

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БЛОХ
CERATOPHYLLUS CONSIMILIS WAGN.,
ЗАРАЖЕННЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ ЛИСТЕРИОЗА
(*LISTERIA MONOCYTOGENES*)

В. С. Ващенко, П. А. Чиров

Ленинградская противочумная станция
и Институт биологии АН КиргССР

Гистологическое исследование показало, что у экспериментально зараженных блох *C. consimilis* сохранение листерий приурочено к пищеварительному тракту. Микробы встречались на всем его протяжении от пищевода до ректальной ампулы, но с наибольшим постоянством выявлялись в средней кишке и преджелудке. Листерии способны проникать в цитоплазму пищеварительных клеток, разрушают эпителиальную выстилку средней кишки, могут внедряться в ее мышечную обкладку, а в отдельных случаях проникают в полость тела насекомого. Обнаружение листерий в разные сроки после заражения блох в пищеводе подтверждает возможность безблоковой передачи инфекции через укус.

Листерия — зоонозное заболевание, к которому восприимчив и человек, известное главным образом, в связи с широким распространением среди с.-х. животных (Сахаров, Гудкова, 1954; Зеелигер, 1959; Триполитова и Борисова, 1965; Бакулов, 1967; Гребенюк, Чиров и Кадышева, 1972). Выделение листерий от грызунов, насекомоядных и иксодовых клещей позволило Олсуфьеву еще в 1954 г. выразить мнение о природно-очаговом характере этого заболевания. Бакулов (1967), анализируя исследования последних лет, приходит к выводу, что листериоз является факультативно-трансмиссивной инфекцией. Круг естественных носителей *Listeria monocytogenes* в настоящее время в СССР насчитывает 50 видов диких позвоночных животных и более 20 видов кровососущих членистоногих — паразитов с.-х. животных, птиц и грызунов (Гребенюк, Чиров и Кадышева, 1972).

Естественная зараженность блох листериями устанавливалась неоднократно (Мартиневский, 1961; Михайлова и Якунина, 1962; Рассказова и Прокопьев, 1962; Юркина, 1963; Ганиев и Мамедова, 1964). В экспериментальных исследованиях было показано, что эти эктопаразиты легко воспринимают возбудителя листериоза, длительно сохраняют его в своем организме, могут передавать укусом, активно выделяют инфекцию во внешнюю среду с экскрементами (Рассказова и Прокопьев, 1962; Огнева, 1964; Алексеев и др., 1971; Гребенюк и др., 1971). Вместе с тем многие особенности взаимоотношений этих микробов с блохами изучены слабо. Мало известно, в частности, о локализации возбудителя в организме этих насекомых, недостаточно исследован механизм передачи. Учитывая это, а также возможное значение блох в эпизоотологии листериоза у мелких млекопитающих, нами было проведено гистологическое исследование блох *Ceratophyllus consimilis* Wagn., зараженных листериями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опытах использованы блохи *C. consimilis*, полученные из Средне-Азиатского противочумного института и культивируемые в лаборатории паразитологии Института биологии АН КиргССР. Блох заражали через 5—8 суток после вылупления из коконов. Инфицирование их проведено штаммом *L. monocytogenes* № 77, выделенным из мозга лесной мыши (Гребенюк, Чиров и Кадышева, 1972). Штамм обладал всеми признаками, свойственными этому виду микробов и довольно высокой вирулентностью для белых мышей ($LD_{50}=1000$ м. к.).

Заражение блох осуществляли кормлением через эпидермальную мембрану (шкурка белой мыши) суспензией листерий (1 млрд м. т. в 1 см³), приготовленной из смыва суточной агаровой культуры и дефибрированной крови морской свинки. После заражающего кормления часть блох содержали постоянно с прокормителем, других подкармливали периодически, через 2—4 суток.

Подопытных блох регулярно фиксировали в жидкости Карнуа и затем изготавливали парафиновые срезы толщиной от 4 до 7 мкм.

Техника гистологического исследования мало отличалась от применявшейся нами ранее при изучении блох, зараженных возбудителем мышиного тифа (Ващенко и Чиров, 1975). Следует, однако, отметить, что использовавшаяся для выявления салмонелл, а также чумных микробов (Ващенко и др., 1972) окраска азур-эозином по Романовскому-Гимза оказалась мало пригодной для листерий, так как микробы окрашивались очень бледно и не всегда четко различались, особенно на фоне тканей насекомого. Более удовлетворительные результаты были получены при окраске листерий по Граму в прописи Конну и Дарроу (Лилли, 1969). При этом способе окраски микробы принимали яркий синий цвет с лиловым или фиолетовым оттенком, имели четкие очертания и хорошо контрастировали как с содержимым кишечника, так и с тканями переносчика.

Всего нами были просмотрены гистологические препараты, приготовленные из 134 блох (75 самок и 59 самцов). Продолжительность опыта ограничивалась 15 днями.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На гистологических срезах, приготовленных из экспериментально зараженных блох *C. consimilis*, листерии выявлялись в виде мелких относительно толстых и коротких грамположительных палочек с закругленными краями, нередко имевших биполярную окраску. Их размеры составляли 1.1—1.8 мкм в длину и 0.6—0.9 мкм в ширину. В инфицированных органах микробы чаще всего располагались беспорядочной россыпью, состоящей из отдельных и попарно соединенных клеток, составляющих короткие цепочки или характерные V-образные фигуры. Реже отмечались скопления микробов в виде рыхлых кучек или небольших сгустков.

Локализация листерий в подавляющем большинстве случаев ограничивалась пищеварительным трактом. Микробы выявлялись на всем протяжении кишечника, начиная от пищевода и кончая ректальной ампулой, но частота их обнаружения, а также обилие возбудителя в разных его отделах были различными. Так из 59 блох, у которых была установлена по гистологическим препаратам зараженность листериями, они во всех случаях были выявлены в средней кишке. Помимо этого, у 92.6% особей микробы были обнаружены также в преджелудке, у 45.4% в пищеводе, у 22.2% в тонком отделе кишечника и у 45.7% в ректальной ампуле. У 2 блох, кроме того, отмечено проникновение листерий в полость тела насекомого.

В средней кишке инфицированных блох (рис. 1—6—на вклейке, стр. 28), где возбудитель выявлялся с наибольшим постоянством, беспорядочно рассеянные микробы и их рыхлые скопления отмечались повсеместно. Они

встречались в центральных и периферийных слоях содержимого полости кишки, в непосредственной близости от поверхности эпителия, в его складках, а также в цитоплазме пищеварительных клеток. Обилие и характер распределения микробов у разных особей были неодинаковыми и в значительной степени зависели от стадии пищеварения. У свеженапившихся особей возбудитель редко наблюдался в большом количестве. Отдельные микробные клетки и их небольшие группы, как правило, концентрировались в периферийных слоях пищевого комка и реже — в центральном стустке среди плотно прилегающих друг к другу эритроцитов. По мере переваривания крови и разрыхления пищевого комка их распределение в полости становилось более равномерным. На поздних стадиях пищеварения микробы обычно равномерно усеивали толщу гематина и располагались в складках эпителия, образующихся в результате спадения стенок средней кишки после переваривания крови.

Проникновение листерий в цитоплазму эпителиальных клеток отмечалось уже на вторые сутки после заражающего кормления, а на 5-е сутки регистрировалось у большинства зараженных особей. Микробы, проникшие в клетки, по своей морфологии не отличались от микробов находившихся в полости. Следует отметить, что возбудитель проникал не во все клетки, а лишь в некоторые, и независимо от сроков после заражения большая часть эпителия обычно была свободной от возбудителя.

У части зараженных блох имело место разрушение пищеварительного эпителия. Иногда оно затрагивало лишь вершины отдельных клеток, но у некоторых особей эпителиальная выстилка разрушалась полностью, вплоть до мышечных слоев, и эпителий на значительных участках превращался в аморфную слегка вакуолизированную массу с беспорядочно рассеянными в ней микробами. У насекомых с разрушенной эпителиальной выстилкой отмечено проникновение микробов внутрь оплетающих среднюю кишку мышечных слоев (рис. 7). Признаки разрушения эпителиальной выстилки у зараженных блох отмечались уже на 2-е сутки после заражения. В дальнейшем число особей с поврежденным эпителием возрастало и, начиная с 6-х суток, составляло около 50% от общего числа инфицированных блох. Вместе с тем у отдельных экземпляров, зафиксированных на 10-й день и в более поздние сроки после заражающего кормления, несмотря на наличие микробов в средней кишке, никаких патологических изменений отмечено не было.

В других отделах пищеварительного тракта внедрения микробов в ткани переносчика и патологических изменений их не наблюдалось.

В преджелудке (рис. 1, 2), с которым также связано частое обнаружение листерий у зараженных особей, отдельные микробные клетки и их небольшие группы чаще находились между хитиновыми иглами, но встречались и в содержимом средней части полости. Иногда они образовывали значительные рыхлые скопления, наблюдавшиеся наиболее часто в области кардиального клапана (на выходе в среднюю кишку).

Значительный интерес представляют случаи обнаружения листерий в пищеводе. Чаще и в большем числе микробы здесь отмечались у блох вскоре после заражения до их подкормки на здоровых белых мышах. У многократно питавшихся особей они выявлялись реже и, как правило, в виде отдельных микробов или их небольших групп из 3—4 клеток, причем обычно в проксимальной части пищевода. Обсеменение передних отделов кишечной трубки происходило при прохождении через них инфицированной кормовой жидкости во время заражающего кормления и, кроме того, микробы могли сюда попадать из преджелудка при перистальтических движениях, а, возможно, этому также способствовала в какой-то степени свойственная листериям активная подвижность. Судя по всему пребывание микробов в передних отделах пищеварительного тракта, по крайней мере в пищеводе, кратковременно, так как они легко смываются здесь током проходящей при питании крови. Вместе с тем возможность проникновения микробов в пищевод уже сама по себе может играть существенную роль в передаче инфекции укусом.

Присутствие микробов в задних отделах пищеварительного тракта целиком зависело от их выведения из средней кишки. Иногда, особенно в ректальной ампуле (рис. 8), если она была заполненной, можно было наблюдать обильную россыпь микробов, беспорядочно рассеянных в содержимом, поступившем из средней кишки. При пустой полости здесь изредка удавалось отмечать единичные микробные клетки.

Как уже упоминалось, в двух случаях имело место прижизненное проникновение возбудителя в полость тела насекомого. У одной особи (самец, зафиксированный на 7-е сутки после заражения) отмечено сильное разрушение эпителиальной выстилки в передней части средней кишки и обнаружены крупные сгустки микробов, расположившихся массивным кольцом вокруг кардиального клапана. Многочисленные отдельные микробы и довольно крупные скопления их наблюдались также в прилегающих к этой области мышечных слоях. В полости тела редкие одиночные микробы и их небольшие группы отмечались повсюду в промежутках между внутренними органами и в отдельных клетках жировой ткани. У второй блохи (также самец) зафиксированной сразу после подкормки на 5-е сутки после заражения, наблюдались сходные патологические изменения, а выход возбудителя в полость тела был обусловлен разрывом стенки средней кишки при кровососании.

Листерии по гистологическим препаратам выявлялись у подопытных блох в течение всего срока наблюдений, но процент инфицированных особей постепенно снижался. Сразу после заражения и до первой подкормки микробы обнаруживались у всех особей, на 4—7-е сутки не более чем у половины исследованных, а по истечении 10 суток лишь у 10—12%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гистологическое исследование показало, что локализация листерий в блохах ограничивается, как правило, пищеварительным трактом. Попадая в кишечник, микробы не претерпевают каких-либо видимых изменений. Встречаясь в разных его отделах, они всегда имели типичную для листерий форму, оставались, судя по всему, подвижными и не утрачивали способности к размножению. Можно полагать, что биохимические условия пищеварительного тракта на всем протяжении не оказывали на них сколько-нибудь заметного губительного действия. Наиболее существенную роль в освобождении блох от листерий, по всей видимости, играет механическое удаление микробов из кишечника с неперевавленными остатками пищи и «промывание» его полости током поглощаемой при питании крови. В этом отношении условия для приживания возбудителя в разных отделах пищеварительного тракта неодинаковы.

Результаты наблюдений позволяют сделать вывод, что основным местом сохранения листериозной инфекции у блох является средняя кишка, где микробы активно размножаются в содержимом ее объемистой полости и, кроме того, могут внедряться в цитоплазму пищеварительных клеток.

Из других отделов кишечника листерии наиболее часто присутствовали в преджелудке. Наличие густой щетки хитиновых игл, по всей вероятности, препятствует быстрому вымыванию отсюда микробов при прохождении крови. Вместе с тем основная причина частого присутствия микробов в этом отделе, по-видимому, заключается в тесной связи полости преджелудка с полостью средней кишки, свободно сообщающихся между собой через рукав кардиального клапана.

Остальные отделы кишечника не имеют самостоятельного значения в сохранении листериозной инфекции. Хитиновая интима, покрывающая внутреннюю поверхность переднего и заднего отделов пищеварительного тракта, по-видимому, не позволяет микробам внедряться в их ткань, а сколько-нибудь значительные полые выросты или постоянные складки отсутствуют, что облегчает механическое удаление микробов.

Обсеменение листериями передних отделов кишечника, в частности пищевода, происходящее при заражающем кормлении, оказывалось крат-

ковременным, так как возбудитель легко вымывался отсюда при последующих подкормках на здоровых животных. Однако отдельные особи с микробами в пищеводе встречались в течение всего периода наблюдений. По всей вероятности, возбудитель сюда периодически заносится из преджелудка при перестальтических сокращениях, а, возможно, в этом определенной роль играет свойственная листериям активная подвижность.

Присутствие микробов в пищеводе и преджелудке не вызывает у блох функциональных нарушений в передних отделах кишечника, связанных с их закупоркой, как это имеет место в случае чумной инфекции. Это позволяет считать, что заражение листериями через укусы блох происходит, как ранее отмечалось Гребенюк и др. (1971), посредством безблоковой передачи, по типу отрыжки, механизм которой был исследован Балашовым и др. (1965).

В задние отделы кишечника, отделенные от средней кишки плотно замыкающимся пилорическим клапаном, листерии периодически поступают с выводимыми сюда неперевааренными остатками пищи, а затем, как правило, полностью выводятся при дефекации.

Заражение блох листериями нередко приводит к разрушению пищеварительного эпителия, микробы могут также внедряться в мышечную ткань и в отдельных случаях наблюдалось их проникновение в полость тела.

Проведенные наблюдения не позволили выявить признаков взаимной адаптации блох и листерий. Возможность сохранения этих микробов в блохах, судя по всему, обусловлена большой устойчивостью их к воздействию различных факторов, что позволяет им вступать в паразитические отношения с широким кругом животных, включая членистоногих. Вместе с тем факт сохранения листерий в блохах, а также возможность передачи возбудителя укусом и рассеивание инфекции с экскрементами в окружающей среде позволяют предполагать, что эти насекомые играют определенную роль в эпизоотологии листериоза у мелких млекопитающих. Изучение взаимоотношений листерий с кровососущими членистоногими, кроме того, представляет несомненный интерес в плане выяснения возможных путей формирования трансмиссивного пути передачи возбудителей болезней.

Литература

- Алексеев А. Н., Гребенюк Р. В., Чиров П. А. и Кадышева А. М. 1971. О взаимоотношениях возбудителя листериоза (*Listeria monocytogenes*) и кровососущих блох (*Siphonaptera*). *Паразитолог.*, 5 (2) : 113—118.
- Бакулов И. А. 1967. Листериоз сельскохозяйственных животных. М.: 1—296.
- Балашов Ю. С., Бибилова В. А., Мурзахметова К. и Полунина О. А. 1965. Питание и нарушение клапанной функции преджелудка у блох. *Мед. паразитол. и паразитарн. болезни*, 4 : 471—475.
- Вашенко В. С., Чиров П. А., 1975. Гистологическое исследование блох *Ceratophyllus consimilis* Wagn., зараженных возбудителем мышинного тифа (*Salmonella typhimurium*). *Паразитолог.*, 9 (2) : 158—163.
- Вашенко В. С., Гончаров А. П., Елкин Ю. М. и Осипова С. П. 1972. Опыт гистологического исследования блох *Xenopsylla cheopis*, блокированных чумным микробом. *Проблемы особо опасных инфекций*. Саратов, 4 (26) : 157—158.
- Ганиев М. К. и Мамедова Д. Г. 1964. К вопросу природной очаговости листериоза сельскохозяйственных животных. В сб.: *Природная очаговость болезней и вопросы паразитологии*. Фрунзе, 4 : 55—57.
- Гребенюк Р. В., Алексеев А. Н., Чиров П. А. и Кадышева А. М., 1971. Блохи как возможные переносчики возбудителя листериоза. *Проблемы особо опасных инфекций*. Саратов, 4 (20) : 115—120.
- Гребенюк Р. В., Чиров П. А. и Кадышева А. М. 1972. Роль диких животных и кровососущих членистоногих в эпизоотологии листериоза. *Фрунзе* : 1—122.
- Зеллигер Х. 1959. Листериоз. М. : 1—303.
- Лилли Р. 1969. *Патогистологическая техника и практическая гистохимия*. М. : 1—645.
- Мартиневский И. Л. 1961. О листериозе больших и полуденных песчанок. *Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиологии*, 5 : 85—91.
- Михайлова О. А. и Якунина Т. И. 1962. Обнаружение возбудителя листериоза у грызунов г. Владивостока. *Изв. Иркутск. Гос. н.-иссл. противочумн. инст. Сибири и Дальнего Востока*, 24 : 116—117.

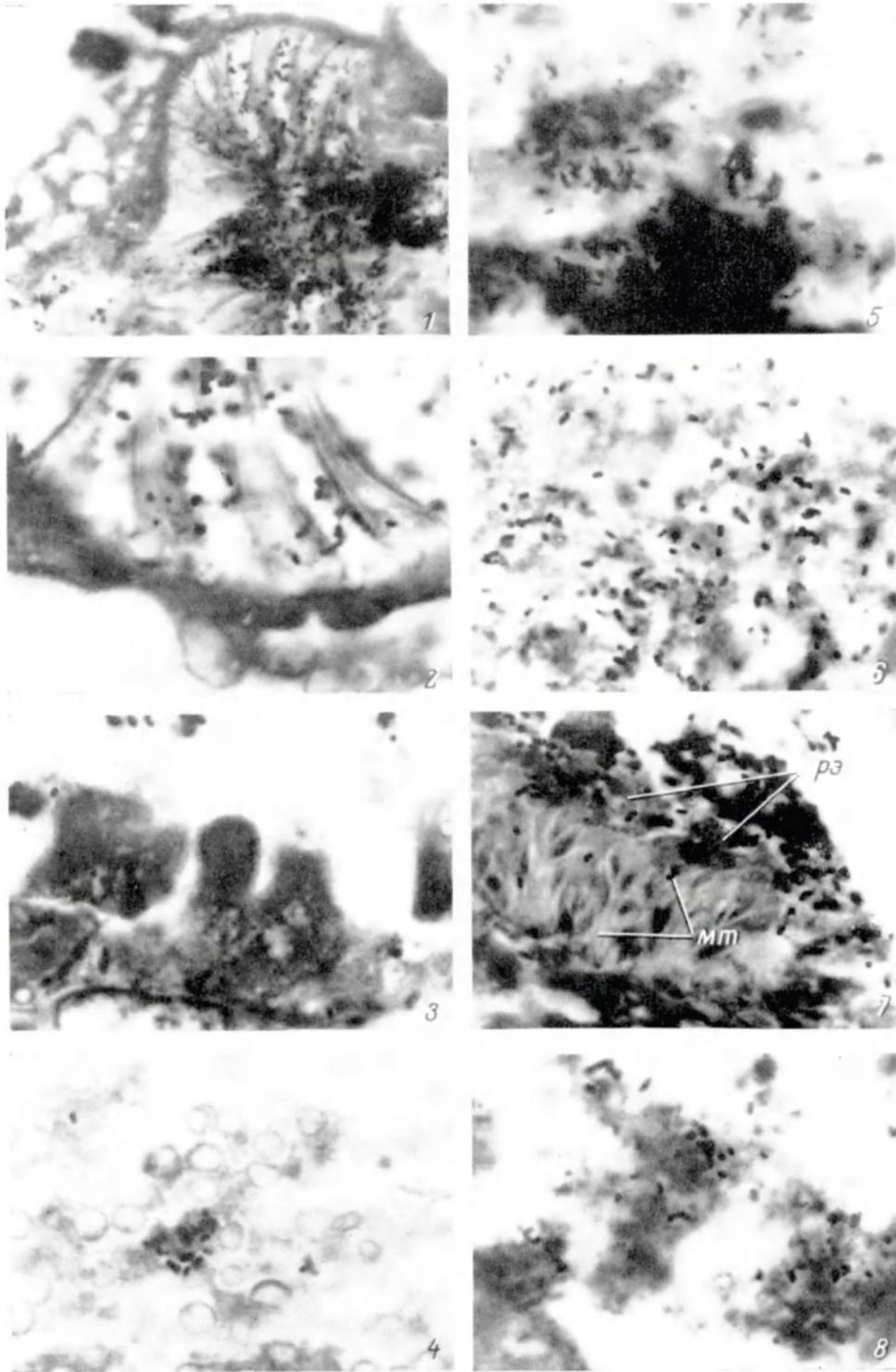
- О г н е в а Н. С. 1964. Об эпизоотологии листериоза грызунов. Зоолог. журн., 43 (9) : 1373—1380.
- Р а с с к а з о в а А. К. и П р о к о н ь е в В. Н. 1962. Изучение возможности хранения и передачи блохами листериозной инфекции. Докл. Иркутск. противочумн. инст., Иркутск, 4 : 212—217.
- С а х а р о в П. П. и Г у д к о в а Е. И. 1954. Листереллезная инфекция. Медгиз. М. : 1—182.
- Т р и п о л и т о в а А. А. и Б о р и с о в а Г. В., 1965. Листерииоз. Томск : 1—257.
- Ю р к и н а В. И. 1963. Блохи емуранчика (*Scirtopoda telum*) на випадок їх спонтанної зараженности збудником лістеріозу. Доповіді Академії наук Української ССР, 7 : 970—972.

HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF FLEAS,
CERATOPHYLLUS CONSIMILIS WAGN. INFECTED WITH
THE AGENT OF LISTERIOSIS (*LISTERIA MONOCYTOGENES*)

V. S. Vashehenok, P. A. Chirov

S U M M A R Y

Histological studies have shown that in experimentally infected fleas (*C. consimilis*) *Listeria* are preserved in the alimentary canal. In infected individuals microbes occur along the whole intestine, from oesophagus to the rectum but most often they are recorded from the mid-gut and proventriculus. *Listeria* are able to penetrate into the epithelial lining of the mid-gut, can penetrate into its muscular tissue and in some cases enter the body cavity of the insect. The finding of *Listeria* in the oesophagus confirms the possibility of the transmission of the infection by fleas through the bite without blocking



Листерии в пищеварительном тракте экспериментально зараженных блох *Ceratophyllus consimilis*.

1, 2 — микробы в преджелудке инфицированных блох; 3 — то же в средней кишке; 4 — группа микробов среди эритроцитов в средней кишке в центральных слоях пищевого комка недавно питавшейся блохи; 5 — сгустки микробов в периферийных слоях пищевого комка той же особи; 6 — россыпь микробов в гематине (средняя кишка) после переваривания крови; 7 — средняя кишка с разрушенным пищеварительным эпителием и микробами в мышечной ткани; 8 — листерии в ректальной ампуле. рэ — разрушенный эпителий; мт — мышечная ткань. 1 — об. 40×; 2—8 — об. 90×.