

РЕПРОДУКТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ *TRICHINELLA SPIRALIS* НА РАННИХ СТАДИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

И. А. Сиволова, Ю. И. Васерин, С. А. Нагорный

Установлена определенная динамика отрождения личинок половозрелыми трихинеллами при культивировании в разных питательных средах. Наибольшая репродуктивная активность наблюдалась в сбалансированном солевом растворе Эрла, меньшая в среде Игла и среде с гидролизатом лактальбумина. Выход личинок в среде Эрла составил к 4-му часу опыта около 80 % от их общей массы, а абсолютное число их было в 2.5—10 раз больше, чем в других средах. Использование среды Эрла позволяет получать достаточно большую массу трихинелл уже в первые часы культивирования.

Изучением репродуктивной активности трихинелл в организме хозяина занимался ряд исследователей (Тараканов, 1971; Бритов, 1973; Gould e. a., 1955; Olsen e. a., 1964). Показано, что самка трихинеллы начинает отрождать юных личинок на 5—6-й дни после заражения хозяина. Их число становится максимальным на 7-й день после заражения, а затем рождаемость резко падает (Bell, Wang, 1987). Каждая самка за 5—6 недель своей жизни в кишечнике хозяина способна отродить до 2000 и более личинок.

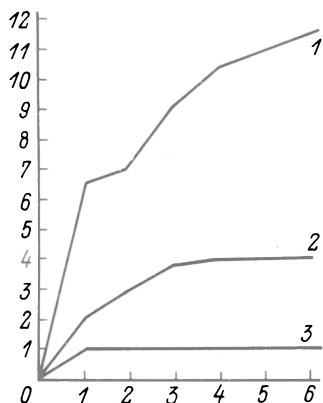
Изучению процесса отрождения личинок половозрелыми трихинеллами *in vitro* уделялось меньше внимания, хотя знание этого процесса в динамике культивирования и возможность получения достаточного количества юных трихинелл представляет не только чисто зоологический, но и большой практический интерес. При создании диагностических и вакцинных препаратов, а также для изучения биохимических процессов у личинок трихинелл необходимо получение значительной их биомассы.

Считается, что для культивирования гельминтов *in vitro* необходимо применение полноценных усваиваемых паразитами искусственных питательных сред. Обычно для культивирования трихинелл *in vitro* используют среды естественного и искусственного происхождения, применяемые для получения и поддержания культур тканей животных. По мнению Тараканова (1976), для культивирования трихинелл необходимы среды с большим содержанием питательных веществ, включающих белки, жиры, углеводы. Однако использование обогащенных питательных сред часто невозможно из-за отсутствия их коммерческого выпуска. К тому же в процессе культивирования половозрелых трихинелл на обогащенных питательных средах вследствие неравномерного и длительного периода отрождения личинок часть их погибает, что требует введения дополнительного разделения погибших и жизнеспособных личинок. Альтернативным путем является подбор искусственных питательных сред, обеспечивающих ускорение процесса репродукции половозрелых трихинелл *in vitro*.

Целью работы явилось изучение репродуктивной активности *Trichinella spiralis* в ранние сроки культивирования половозрелых особей *in vitro* и подбор искусственной питательной среды, достаточно доступной и позволяющей получать значительный по массе выход личинок.

М а т е р и а л и м е т о д и к а. В работе использовали штамм *Trichinella spiralis spiralis*, полученный из Всесоюзного института гельминтологии имени К. И. Скрябина. Пассирование трихинелл осуществляли на неинбредных белых крысах массой 0.14—0.16 кг. Для культивирования половозрелых трихинелл применяли выпускаемые предприятиями по производству бактериальных и вирусных препаратов следующие питательные среды для культур клеток: раствор Эрла без фенолового красного, среда Игла, питательная среда с гидролизатом лактальбумина (0.5 %) в растворе Хэнкса.

Для заражения использовали 50—60-дневных личинок трихинелл, выделенных из мышц белых крыс методом переваривания в искусственном желудочном соке. Доза заражения составила 30 личинок / г веса животного. Инвазированных крыс вскрывали на 6-й день после заражения, извлекали тонкий кишечник, разрезали его вдоль и помещали на капроновое сито № 37 (размер ячейки 280×280 мкм), погруженное в чашку Петри с 0.85 %-ным физиологическим раствором. Чашки Петри с кишечником ставили на термостол при 37° на 1 ч для выхода половозрелых трихинелл



Динамика отрождения личинок одной самкой *Trichinella spiralis* in vitro в разных питательных средах.

1 — раствор Эрла; 2 — среда Игла; 3 — среда с гидролизатом лактальбумина. По оси абсцисс — время наблюдения в часах, по оси ординат — число личинок.

Dynamics of hatching of larvae by one female *Trichinella spiralis* in vitro in different nutrient media.

в раствор. Через час кишечных трихинелл собирали и многократно отмывали стерильным физиологическим раствором.

Для наблюдения за процессом отрождения личинок отбирали по 2 самки трихинелл и помещали их в стерильные пластиковые чашки Петри объемом 5 мл, содержащие одну из исследуемых питательных сред с добавкой антибиотиков — канамицина и леворина (по 100 мг/мл среды). Чашки Петри с кишечными трихинеллами ставили в термостат при 37°. Процесс отрождения половозрелыми трихинеллами личинок контролировали методом подсчета их под микроскопом МБС-9 (увеличением 14×2) через каждый час на протяжении 6 ч наблюдения.

Результаты исследования и обсуждение. Динамика отрождения личинок одной половозрелой самкой *Trichinella spiralis* in vitro в разных питательных средах представлена на рисунке. В растворе Эрла репродуктивная активность трихинелл к 1-му часу наблюдения была уже достаточно высокой (6—7 личинок на одну самку), к 4-му часу она продолжала возрастать (10—11 личинок на самку), а к концу наблюдения эта активность увеличилась незначительно. В среде Игла в течение 1-го часа наблюдения обнаружили всего по 2—3 личинки на одну самку, в дальнейшем их число увеличилось примерно вдвое и осталось на этом уровне до конца эксперимента. В среде с гидролизатом лактальбумина было обнаружено по одной личинке на одну самку за 1-й час наблюдений и дальнейшего прироста не отмечалось.

Таким образом, в результате проведенного исследования была выявлена определенная динамика отрождения личинок трихинелл половозрелыми особями при культивировании в разных питательных средах. Наиболее активно процесс отрождения у трихинелл протекает в сбалансированном солевом растворе Эрла и менее активно в среде Игла и среде с гидролизатом лактальбумина. Выход личинок трихинелл в среде Эрла составил к 4-му часу опыта около 80 % от общей массы личинок и их абсолютное число было в 2.5—10 раз больше, чем в среде Игла и среде с гидролизатом лактальбумина.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что в ранние сроки культивирования наилучшие условия для проявления репродуктивной активности кишечных трихинелл отмечались в растворе Эрла. По-видимому, отсутствие питательных веществ в «голодных» средах (раствор Эрла) стимулирует отрождение личинок в связи с тем, что все обменные процессы, происходящие в половозрелой особи, в таких условиях направлены на активизацию воспроизведения потомства. В искусственных питательных средах, обогащенных аминокислотами и витаминами, на ранних сроках культивирования половозрелых трихинелл отмечалась более слабая репродукция. В то же время известно, что на синтетических питательных средах с добавлением естественного белкового компонента (фетальная телячья сыворотка) через 18—24 ч культивирования удается получить значительную массу личинок (Rossi, Pozio, 1988; Wang, Bell, 1988). Однако при использовании этих питательных сред с целью получения большого количества трихинелл для проведения биохимических и иммунологических исследований, требуется вводить очистку личинок от белковых компонентов среды и фрагментов разрушающихся в процессе длительного культивирования кишечных и юных форм трихинелл. Использование среды Эрла, содержащей минимальное количество питательных веществ, позволяет получать достаточно большую массу личинок трихинелл в первые часы культивирования.

Список литературы

- Б р и т о в В. А. Репродуктивная способность различных вариантов трихинелл // Профилактика заразных и незаразных болезней животных в Сибири. Матер. науч. конф., посвященной 50-летию Сибирского НИВИ. Омск, 1973. С. 173—174.
- Т а р а к а н о в В. И. О развитии *Trichinella spiralis* in vivo и in vitro // Тр. ВИГИС. 1971. Т. 18. С. 255—263.
- Т а р а к а н о в В. И. Методика приготовления искусственной питательной среды для культивирования трихинелл // Матер. докл. к 2-й Всесоюз. конф. по проблеме трихинеллеза человека и животных (27—28 мая 1976). Вильнюс, 1976. С. 209—213.
- B e l l R. G., W a n g C. H. The *Trichinella spiralis* newborn larvae: production, migration and immunity in vivo // W i a d. p a r a z y t o l. 1987. Vol. 33, N 4—5. P. 453—478.
- G o u l d S. E., G o m b e r g H. I., V i l l e l l a J. B., H e r t z C. S. Studies of *T. spiralis* // A m e r. J. P a t h o l. 1955. Vol. 31, N 5. P. 933—963.
- O l s e n B. S., V i l l e l l a J. B., G o u l d S. E. Distribution of *T. spiralis* in muscles of experimentally infected swine // J. P a r a s i t o l. 1964. Vol. 50, N 4. P. 489—495.
- R o s s i P., P o z i o E. Criopreservation of *Trichinella* newborn larvae // J. P a r a s i t o l. 1988. Vol. 74, N 3. P. 510—511.
- W a n g C. H., B e l l R. G. Host immunity against newborn *Trichinella spiralis* larvae of different ages // J. P a r a s i t o l. 1988. Vol. 74, N 5. P. 880—882.

НИИ эпидемиологии, микробиологии,
паразитологии и гигиены МЗ РСФСР,
г. Ростов-на-Дону

Поступила 25.07.1989

REPRODUCTIVE ACTIVITY OF TRICHINELLA SPIRALIS AT EARLY STAGES OF CULTIVATION IN ARTIFICIAL NUTRIENT MEDIA

I. A. Sivovalova, Ju. I. Vaserin, S. A. Nagorny

Key words: *Trichinella spiralis*, larvae, cultivation

SUMMARY

Reproductive activity of mature *Trichinella spiralis* was studied during its cultivation in three nutrient media. Most active hatching of *Trichinella* larvae was observed in Erl's saline, less active in Eagle's medium and in the lactalbumin hydrolyzate medium. In Erl's medium the hatching of larvae accounted for 80% of their total mass for the first four hours of the experiment and the absolute number of larvae was 2.5 to 10 times greater than that in the two other media. The use of Erl's medium makes it possible to obtain a considerable number of *Trichinella* larvae in 4 to 6 hours of cultivation.
