 2-4 rodzajów krwi, strawionej w podobnym stopniu. W pojedynczych przypadkach wykrywano w żołądku jednej samicy aż 4-6 rodzajów krwi (rycina). Spostrzeżenia te przemawiają za przypuszczeniem, że naturalne żerowanie samic komarów leśnych polega

TABELA 1

Wynik próby swoistego uodpornienia myszy przeciwko kleszczowemu zapaleniu mózgu za pośrednictwem komarów wykonujących ssania przerywane

TABLE 1

Results of attempted specific immunization of mice against encephalitis through mosquitoes performing interrupted sucking

Gatunek komara Mosquito species	Szczep wirusa i jego miano w zawieszynie do zakażenia komarów Virus strain and its titer in suspension used for mosquito infection	Skrwawienie myszy po upływie Bleeding of mice after	Doświadczenie				Kontrola		
			Rozcieńczenia surowicy mysiej	Myszy klute przez zakażone komary			Myszy bez kontaktu z wirusem		
				Experiment			Control		
			Dilutions of mouse sera	Mice stung by infected mosquitoes			Mice without contact with virus		
				A ¹	B ²	C ³	I	II	III
<i>Aedes (O.) communis</i> (Deg.)	Kłodobok i. c. m. ujemny Log. negat. Log. LD ₅₀ = 6,5	6 tygodni weeks	1 : 10	— ⁴	—	—	+	+	+
			1 : 20	—	—	—	+	+	+
			1 : 40	—	—	—	+	+	+
			1 : 80	—	—	—	+	+	+
			1 : 160	+ ⁵	—	±	+	+	+
			1 : 320	+	—	+	+	+	+
			1 : 640	+	+	+	+	+	+
			1 : 1280	+	+	+	+	+	+
			1 : 2560	+	+	+	+	+	+

¹ Mysz pokłuta jednorazowo przez osiem komarów zakażonych zawieszyną o mianie ujemny Log. LD₅₀ = 3,5
Mouse stung once by eight mosquitoes infected with suspension of titer negat. Log. LD₅₀ = 3,5

² Mysz pokłuta jednorazowo przez osiem komarów zakażonych zawieszyną o mianie ujemny Log. LD₅₀ = 2,5
Mouse stung once by eight mosquitoes infected with suspension of titer negat. Log. LD₅₀ = 2,5

³ Mysz pokłuta jednorazowo przez osiem komarów zakażonych zawieszyną o mianie ujemny Log. LD₅₀ = 1,5
Mouse stung once by eight mosquitoes infected with suspension of titer negat. Log. LD₅₀ = 1,5

⁴ Hamowanie hemaglutynacji
Passive hemagglutination test

⁵ Hemaglutynacja
Haemagglutination test

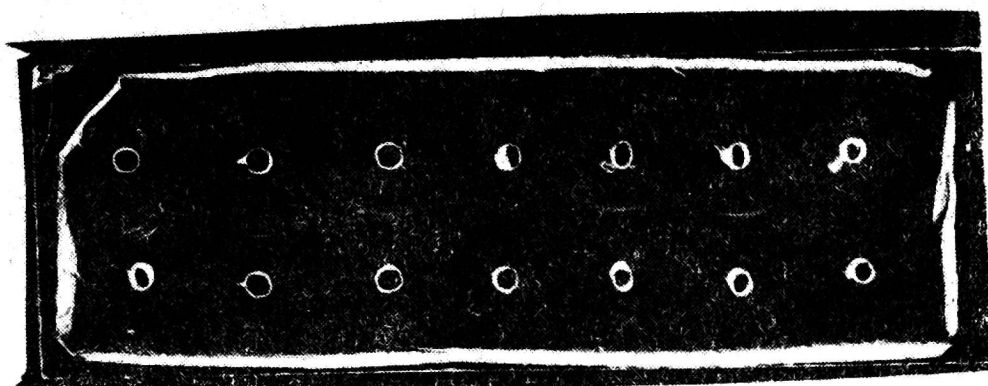
TABELA 2

Częstość występowania mieszanej gatunkowo krwi w przewodzie pokarmowym komarów leśnych *Aedes cinereus* M. i *A. (O.) communis* (Deg.)

TABLE 2

Frequency of occurrence of blood from different host species in the alimentary tract of forest mosquitoes *Aedes cinereus* M. and *A. (O.) communis* (Deg.)

Liczba gatunków krwi wykryta w przewodzie pokarmowym 1 komara Number of host species whose blood was present in the alimentary tract of one mosquito	1	2	3	4	5	6
Częstość występowania w badanej puli 152 komarów Frequency of occurrence in the investigated pool of 152 mosquitoes	40	65	38	4	2	3



Ryc. — Uwidocznienie mieszaniny krwi różnych żywicieli w przewodzie pokarmowym komara *Aedes cinereus* M. w odczynie elektroimmunoprecypitacji. Od lewej strony: krew człowieka, krowy, konia, psa, świni i kury

Fig. — The evidence of the mixture blood of some different hosts in the intestinal tract of the *Aedes cinereus* M. by means of the electroimmunoprecipitation test. On the left: human, bovine, horse, dog, swine and hen blood

na wykonywaniu w krótkich odstępach czasu serii ssań przerywanych. Wyniki poprzedniego doświadczenia pozwalają przypuszczać, że mechanizm ten może przyczyniać się do rozsiewania antygenów uodporniających populację żywicieli komarów.

Omówienie wyników

Przedstawione doświadczenia przemawiają za tym, że w rezultacie mechanicznie czynnej transmisji wirusa e.k.z.m. przez komary leśne można oczekiwać nie tylko zakażeń z objawami klinicznymi, ale również swoistych reakcji immunologicznych, prowadzących do wytworzenia w populacji żywicieli komarów odporności stadnej (herd immunity) przeciw danemu zakażeniu. Uzyskana na tej drodze odporność może być traktowana jako czynnik równowagi w samosterownym układzie biocenozy zakażno-pasożytniczej. Jak się wydaje, rola komarów leśnych w ich biocenozach w tym aspekcie nie była dotychczas rozpatrywana.

Adres autorów:

01-163 Warszawa 42, Kozielska 4

LITERATURA

1. Kozłowski, S., Szymański, S., Żółtowski, Z., Żukowski, K.: *Prz. Epid.*, 18, 391-399, 1964.
2. Przesmycki, F., Taytsch, Z., Wróblewska, Z., Lachmajer, J.: *J. Inf. Dis.*, 3, 276-283, 1960.

3. Stejgwiłło-Laudańska, B., Żółtowski, Z.: *Rocznik Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii*, 13, 97-98, 1974.
4. Wegner, Z.: *Biul. Metod.-Org. Inst. Med. Morsk., supl. 2*, 1-161, 1974.
5. Wróblewska-Mularczykowa, Z., Żółtowski, Z., Dobrzyński, L.: *Prz. Epid.*, 18, 381-390, 1964.
6. Żółtowski, Z., Wróblewska-Mularczykowa, Z.: *Med. Dośw. i Mikrob.*, 3, 241-249, 1961.
7. Żółtowski, Z.: *Rocznik Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii, supl. 1*, 125-165, 1961.

PRELIMINARY STUDIES ON THE ROLE OF FOREST MOSQUITOES IN
FORMATION OF ANTI-INFECTION IMMUNITY IN HOST POPULATIONS

by

Z. ŻÓŁTOWSKI and B. STEJGWILŁO-LAUDAŃSKA

The presented results obtained in the field and in the laboratory prove that mechanically-active transmission of the tickborne encephalitis virus by forest mosquitoes can be expected to cause not only infections with clinical symptoms, but also specific immunologic reactions leading to the formation of herd immunity against this infection in the population of mosquito hosts. The resulting immunity can be considered to be an equilibrating factor in the self controlling system of infective-parasitic biocenosis.

It appears that no such approach to the role of forest mosquitoes in their biocenoses has as yet been reported.