

К Р А Т К И Е С О О Б Щ Е Н И Я

УДК 576.895.132

ВНУТРИШТАММОВАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ *TRICHINELLA SPIRALIS*:
СЕДИМЕНТАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ

Ю. И. Васерин, А. Ф. Костецкий

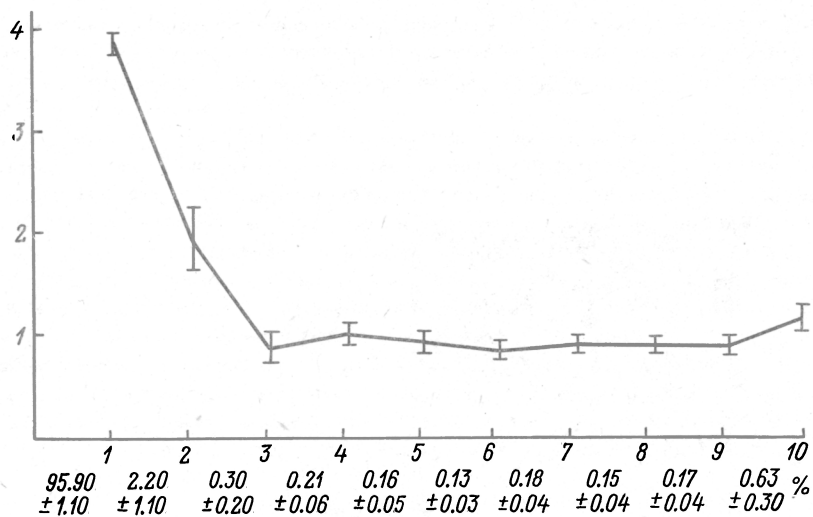
Установлена гетерогенность мышечных личинок трихинелл одного штамма и одинакового возраста, выражающаяся в различиях скорости свободной седиментации, наличии изопикнических зон при центрифугировании в градиенте плотности сахарозы и инвазионной активности фракций. Показано, что ошибка метода переваривания мышечной ткани для индикации трихинелл за счет наличия медленно седиментирующих фракций может составлять 3.0—5.2 %. Делается заключение, что при изучении биологических свойств различных штаммов трихинелл необходимо проводить их стандартизацию с центрифугированием в градиенте плотности сахарозы и использовании фракции, обладающей наибольшей инвазионной активностью.

В настоящее время установлена гетерогенность различных изолятов *Trichinella spiralis* по морфологическим признакам, скреживаемости, инвазионности, иммуногенности, изоферментному составу и некоторым другим признакам (Бритов, 1982; Chadel, Dick, 1982; Flockhart e. a., 1982). Следует признать, что если штаммовая гетерогенность трихинелл является предметом широких обсуждений, то вопрос об их внутриштаммовой неоднородности не обсуждался. Учитывая особенности трихинеллезной инвазии (Бессонов, 1977), можно предполагать, что длительность процесса миграции и созревания личинок трихинелл в организме хозяина, воздействия на них иммунного пресса могут приводить к возникновению внутриштаммовых различий.

Целью настоящей работы явилось выявление внутриштаммовой гетерогенности мышечных личинок трихинелл по седиментационному признаку и выяснение инвазионной активности различных фракций трихинелл.

Материал и методы. В работе использовали штамм «Белореченский» *Trichinella spiralis*, полученный из Всесоюзного института гельминтологии имени К. И. Скрябина. Пассирование трихинелл и изучение их инвазионной активности осуществляли на неимбредных белых крысах массой 0.10—0.12 кг. В опыты брали инвазионные личинки 9-месячного возраста. Для выделения мышечных личинок трихинелл применяли ускоренный метод переваривания мышечной ткани (Орлов и др., 1982). Гидролизат разводили 0.15 М раствором натрия хлорида до концентрации личинок 3.5—3.9 Ig в 1.0 дм³, помещали в стеклянный цилиндр, отстаивали при 20° в течение 15 мин, отбирали фракции объемом 0.1 дм³. Отсчет фракций вели со дна цилиндра. Количество личинок в каждой фракции подсчитывали под стереоскопическим микроскопом МБС-9. Очистку и концентрацию трихинелл проводили путем наслаивания 6.0 Ig личинок в 5.0 см³ и последующего центрифугирования в 20...50 %-ном градиенте плотности сахарозы в течение 10 мин при 2000 об./мин (Методы практической биохимии, 1978). Каждую изопикническую зону трихинелл отделяли, отмывали 0.15 М раствором хлорида натрия центрифугированием при 2000 об./мин в течение 10 мин. Проводили ресуспендирование трихинелл в 30 или 40 %-ном растворе сахарозы в зависимости от плавучей плотности выделенной фракции до концентрации 3.0 Ig в см³ и использовали для перорального заражения белых крыс в дозе 4.0 Ig на кг массы тела животного.

Результаты исследований и обсуждения. Проведенные опыты по свободной седиментации трихинелл показали, что их основная масса (3.74 ± 0.06 Ig) в условиях данного опыта успевает достигнуть нижнего слоя (1-я фракция) за 15 мин, причем быстро седиментирующие трихинеллы составляют 95.9 ± 1.1 % (см. рисунок). Морфологически эта фракция



Седиментационная характеристика штамма *Trichinella spiralis*.

По оси абсцисс — фракции; по оси ординат — lg количества трихинелл.

мышечных личинок представляет собой скрученные спиралевидные формы. Вместе с этим опыты показали, что 3.0—5.2 % мышечных личинок трихинелл за это время не успевали достигнуть дна цилиндра, причем было отмечено неравномерное распределение личинок в различных фракциях. Их количество во 2-й фракции составляло 1.88 ± 0.60 lg, а в вышерасположенных фракциях колебалось в пределах 0.78—0.95 lg. Обращала на себя внимание относительно высокая концентрация трихинелл (1.2 ± 0.2 lg) в самом верхнем слое (10-я фракция), причем они не седиментировали даже через 18—24 ч. Морфологический анализ показал большое разнообразие форм мышечных личинок, особенно в 5—10 фракциях. Здесь встречались морфологически неоднородные формы: от типичных спиралевидных форм до форм в виде «запятой» или отдельных фрагментов (кутикула, обрывки трихинелл). С одной стороны, эти данные свидетельствовали о биофизической и морфологической неоднородности лабораторного штамма мышечных личинок трихинелл. С другой стороны, относительно высокий процент не седиментирующих за данный временной интервал мышечных личинок указывал на то, что метод выделения и индикации трихинелл перевариванием мышечной ткани в искусственном желудочном соке имеет ошибку равную 3.2—5.0 %, что должно учитываться при проведении как экспериментальных исследований, так и диагностических анализов.

В следующей серии опытов для получения различных фракций мышечных личинок был использован метод зонально-изопикнического разделения в градиенте плотности сахарозы. После центрифугирования образовались две четко разделенные зоны на границе 30—40 % (1-я зона) и 40—50 % (2-я зона) растворов сахарозы. Выделенные из первой зоны личинки трихинелл характеризовались однородными морфологическими свойствами, встречались только типичные спиралевидные формы. Во второй зоне выявлялись неоднородные по морфологическим свойствам личинки в виде типичных форм, развернутых спиралей, запятых, кутикул. Установленные различия в плавучей плотности и морфологической характеристике трихинелл свидетельствовали о наличии внутриштаммовой гетерогенности, которая могла оказать влияние и на инвазионную активность различных штаммовых фракций трихинелл.

Для решения этого вопроса были выделены мышечные личинки из каждой изопикнической зоны и ресуспендированы в сахарозе соответствующей концентрации, после чего проводили заражение белых крыс. Через 21 день после заражения методом искусственного переваривания были выделены мышечные личинки и определена степень инвазионной активности на 0.001 кг костно-мышечной ткани. Средняя инвазионная активность мышечных личинок из первой зоны составила 3117 ± 278 , а из второй — 1642 ± 247 ($p < 0.001$).

Неодинаковая инвазирующая активность фракций трихинелл, обладающих различной плавучей плотностью, указывает на их гетерогенность по этому признаку, а использование центрифугирова-

ния в градиенте плотности сахарозы с последующим выделением фракции, обладающей максимальной инвазирующей активностью и морфологической однородностью, может рассматриваться в качестве стандартизирующей процедуры при изучении биологических свойств отдельных штаммов трихинелл.

З а к л ю ч е н и е. Установленные различия в седиментационных свойствах, морфологии и инвазионной активности отдельных фракций мышечных личинок трихинелл свидетельствуют о наличии внутриштаммовой гетерогенности, формирующейся в процессе развития личинок в организме белой крысы. Мышечные личинки трихинелл одного штамма и одинакового возраста обладают различной скоростью свободной седиментации; медленно седиментирующая фракция составляет 3.0—5.2 % от их пула, что необходимо учитывать как ошибку метода переваривания мышечной ткани. Наличие внутриштаммовой гетерогенности мышечных личинок трихинелл должно учитываться при изучении патогенности, инвазионности и других биологических свойств при проведении исследований с различными штаммами трихинелл. Так как показатели плавучей плотности совпадают с морфологической характеристикой и инвазионной активностью в качестве стандартизирующей процедуры при изучении биологических свойств различных штаммов трихинелл может быть использовано изопикническое разделение в градиенте плотности сахарозы.

Л и т е р а т у р а

- Бессонов А. С. Трихинеллез. Киев: Урожай, 1977. 111 с.
Бритов В. А. Возбудители трихинеллеза. М.: Наука, 1982. 271 с.
Методы практической биохимии / ред. Б. Уильямс, К. Уилсон (перевод с англ.). М.: Мир, 1978. С. 45—51.
Орлов И. В., Владимиров П. А., Бессонов А. С. Трихинеллез // Тр. ВАСХНИЛ. 1982. С. 238—288.
Chadel K. C., Dick T. A. Biological characteristics and host influence on a geographical isolate of *Trichinella* // J. Parasitol. 1982. Vol. 68, N 3, sect. I. P. 451—456.
Flockhart H. A., Harrison S. E., Dobinson A. R., James E. A. Enzyme polymorphism in *Trichinella* // Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 1982. Vol. 76, N 4. P. 541—546.

Ростовский НИИ медицинской паразитологии
МЗ РСФСР

Поступила 30.12.1986

INTRASTRAIN HETEROGENEITY OF TRICHINELLA SPIRALIS: SEDIMENTATION ANALYSIS

Ju. I. Vaserin, A. F. Kostetsky

S U M M A R Y

Intrastrain heterogeneity of muscular larvae of trichinellids has been revealed in experiments of free sedimentation and isopycnic division in the density gradient of saccharose, the presence of which is confirmed by the study of morphological characters and infection activity. The presence of intrastrain heterogeneity indicates the necessity of introduction of standard technique for studies of biological characters of different strains of trichinellids.