

УДК 576.895.122 : 599.32

## ЗАРАЖЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ КИШЕЧНОГО ШИСТОСОМОЗА

О. П. Зеля

С целью выяснения оптимальных условий поддержания экспериментальной модели кишечного шистосомоза определена сравнительная эффективность различных режимов заражения лабораторных животных. При этом учитывали характер распределения шистосом в животных. Основные параметры негативно-биномиального распределения использовали для определения эффективных доз и способов заражения животных наряду с общепринятыми показателями экстенсивности и интенсивности инвазии.

Одним из важных звеньев в экспериментальном моделировании шистосомозов является выбор наиболее подходящего окончательного хозяина для паразита и отработка режимов заражения лабораторных животных.

Ряд зарубежных исследователей определяли восприимчивость белых мышей и других лабораторных животных к заражению *Schistosoma mansoni* (Hommel e. a., 1973; Askermann, Clayton, 1976; Frigg, 1978, и др.). Анализировали и сравнительную эффективность различных способов заражения животных церкариями этой шистосомы (Preston, James, 1972; Christensen e. a., 1977; Moloney, Webbe, 1982).

Однако необходимым условием воспроизведения модели является получение стабильной интенсивности инвазии лабораторных животных при их минимальной смертности.

Как известно, для каждой пары паразит-хозяин существует определенный предел интенсивности заражения, который определяется действием защитных реакций организма хозяина. Наиболее общим статистическим выражением хозяино-паразитных отношений является тип распределения паразита в популяции хозяина, а увеличение плотности популяции паразита отражается на параметрах этого распределения.

К настоящему времени показано, что распределение гельминтов в природных популяциях хорошо моделируется отрицательно-биномиальным распределением (Федоров, 1981). Однако попытки применения этого распределения для анализа данных, полученных в экспериментальных условиях, пока немногочисленны. Тем не менее, судя по результатам, полученным зарубежными исследователями (Hollanda, Pellegrino, 1974; Moloney, Webbe, 1982, и др.), и наших данных, распределение шистосом в хозяевах является перерасеянным.

Проводя исследования по выяснению оптимальных условий поддержания экспериментальной модели кишечного шистосомоза, мы оценивали эффективность различных режимов заражения лабораторных животных не только по общепринятым показателям экстенсивности и интенсивности инвазии, но и с учетом изменений основных параметров негативно-биномиального распределения.

Помимо обычных лабораторных хозяев шистосом — белых мышей и золотистых хомяков, существенным недостатком которых является высокая смертность от инвазии, — мы впервые испытали в качестве лабораторных дефинитивных хозяев *S. mansoni* — джунгарских хомячков *Phodopus sungarus* Pallas, 1773.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Церкарии для заражения лабораторных животных получены от моллюсков *Biomphalaria sudanica*, используемых в качестве промежуточных хозяев для малийского штамма *S. mansoni*. 3—4-недельных золотистых хомячков весом 35—40 г (по 30—70 животных в группе), джунгарских хомячков весом 20—25 г (по 35—60 животных в группе) и беспородных белых мышей весом 10—15 г (по 50—130 животных в группе) инвазировали подкожно по 0.5 мл взвеси церкарий в кипяченой проаэрированной воде. При определении эффективности заражения животных от количества введенных церкарий использовали дозы 100, 150, 200, 250, 300 церкарий / животное. Оценивая эффективность разных способов инвазирования, церкарий вводили подкожно, внутрикожно и внутрибрюшинно. Дозы заражения при этом были: 150 церкарий / мышь и 200 церкарий / хомяк.

Эффективность заражения определяли по доле прижившихся паразитов. Распределение шистосом во внутренних органах хозяина устанавливали с помощью измельчения и вскрытия кровеносных сосудов печени и мезентерия и тщательного подсчета паразитов. Выделение яиц из печени и кишечника лабораторных животных проводили по стандартной методике. Для оценки эффективности выхода мирацидиев в зависимости от разной плотности популяции паразитов сравнивали количество вылупившихся мирацидиев из яиц, выделенных из тканей печени и кишечника джунгарских хомячков, инвазированных разным количеством церкарий (по 5 хомячков для каждой дозы).

Достоверность различий в эффективности разных доз и способов заражения определяли с помощью непараметрического критерия Колмогорова—Смирнова при  $p_{\lambda}=0.05$ . Вычисление экспоненты  $k$  производили методом максимального подобия (Брев, 1972). После определения параметров распределения и вычисления теоретического ряда распределения вероятность случайности имеющихся расхождений эмпирического ряда с теоретическим оценивали методом  $\chi^2$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наибольшей восприимчивостью к инвазии обладали джунгарские хомячки (100% при всех испытанных дозах). При этом смертность их была незначительной (табл. 1).

Отмечено значительное снижение прироста в весе зараженных животных по сравнению с контрольными при больших дозах заражения. Изменения в весе золотистых хомячков в большей степени зависели не от числа введенных церкарий, а от количества прижившихся паразитов и достоверно различались у животных, содержащих до 20 паразитов ( $83.7 \pm 3.5$  г) и содержащих 20—40 паразитов ( $65.0 \pm 2.8$ ).

Статистический анализ данных о численности паразитов, прижившихся у животных, показал, что независимо от методов заражения и содержания животных распределение шистосом заметно отличается от нормального. Длительный и сложный путь миграции шистосомул до места их окончательной локализации и разная степень иммунных реакций хозяина определяют разную вероятность выживания взрослых шистосом, что в свою очередь выражается в их перераспределении. Сравнение эмпирических рядов с теоретическим методом  $\chi^2$  показало, что полученное нами распределение с большой вероятностью моделируется негативно-биномиальным распределением.

Анализ результатов заражения лабораторных животных разным количеством церкарий показал, что с повышением дозы доля прижившихся паразитов возрастает до определенного предела. При этом среднее число развившихся мартит у животных разного вида при одной и той же дозе заражения достоверно не различается. Большая часть развившихся паразитов (более 70%) локализовалась в мезентериальных венах. Такое распределение паразитов было стабильным и не зависело от количества введенных церкарий. Дальнейшее повышение дозы церкарий (более 200 церкарий / животное) не давало достоверного увеличения интенсивности инвазии и среднее число прижившихся паразитов оставалось на том же уровне или даже снижалось (табл. 2).

Таблица 1

Сравнительная эффективность заражения лабораторных животных в зависимости от количества введенных церкарий \*

Доза (число введенных церкарий)	Вид лабораторного животного	Смертность животных (в %)	Экстенсивность заражения (в %)	Вес лабораторных животных через 9 недель (г)		Доля прижившихся паразитов (в %)	Среднее число развившихся марит		
				инвазированные	контроль		в печеночных венах	в мезентериальных венах	всего
100	Белые мыши	78.8 ±3.4	89.3	19.8 ±1.9	23.1 ±1.0	14.1 ±0.7	1.6 ±0.4 (11.4%)	12.5 ±2.0 (88.6%)	14.1 ±2.2
150	» »	68.7 ±4.7	93.8	20.6 ±1.0	23.1 ±1.0	14.0 ±0.5	4.8 ±1.1 (26.2%)	13.5 ±1.7 (73.8%)	18.3 ±2.5
	Золотистые хомяки	54.6 ±7.5	93.8	89.2 ±9.4	101.5 ±2.2	13.4 ±0.7	6.3 ±1.3 (31.5%)	13.8 ±3.4 (68.5%)	20.2 ±4.6
	Джунгарские хомячки	58.6 ±5.9	100	30.9 ±1.8	39.5 ±1.5	13.2 ±0.5	5.5 ±0.8 (27.9%)	14.2 ±1.3 (72.1%)	19.8 ±1.8
200	Белые мыши	68.0 ±6.7	100	15.4 ±0.8	23.1 ±1.0	17.3 ±0.7	8.5 ±1.9 (24.5%)	26.2 ±2.9 (75.5%)	34.7 ±3.9
	Золотистые хомяки	37.4 ±5.1	100	69.8 ±4.2	101.5 ±2.2	20.3 ±0.4	16.1 ±2.4 (37.7%)	26.6 ±2.7 (62.3%)	42.7 ±4.3
	Джунгарские хомячки	29.3 ±7.3	100	38.3 ±2.0	39.5 ±1.5	18.3 ±0.5	10.2 ±2.1 (27.9%)	26.3 ±3.2 (72.1%)	37.9 ±4.2
250	Золотистые хомяки	45.5 ±8.0	100	70.7 ±4.6	101.5 ±2.2	11.4 ±0.5	8.2 ±1.9 (28.8%)	20.4 ±3.9 (71.2%)	28.6 ±5.8
	Джунгарские хомячки	20.7 ±5.3	100	32.2 ±1.5	39.5 ±1.5	17.1 ±0.5	11.8 ±1.2 (27.6%)	30.9 ±3.6 (72.4%)	42.8 ±3.9
300	Золотистые хомяки	67.7 ±8.0	100	84.5 ±8.8	101.5 ±2.2	7.8 ±0.5	3.0 ±0.8 (12.8%)	20.5 ±3.5 (87.2%)	23.5 ±4.3

\* Церкарии вводились подкожно.

Т а б л и ц а 2

Зависимость основных параметров распределения шистосом у лабораторных животных от дозы заражения (негативно-биномиальное распределение)

Доза (число введенных церкарий)	Вид лабораторного животного	Число зараженных животных	Число вскрытых животных	Среднее количество развившихся марит	Экспонента $k$	Вероятность совпадения эмпирического распределения с теоретическим ( $P$ )
100	Белые мыши	132	28	14.1428 + 2.2281	1.257 + 0.407	> 0.40
150	« «	102	32	18.3438 + 2.5132	1.229 + 0.325	> 0.70
	Золотистые хомяки	35	16	20.2500 + 4.6084	1.242 + 0.385	> 0.20
	Джунгарские хомячки	67	28	19.8214 + 1.8002	4.883 + 1.452	> 0.30
200	Белые мыши	50	16	34.6875 + 3.9091	4.130 + 0.588	> 0.40
	Золотистые хомяки	73	46	42.6522 + 4.1836	2.059 + 0.436	> 0.90
	Джунгарские хомячки	41	29	37.8571 + 4.1816	2.115 + 0.549	> 0.90
250	Золотистые хомяки	29	16	28.6250 + 5.8022	1.378 + 0.473	> 0.20
	Джунгарские хомячки	35	28	42.7500 + 3.9236	4.579 + 0.596	> 0.80
300	Золотистые хомяки	30	10	23.5000 + 4.2979	2.498 + 0.670	—

Т а б л и ц а 3

Сравнительная эффективность методов заражения церкариями лабораторных животных (в зависимости от способа введения)

Способ введения церкарий	Вид лабораторного животного	Число зараженных животных	Число вскрытых животных	Смертность животных (%)	Экстенсивность заражения (%)	Доля прижившихся паразитов (%)	Среднее число развившихся марит	Экспонента $k$	Вероятность совпадения эмпирического распределения с теоретическим ( $P$ )
Подкожно	Белые мыши	102	32	68.6 + 4.6	93.8	14.0 + 0.5	18.3438 + 2.5132	1.229 + 0.325	> 0.70
	Золотистые хомяки	73	46	39.5 + 5.7	100	20.3 + 0.4	42.6522 + 4.3347	2.059 + 0.436	> 0.90
Внутрибрюшинно	Белые мыши	34	17	50.0 + 8.6	100	13.0 + 0.7	19.5294 + 3.5409	2.579 + 0.238	> 0.20
	Золотистые хомяки	34	23	32.4 + 8.0	86.9	9.1 + 0.4	18.1304 + 3.4249	0.807 + 0.252	> 0.50
Внутрикожно	Белые мыши	40	16	60.0 + 7.7	100	7.3 + 0.3	10.9375 + 1.4302	6.768 + 1.781	> 0.10
	Золотистые хомяки	33	11	66.6 + 8.2	45.4	7.9 + 0.6	15.7273 + 6.3862	0.156 + 0.084	—

П р и м е ч а н и е. Доза заражения: 150 церкарий/мышь; 200 церкарий/хомяк.

Вычисление второго параметра негативно-биномиального распределения экспоненты  $k$ , характеризующей меру агрегированности паразитов в хозяине и возрастающей по абсолютной величине по мере снижения агрегированности, и сравнение вероятностей совпадения эмпирического распределения с теоретическим позволило установить наиболее оптимальные значения доз инвазионного материала.

Так, наименьшее значение  $k$  и в то же время максимальная степень сходимости эмпирических данных с теоретическими ( $P > 0.70$  и  $P > 0.90$ ) наблюдались при инвазировании белых мышей по 150 церкарий и джунгарских хомячков — по 200 церкарий. Увеличение дозы церкарий приводило к повышению защитных реакций организма хозяина, что выражалось в снижении агрегированности паразитов в хозяевах и в соответствующем увеличении значения  $k$  и снижении степени совпадения эмпирического ряда распределения с теоретическим.

При заражении золотистых хомячков зависимость основных параметров распределения от плотности популяции паразитов не была столь четкой, что, возможно, объяснялось высокой смертностью животных (в первую очередь сильно инвазированных) при заражении большим количеством церкарий.

Строгой корреляции между плотностью популяции шистосом и продукцией яиц гельминтами мы не отметили. Повышение плотности популяции паразитов не ведет к увеличению общей продукции яиц и остается примерно одинаковым при любой интенсивности инвазии, что хорошо показано для ряда гельминтов (Гиновкер, Костыгин, 1983; Halvorsen, Andersen, 1974), в том числе и шистосом (Sturrock e. a., 1978). Поэтому снижение выхода мирацидиев из яиц, выделенных из печени и кишечника хомячков, инвазированных по 250 церкарий / животное (5400 мирацидиев при дозе 200 церкарий / животное и 1300 при дозе 250 церкарий / животное), скорее всего объясняется интенсификацией защитных реакций организма хозяина при высоких дозах заражения, что проявлялось в ускорении процесса образования гранулем вокруг яиц *S. mansoni*.

Сравнение результатов заражения разными методами золотистых хомячков и белых мышей выявило, что оптимальным является инвазирование животных подкожно (табл. 3). Преимуществом этого метода по сравнению с перкутанном (метод «кольца» и в «хвост»), которое считается наиболее эффективным, по данным зарубежных авторов (Christensen e. a., 1977; Moloney, Webbe, 1982), является простота исполнения, что обеспечивает сравнительно низкую смертность лабораторных животных при незначительном снижении процента приживаемости шистосом.

Таким образом, оценивая полученные результаты по экстенсивности и интенсивности инвазии, значениям экспоненты  $k$ , степени совпадения эмпирического и теоретического распределения и выходу мирацидиев, можно заключить, что наиболее оптимальная плотность паразитов достигается при условии заражения мышей 150 церкариями и золотистых и джунгарских хомячков — по 200 церкарий на животное при подкожном их введении.

Учитывая особенности распределения паразитов в хозяевах и большую степень совпадения теоретического распределения с эмпирическим при оптимальных дозах заражения, возможно с большой точностью вычислить необходимый объем экспериментальных групп животных с определенной интенсивностью инвазии. Использование при этом непараметрических критериев различий важно при использовании модели в прикладных исследованиях (отбор антишистосомных препаратов, изучение паразито-хозяинных взаимоотношений и т. п.).

Результаты исследований позволяют рекомендовать использование джунгарских хомячков в качестве окончательных хозяев шистосом. Высокая восприимчивость к инвазии сочетается у них с незначительной смертностью, а результаты заражения по всем параметрам отличались наибольшей стабильностью.

Применение установленных оптимальных режимов заражения лабораторных животных приводит к максимальной приживаемости шистосом при небольшой смертности животных, позволяет получить достаточное количество инвазионного материала для заражения промежуточных хозяев и обеспечивает надежность экспериментальной модели кишечного шистосомоза.

## Л и т е р а т у р а

- Б р е е в К. А. Применение негативно-биномиального распределения для изучения популяционной экологии паразитов. Л., Наука, 1972. 70 с.
- Г и н о в к е р А. Г., К о с т ы г и н В. Ф. Ритмичность яйцепродукции описторхисов. — Тез. докл. конфер. ВОГ., 1983, с. 188—189.
- Ф е д о р о в К. П. Математические методы изучения популяций паразитов. — Итоги науки и техники ВИНТИ. Зоопаразитология, 1981, т. 7, с. 134—184.
- А с к е r m a n n S. B., C l a y t o n R. *Schistosoma mansoni* and *japonicum* in *Microtus montanus*. — *J. Parasit.*, 1976, vol. 62, N 1, p. 157—159.
- C h r i s t e n s e n N. Ø., F r a n d s e n F., N a n s e n P. Hostfinding capacity of schistosome cercariae: comparative efficiency of methods of mouse infection and radioisotope assay system. — *J. Helminthol.*, 1977, vol. 51, N 2, p. 105—113.
- F r i p p P. J. Rodents as laboratory hosts for Schistosomes. — *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 1978, vol. 49, N 3, p. 233—234.
- H a l v o r s e n O., A n d e r s e n K. Some effects of population density in infections with *Diphyllbothrium dendriticum* (Nitzsch) in golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse) and common gull (*Larus canus* L.). — *Parasitology*, 1974, vol. 69, p. 149—160.
- H o l l a n d a J. C., P e l l e g r i n o J. Infectivity of schistosomula (*Schistosoma mansoni*) recovered from skin and lung of infected mice. — *Rev. Inst. med. trop. Sao Paulo*, 1974, vol. 16, N 3, p. 127—131.
- H o m m e l M., M i l t g e n F., C a n g u i l n e m B. Le hamster d'Europe (*Cricetus cricetus*) hôte expérimental nouveau de *Schistosoma mansoni*. Étude des effets de l'hivernation. — *Bull. Soc. path. exot.*, 1973, vol. 66, N 2, p. 296—298.
- M o l o n e y N. A., W e b b e G. A rapid method for the infection of laboratory mice with *Schistosoma japonicum*. — *Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1982, vol. 76, N 2, p. 200—203.
- P r e s t o n J. M., J a m e s C. Infection of hamsters with terminalspined schistosomes. — *J. Helminthol.*, 1972, vol. 46, N 3, p. 291—296.
- S t u r r o c k R. F., B u t t e r w o r t h A. E., H o u b a V. Are faecal egg counts related to adult worm burden in *Schistosoma mansoni* infections? — 4th Int. Congr. Parasitol., Warszawa, 1978. Short commun. Sec. C., p. 112.

Институт медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е. И. Марциновского Минздрава СССР  
Москва

Поступила 7 IV 1983

## INFECTION OF LABORATORY ANIMALS DURING THE MODELLING OF INTESTINAL SCHISTOSOMIASIS

O. P. Zelja

### S U M M A R Y

A comparative efficiency of different regimes for infecting laboratory animals has been determined in order to find out optimal conditions under which an experimental model of intestinal schistosomiasis (infection with *Schistosoma mansoni*) can be maintained. When evaluating the results of laboratory definitive hosts infection we took into account the character of *Schistosoma* distribution in animals, which with high probability rate was modelled by means of negative binomial distribution. The main parameters of this distribution were used for determination of effective doses and methods of animals infection alongside with generally accepted indices of infection rate and intensiveness. Analysis of the data obtained has shown that the infection of 150 cercariae per mouse and 200 cercariae per golden and striped hairy-footed hamster by their subcutaneous administration creates optimal density of parasites in the host. Results of investigations have shown that striped hairy-footed hamsters can be used as definitive hosts of *Schistosoma*.