

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЛОХ
CERATOPHYLLUS CONSIMILIS WAGN.,
ЗАРАЖЕННЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ МЫШИНОГО ТИФА
(*SALMONELLA TYPHIMURIUM*)

В. С. Ващенко и П. А. Чиров

Ленинградская противочумная станция и Институт биологии
АН Киргизской ССР, Фрунзе

Гистологическое исследование блох *C. consimilis*, зараженных *S. typhimurium*, показало, что сохранение возбудителя этой инфекции в их организме приурочено к пищеварительному тракту. Микробы обнаруживались на всем его протяжении, но с наибольшим постоянством выявлялись в средней кишке и в пилорическом отделе. Бактерии концентрируются в полости кишечника, но помимо этого отмечено их проникновение в клетки пищеварительного эпителия и в ткань пилорического клапана. Численность микробов в кишечнике подвержена значительным изменениям, что в большой степени обусловлено ритмом питания насекомых. При кровососании происходит «промывание» пищеварительного тракта, в результате чего накапливающиеся здесь массы микробов периодически выводятся наружу. Заражение салмонеллами у блох нередко сопровождается разрушением эпителия средней кишки и клеток пилорического клапана.

Многочисленные сведения о естественной зараженности салмонеллами, патогенными для теплокровных животных, кровососущих насекомых и клещей, а также специальные экспериментальные исследования показывают, что некоторые из этих микробов, попадая с кровью прокормителя в пищеварительный тракт паразитирующих на нем членистоногих, не утрачивают жизнеспособности и находят в их организме условия, пригодные для обитания. Сохраняя способность к размножению, эти микробы могут вызвать стойкое заражение эктопаразитов. Восприимчивость к заражению салмонеллами установлена для иксодовых (Parker a. Steinhau, 1943) и аргасовых клещей (Глухов, 1971а, 1971б; Глухов и Егорова, 1971), вшей (Alverdes u. Bieling, 1949; Milner et al., 1957), блох (Blanc et Baltazar, 1944; Eskey et al., 1949; Хрущелевская с соавторами, 1971; Гребенюк с соавторами, 1973).

В опытах с блохами было показано, что эти эктопаразиты могут заражаться, длительно сохранять и передавать лабораторным животным *Salmonella suispestifer*, *S. schottmülleri* (= *S. paratyphi* В), *S. typhimurium*, а по некоторым данным также *S. enteritidis*. Можно предполагать, что блохи играют определенную роль в поддержании природной очаговости салмонеллезных инфекций. Вместе с тем особенности переживания салмонелл в организме этих эктопаразитов во многом остаются не изученными. Очень мало известно, в частности, о локализации возбудителя в организме блох. Для выяснения этого вопроса нами было предпринято гистологическое исследование блох *Ceratophyllus consimilis* Wagn., зараженных *S. typhimurium*. Как было показано в экспериментальном исследовании Гребенюк с соавторами (1973), эти эктопаразиты, заражаясь, способны длительно (до 23 дней) сохранять возбудителя мышинового тифа, выделять его с экскрементами во внешнюю среду и передавать инфекцию укусом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использовалась лабораторная культура блох *C. consimilis*. Их заражение проводилось кормлением через эпидермальную мембрану и через капилляр микропипетки по методу Алексеева (1965). В первом случае использовалась дефибрированная кровь морской свинки, в которую подмешивалась суточная агаровая культура *S. typhimurium* в концентрации 1 млрд микробных клеток на 1 мл. При инфицировании блох кормлением из капилляра суспензия, приготовленная на гемолизированной крови, содержала 250 млн микробных клеток. После заражающего кормления часть эктопаразитов содержалась постоянно с прокормителем (белая мышь), другие подкармливались через 2—4 суток. Продолжительность опыта ограничивалась 15 днями. В течение этого периода подопытных блох, включая погибших, регулярно фиксировали в жидкости Карнуа и из них готовили парафиновые срезы 5—7 мк.

Для окраски препаратов использовали азур-эозин по Романовскому-Гимза; микробы при этом окрашивались в синий цвет, базофильные структуры тканей насекомого — в синий или фиолетовый, цитоплазма клеток со слабым содержанием нуклеиновых кислот — в розовый, кровь в зависимости от степени переваривания — в разные оттенки розового цвета, непереваренные остатки в кишечнике имели золотистый или грязно-желтый цвет. Всего гистологическим методом было исследовано 112 блох (84 самки и 28 самцов). Из них 96 были зафиксированы живыми и 16 погибшими.¹

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На гистологических препаратах, изготовленных из *C. consimilis*, зараженных *S. typhimurium*, микробы обнаруживались чаще всего в виде удлинённых нередко биполярно окрашенных палочек. Помимо этого они встречались в форме овоидов, шариков, укороченных палочек и мелких коккобацилл. Размеры палочек составляли от 1.7 до 2 мк в длину и 0.6—0.8 мк в ширину, диаметр овоидов и шаровидных форм обычно был менее 1 мк.

Инфицированных особей по гистологическим препаратам удавалось выявлять в течение всего периода наблюдений. Следует однако заметить, что при использовании для заражения гемолизированной крови со взвесью возбудителя отчетливо различимых микробных клеток в блохах, зафиксированных сразу после инфицирующего кормления и в течение первых суток, отмечать не удавалось. Вместе с тем в содержимом кишечника в изобилии наблюдались разнообразные по величине и форме гранулы и крупно-зернистые влыбки, окрашенные в такой же синий цвет, как обычно красились на срезах микробы. Судя по всему эти образования представляют собой скопления деформированных и отчасти разрушенных микробных клеток, которые видоизменяются, попадая в пищеварительный тракт. Однако по истечении суток, а у некоторых особей и раньше, в кишечнике начинали встречаться отчетливо различимые бактерии.

У блох, зафиксированных живыми, локализация микробов ограничивалась пределами пищеварительного тракта. Проникновения возбудителя в полость тела или в другие органы и ткани, включая мальпигиевы сосуды, у таких насекомых не наблюдалось. В пищеварительном тракте микробы встречались на всем его протяжении, начиная от преджелудка и кончая ректальной ампулой. Однако частота, с которой они выявлялись в разных отделах, была неодинаковой. У особей, просмотренных через сутки и позднее после заражающего кормления, в преджелудке микробы были обнаружены в 22 случаях, в средней кишке — в 31, в пилорическом

¹ Следует отметить, что после гибели блохи быстро подсыхают, становятся хрупкими, сильно крошатся при резке, и из них было трудно приготовить в достаточном количестве препараты, пригодные для исследования.

отделе — в 34, в тонком кишечнике — в 16 и в ректальной ампуле — в 23 случаях. В преджелудке (см. рисунок, 1) микробы наблюдались в виде коротких или удлинённых палочек, овоидов, иногда имели форму шариков, но чаще всего в виде мелких коккобацилл. Микробы чаще всего располагались рыхло отдельными клетками; их можно было видеть в центральной части полости, в промежутках между иглами и на поверхности игл, но иногда они образовывали небольшие скопления, состоящие из плотно прилегающих друг к другу клеток. Такие сгустки бактерий находились, как правило, непосредственно у стенок преджелудка между основаниями игл. Больших скоплений микробов, заполняющих полностью полость преджелудка и обеспечивающих его непроходимость, т. е. образования «блока», как это имеет место при чумной инфекции, нам отмечать не приходилось.

В средней кишке (см. рисунок, 2—5) микробы выявлялись в форме коротких или удлинённых палочек, а также в виде мелких коккобацилл. Последние наблюдались особенно часто, в тех случаях, когда бактерии образовывали крупные плотные скопления. Микробы наблюдались на всех стадиях пищеварений как в центральной части полости в содержимом кишечника, так и в непосредственной близости от поверхности эпителиальных клеток, вплотную прилегая к палочковому слою, рабдориуму, а также в складках эпителия, образующихся на поздних стадиях переваривания крови. В отдельных очень редких случаях нам удавалось отмечать проникновение микробов внутрь пищеварительных клеток.

Бактерии в средней кишке могли располагаться поодиночке, короткими цепочками, небольшими группами, а нередко образовывали крупные глыбообразные плотные скопления. Такие плотные массы микробов иногда занимали всю полость кишки и составляли основное ее содержимое. Большое скопление микробов в полости обычно сопровождалось разрушением пищеварительного эпителия. Иногда оно затрагивало лишь апикальные части клеток на отдельных участках средней кишки, а в отдельных случаях эпителиальная выстилка полностью разрушалась на большей части внутренней поверхности кишки, и микробная масса прилегалa непосредственно к мускульной обкладке.

В пилорическом отделе микробы выявлялись в виде укороченных палочек или овоидов. Их небольшие рыхлые скопления, а также плотные сгустки и отдельные клетки наблюдались в полости пилорической ампулы, по ее стенкам и наиболее часто в складках задней стенки пилорического клапана (см. рисунок, 6). Помимо этого отдельные бактерии и их небольшие группы нередко отмечались непосредственно в его ткани между клетками, а также проникали в цитоплазму клеток. Наблюдавшиеся в этой части кишечника патологические изменения ограничивались разрушением отдельных клеток пилорического клапана. В тонкой кишке (см. рисунок, 7) микробы обычно имели форму типичных биполярных палочек; скольконибудь значительных скоплений они здесь не образовывали. Их отдельные клетки или небольшие группы клеток могли располагаться как в срединной части полости, так и по стенкам и встречались на всем протяжении этого отдела кишечника. Проникновения микробов внутрь эпителиальных клеток и каких-либо патологических изменений в тканях тонкой кишки не отмечалось.

В ректальной ампуле (см. рисунок, 8) микробы чаще всего имели вид удлинённых палочек. Бактерии поодиночке, короткими цепочками в 2—4 клетки, а также беспорядочными рыхлыми скоплениями встречались повсеместно в полости среди ее содержимого, а также по стенкам ампулы и на поверхности ректальных сосочков. Так же, как и в тонкой кишке, проникновения микробов в стенки ректальной ампулы или каких-либо патологических нарушений в тканях этой части пищеварительного тракта не наблюдалось.

Обилие микробов в одних и тех же отделах пищеварительного тракта, как и во всем кишечнике, у разных особей сильно варьировало. Зависимости между обилием возбудителя в пищеварительном тракте блох и

сроками их заражения не прослеживалось и, по-видимому, она подвержена периодическим изменениям. Отмечено, что у свеженапитавшихся блох, когда в кишечнике содержится слабо переваренная кровь с неразрушенными форменными элементами, в преджелудке и в средней кишке редко наблюдались значительные скопления микробов. У таких блох здесь или не удавалось выявлять бактерий или же они обнаруживались в небольшом количестве, рассеянные поодиночке и небольшими группами в содержимом кишечника. В то же время микробы чаще выявлялись в задних отделах кишечника. Судя по всему при питании основная масса бактерий, находящихся в преджелудке и в полости средней кишки, обычно вымывается поступающей сюда кровью и вытесняется вместе с неперева­ренными остатками пищи в задние отделы пищеварительного тракта, а затем выводится с экскрементами наружу. Оставшиеся микробы могут вновь размножиться, чему способствует обилие пищевого материала, содержащегося в свежей крови. Таким образом, в организме инфицированных блох происходит постоянное обновление популяции возбудителя. Следует также отметить, что на ранних стадиях пищеварения, когда в кишечнике блох содержится цельная или слабо переваренная кровь, выявлявшиеся здесь микробы, как правило, имели форму типичных палочек. На поздних стадиях переваривания крови чаще встречались коккобациллы. Помимо этого на поздних стадиях пищеварения и особенно после его окончания в средней кишке и в других отделах пищеварительного тракта приходилось наблюдать, иногда в значительном количестве, скопления мелких гранул, красящихся в синий цвет. Возможно, что они представляют остатки разрушенных бактерий, отмирающих вследствие недостатка питательных веществ.

При исследовании блох, зафиксированных погибшими, микробы были выявлены на 10 препаратах из 16 изготовленных. Во всех случаях, когда были обнаружены микробы, они наблюдались в разных отделах пищеварительного тракта и в первую очередь в средней кишке, и помимо этого у 5 особей отмечено проникновение возбудителя в полость тела.

В кишечнике микробы характеризовались значительным полиморфизмом. Наряду с палочками часто встречались мелкие коккобациллы. Наиболее многочисленными бактериями были в средней кишке, где они нередко образовывали плотные глыбообразные сгустки, состоящие из плотно прилегающих друг к другу клеток. Пищеварительный эпителий у таких блох, как правило, был разрушен и микробная масса прилегалa непосредственно к внутреннему слою продольных мышц, оплетающих среднюю кишку, а отдельные микробные клетки можно было также наблюдать непосредственно в мышечной ткани. В полости тела микробы всегда имели вид биполярно-окрашенных палочек. Располагались они обычно беспорядочной россыпью в виде отдельных клеток, коротких цепочек в 2—3 клетки и небольших рыхлых групп. Микробы обнаруживались в полости повсеместно, но особенно большие скопления их отмечались поблизости от стенок средней кишки. большей частью бактерии располагались в промежутках между внутренними органами; в отдельных случаях они проникали под соединительно-тканые оболочки, покрывающие различные ткани со стороны полости и в отдельных случаях их можно было наблюдать в цитоплазме клеток жирового тела, в мышцах, в разных отделах яйцевых трубок и даже среди желточных шаров в созревающих ооцитах.

Как отмечалось, инфицированных блох удавалось выявлять при исследовании срезов в течение всего периода наблюдений. Однако частота обнаружения микробов у насекомых, зафиксированных через разные сроки после инфицирующего кормления, была неодинаковой. В группе блох, исследованных через 1—5 суток после заражения, бактерии обнаружены у 61.4% особей, через 6—10 дней этот показатель составил 50, а через 11 дней и позднее — 39.1%. Уменьшение процента инфицированных блох позволяет считать, что часть особей освобождалась от возбудителя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного гистологического исследования блох *C. consimilis*, зараженных *S. typhimurium*, позволяют заключить, что длительное сохранение этой инфекции в их организме приурочено к пищеварительному тракту. У блох, зафиксированных живыми, распространение микробов, как правило, ограничивалось кишечником, где они могли наблюдаться во все сроки после заражающего кормления, включая предельные (15 дней).

Проникновение возбудителя в полость тела отмечалось только у блох, зафиксированных погибшими, причем не у всех особей. Оно всегда сопровождалось выраженными патологическими изменениями в кишечнике, особенно в области средней кишки, и обильным обсеменением всех участков микроцеля. Можно предполагать, что выход возбудителя в полость тела является результатом обострения инфекционного процесса и приводит к быстрой гибели эктопаразита. Вместе с тем нельзя полностью исключить, что наблюдавшееся нами в ряде случаев заражение полости тела могло произойти уже после гибели насекомых.

В пищеварительном тракте микробы независимо от времени, прошедшего после инфицирующего кормления, встречались в различных его отделах, а на некоторых препаратах их можно было наблюдать на всем протяжении кишечника, начиная от преджелудка и кончая ректальной ампулой; однако с наибольшим постоянством они выявлялись в средней кишке и в пилорическом отделе.

В средней кишке микробы обнаруживались чаще всего в содержимом ее полости, где они находят благоприятные условия для размножения и могут образовывать крупные скопления в виде плотных сгустков. Численность микробов здесь подвержена значительным изменениям, что, вероятно, в большой степени зависит от ритма питания насекомых. Отсутствие постоянных глубоких складок и слепых выростов способствует периодическому вымыванию основной массы микробов при кровососании током свежей крови и выведению их вместе с неперевавшими остатками в задние отделы пищеварительного тракта. Такое «периодическое» промывание кишечника иногда может приводить к полному освобождению средней кишки от инфекции, но чаще какая-то часть микробов остается в пределах желудка и, размножаясь, обеспечивает здесь новое накопление возбудителя. В отдельных, очень редких случаях удавалось наблюдать проникновение микробов внутрь отдельных эпителиальных клеток, что также может способствовать поддержанию инфекции в среднем отделе кишечника. Другим местом сохранения возбудителя является пилорический отдел пищеварительного тракта. С этой частью кишечника связано наиболее частое обнаружение микробов на срезах инфицированных блох. Значительные скопления бактерий и отдельные микробные клетки наблюдались в полости пилорической ампулы, по ее стенкам, в складках пилорического клапана. Особого внимания заслуживает способность микробов глубоко внедряться в стенку последнего. Размножаясь непосредственно в ткани клапана, возбудитель образует здесь наиболее стойкие очаги концентрации.

В преджелудке микробы, как правило, не образовывали значительных скоплений. Они здесь встречались чаще всего в виде беспорядочно рассеянных в полости или расположенных на поверхности игл отдельных клеток и очень редко составляли небольшие плотные скопления около стенок. Насколько длительно здесь может сохраняться инфекция, судить трудно. Принимая во внимание, что сразу после питания микробов в преджелудке никогда не отмечалось, что они легко вымываются током поступающей сюда при кровососании крови. Однако, учитывая тесную связь преджелудка со средней кишкой, можно предполагать, что между этими двумя отделами существует постоянный обмен возбудителем при перистальтических сокращениях кишечника.

Задние отделы пищеварительного тракта, тонкая кишка и ректальная ампула, по всей вероятности, не играют существенной роли в длительном сохранении инфекции. Микробы поступают сюда из средней кишки и пилорического отдела и периодически выводятся из организма наружу вместе с экскрементами.

Выведение микробов, размножающихся в кишечнике, вместе с экскрементами во внешнюю среду, по всей вероятности, имеет основное значение в распространении возбудителя мышинного тифа блохами. Вместе с тем присутствие микробов в переднем отделе пищеварительного тракта и, в частности, в преджелудке, хотя и не обеспечивает образование «блока», как это имеет место при чумной инфекции, создает условия для передачи возбудителя в некоторых случаях через укусы по принципу «отрыжки», возможность которой при питании была установлена для ряда видов блох Балашовым с соавторами (1965).

Способность *S. typhimurium* длительно сохраняться в организме *C. consimilis*, размножаясь в кишечнике и проникая в ткани переносчика, указывает на адаптивный характер их связей с кровососущими членистоногими, а данные о патогенном воздействии возбудителя мышинного тифа на блох свидетельствуют о паразитической форме этого сожительства.

Литература

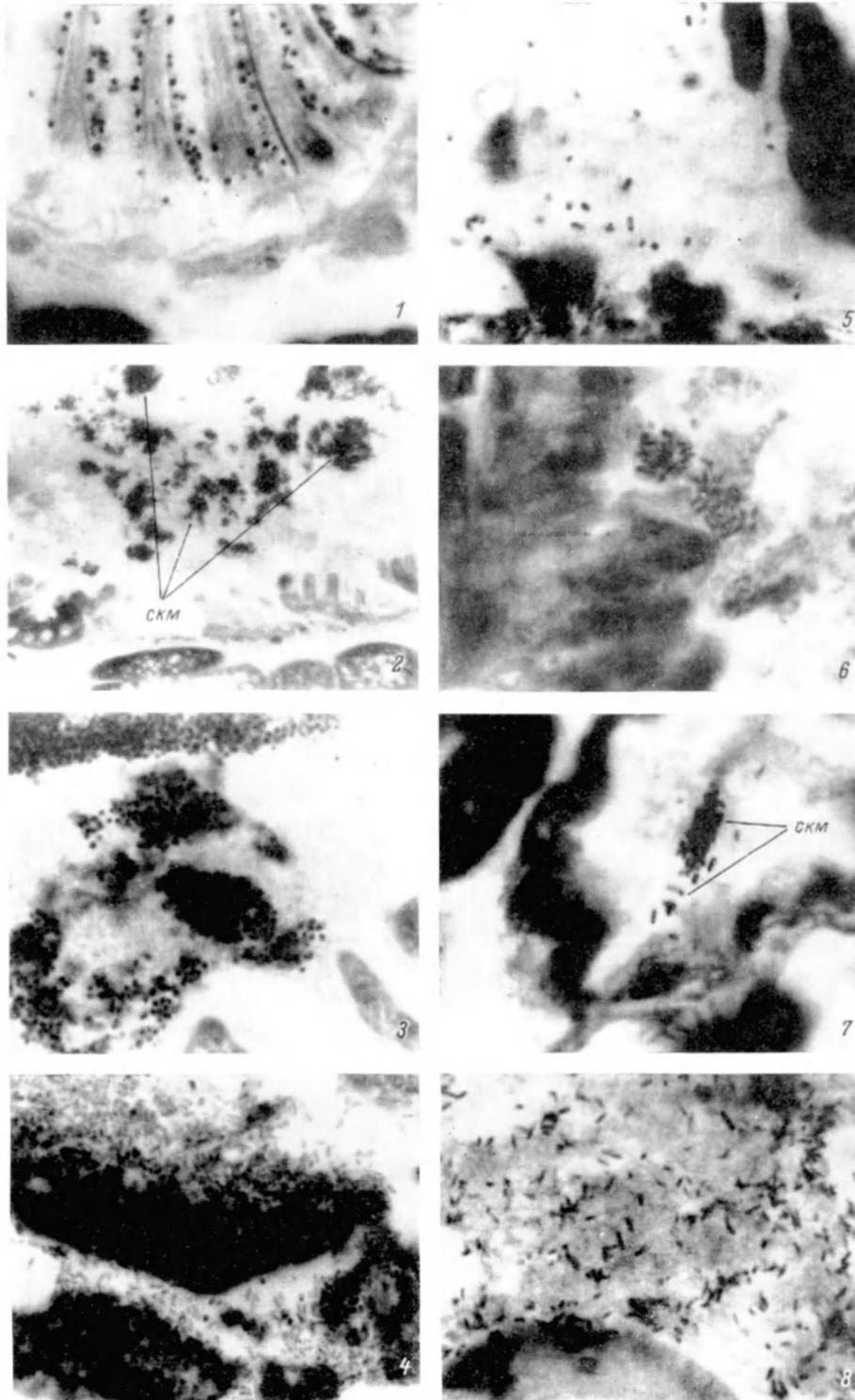
- Алексеев А. Н. 1965. Принудительное дозированное кормление насекомых. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 4 : 467—471.
- Балашов Ю. С., Бибилова В. А., Мурзахметова К. и Полупина О. А. 1965. Питание и нарушение клапанной функции преджелудка у блох. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 4 : 471—476.
- Глухов В. Ф. 1971а. Клеши *Argas persicus* как резервенты возбудителя паратифа птиц. Научн. тр. Ставропольского сельскохозяйственного инст., 34 (4) : 80—82.
- Глухов В. Ф. 1971б. Значение персидских клещей в сохранении возбудителя типа птиц в природе. Научн. тр. Ставропольского сельскохозяйственного инст., (4) : 83—86.
- Глухов В. Ф. и Егорова Е. А. 1971. Значение персидских клещей в распространении *Salmonella typhi murium* среди птиц. Научн. тр. Ставропольского сельскохозяйственного инст., 34(4) : 53—56.
- Гребенюк Р. В., Чиров П. А. и Кадышева А. М. 1973. Об адаптивности возбудителя мышинного тифа (*Salmonella typhimurium*) к организму блох *Ceratophyllus consimilis* Wagn. Паразитол., 7 (4) : 331—335.
- Хрущелевская Н. М., Бибилова В. А., Стулина В. М. и Федорова В. И. 1971. К способности блох хранить и передавать возбудителя салмонеллеза. В кн.: Материалы VII научной конференции противочумных учреждений Средней Азии и Казахстана, Алма-Ата : 185—186.
- Alverdes F. und Billung F. 1949. Untersuchungen über bakterielle Infektionen bei Kleiderläusen (*Pediculus vestimenti*). Z. Naturforschung, 46 (3) : 150—157.
- Blanc G. et Baltazard M. 1944. Contribution à l'étude du comportement des microbes pathogenes chez les insectes hematophages Arch. de l'inst. Pasteur du Maroc, 3 (2) : 21—49.
- Eskey C. R., Prince F. M. and Fuller F. B. 1949. Transmission of *Salmonella enteritidis* by the rat fleas *Xenopsylla cheopis* and *Nosopsylla fasciatus*. Publ. Health. Rep. (U. S.), 64 (30) : 933—941.
- Milner K. C., Jellison W. L. and Smith. 1957. The role of lice in transmission of *Salmonella*. J. Infect. Disease., 101 (2) : 181—192.
- Parker R. R. and Steinhilber E. A. 1943. *Salmonella enteritidis*: experimental transmission by the Rocky Mountain wood tick *Dermacentor andersoni* Stiles. Publ. Health. Rep., 58 : 1010.

HISTOLOGICAL STUDY OF CERATOPHYLLUS CONSIMILIS WAGN.
INFECTED WITH SALMONELLA TYPHIMURIUM

V. S. Vashchenok and P. A. Chirov

S U M M A R Y

Histological studies of *C. consimilis* infected with *S. typhimurium* have shown that the microbes are preserved along the whole extent of the alimentary canal, especially in the midgut and pyloric portion. Bacteria are concentrated in the gastral cavity; in addition, they were found to penetrate the alimentary epithelium cells and pyloric valve tissue. The number of microbes and their distribution in the intestine undergo great variations that depends largely on the insects feeding rhythm. During bloodsucking a «lavement» of the alimentary canal takes place; as a result, numerous microbes accumulated here are periodically excreted outside. The infection with *Salmonella typhimurium* is often accompanied by pathological changes in fleas that is expressed in the destruction of the midgut epithelium and pyloric valve tissue.



Salmonella typhimurium в пищеварительном тракте экспериментально зараженных блох *Ceratophyllus consimilis*.

1 — микробы в преджелудке инфицированной блохи; 2 — скопления микробов в средней кишке (скм); 3 — то же (фрагмент); 4 — сгустки мелких палочковидных микробов в полости средней кишки; 5 — группа микробов вблизи эпителия средней кишки; 6 — скопления микробов в области пилорического клапана; 7 — то же в полости тонкой кишки; 8 — то же в полости ректальной ампулы. 1, 3—8 — об. 90×; 2 — об. 20×.