

СОХРАНЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ КИШЕЧНОГО ИЕРСИНИОЗА
В БЛОХАХ *XENOPSYLLA CHEOPIS*

В. С. Ващёнок

Ленинградская противочумная станция

Установлена возможность сохранения в экспериментально зараженных блохах *X. cheopis* двух штаммов *Y. enterocolitica*, из которых один принадлежал к 3-му серотипу, другой — к 9-му. Оба штамма активно размножались и накапливались в большом количестве (до нескольких миллионов микробных клеток) в эктопаразитах, содержащихся при 6—8°. При 18—21° часть блох постепенно освобождалась от возбудителя, чему способствовала периодическая подкормка или постоянное содержание с прокормителем. У насекомых, зараженных штаммом 3-го серотипа, снижение процента инфицированных особей происходило быстрее и сопровождалось уменьшением численности микробов. Штамм 9-го серотипа, помимо того что он более устойчиво сохранялся, обнаруживался у значительного числа особей в количестве, превышающем исходный уровень.

Возбудитель кишечного иерсиниоза (*Yersinia enterocolitica*) описан сравнительно недавно и во многом остается еще слабо изученным. В настоящее время он, за исключением Австралии, обнаружен на всех континентах земного шара и выделен от различных видов млекопитающих и птиц. В связи с патогенностью этого микроба для человека и некоторых домашних животных внимание к нему все более возрастает. Неоднократные случаи выявления возбудителя кишечного иерсиниоза в естественных популяциях животных позволяют предполагать о наличии природных очагов этой инфекции. В этой связи определенный интерес представляет изучение взаимоотношений этого микроба с кровососущими членистоногими, в частности с блохами, как возможными переносчиками инфекции среди грызунов и других мелких млекопитающих. Особенности взаимоотношений возбудителя кишечного иерсиниоза с блохами заслуживают также внимания в связи с его генетическим родством с чумным микробом и, кроме того, их изучение может в определенной степени дополнить характеристику свойств этого микроорганизма.

Данные о естественной зараженности кровососущих членистоногих *Y. enterocolitica* в настоящее время отсутствуют. Экспериментальные исследования ограничиваются наблюдениями Кринского с соавтор. (Krynsky et al., 1966), показавших, что микроб способен размножаться в кишечнике вшей и вызывает гибель этих насекомых.

В настоящем сообщении приводятся результаты наблюдений за длительностью сохранения возбудителя кишечного иерсиниоза в блохах *Xenopsylla cheopis* Rothsens, содержащихся при разной температуре и разном режиме питания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использовалась лабораторная культура блох *X. cheopis*, которых заражали двумя типовыми штаммами *Y. enterocolitica*, полученными Центральным эпидемиологическим институтом от доктора С. Вин-

блада (S. Winblad; Университет в Мальме, Швеция). Из них один, NMy 79 B, относился к 9-му и другой, NMy O, — к 3-му серологическому типам. Оба штамма авирулентны для лабораторных животных.

В опыт брались молодые, 2—3-дневные, до этого не питавшиеся блохи (самки). Их заражение проводилось кормлением через биологическую мембрану (шкурка белой мыши) дефибрированной кровью морской свинки, в которую в равном объеме добавлялась разведенная на физиологическом растворе 1-суточная агаровая культура возбудителя, выращенная при 28° С. Концентрация возбудителя в кормовой жидкости составляла около 500 млн клеток в 1 см³ (по стандарту мутности). После окончания инфицирующего кормления эктопаразиты просматривались в микроскоп и из них отбирались в опыт напившиеся особи. Наблюдения за сохранением возбудителя в блохах проводились при их содержании без подкормки при 6—8 и 18—21°, с периодической подкормкой (18—21°) и в условиях постоянного доступа к прокормителю (18—21°). В качестве прокормителя использовались завернутые в металлическую сетку белые мыши.

Бактериологическое исследование подопытных эктопаразитов проводилось после предварительного растирания отдельно каждой блохи в фарфоровой ступке методом мерных посевов на мясо-пептонный агар (рН 7.2) с последующим культивированием в течение 2 суток при 28°.

РЕЗУЛЬТАТЫ НАБЛЮДЕНИЙ

В партиях эктопаразитов, содержавшихся после заражения без подкормки при 6—8°, освобождения подопытных насекомых от инфекции не наблюдалось. Более того, в течение всего периода наблюдений, ограниченного сроками жизни блох в этих условиях и составившего 10 дней, происходило непрерывное нарастание в них микробов обоих применявшихся в опытах штаммов (табл. 1). К концу опыта, на 6—10-е сутки, количество микробных клеток, приходившееся на 1 особь, исчислялось миллионами, а у отдельных экземпляров доходило до 20 млн и более. К этому времени подавляющее большинство подопытных блох погибало.

В серии опытов, в которых эктопаразиты содержались без подкормки при 18—21° (продолжительность наблюдений также 10 дней), процент инфицированных блох изменялся незначительно. При этом у насекомых, зараженных штаммом NMy 79 B, он уменьшался только в течение двух первых суток, оставаясь на том же уровне в последующие дни (табл. 2), тогда как в опытах со вторым штаммом освобождение отдельных эктопаразитов от возбудителя отмечалось лишь к концу наблюдений. Характерно, что в течение первых суток после инфицирующего кормления у большинства особей имело место увеличение численности микробов, которое затем сменялось спадом. При этом у блох, зараженных возбудителем кишечного иерсиниоза NMy 79 B, в последующие дни возобновлялось размножение микробов, тогда как у инфицированных вторым штаммом снижение их численности происходило до конца опыта.

При периодической подкормке подопытных насекомых различия между двумя использованными в исследовании штаммами были более выраженными (табл. 3). Блохи в этих условиях постепенно освобождались от инфекции, однако интенсивность самоочищения от разных штаммов была неодинаковой. В партиях насекомых, зараженных штаммом NMy 79 B, 71.4% особей давали рост возбудителя кишечного иерсиниоза при исследовании на 21-е сутки и позднее, тогда как от блох, инфицированных штаммом NMy O, он выделялся в эти же сроки только от 16.7% эктопаразитов. При этом в первом варианте, начиная с 3-х суток, наблюдалась тенденция к нарастанию микробной массы в среднем на 1 блоху. Следует также отметить очень большую вариабельность числа микробов, выявлявшееся у отдельных насекомых, которое колебалось от нескольких десятков до сотен и даже до 1—2 млн. В то же время при заражении вторым штаммом после кратковременного увеличения численности возбудителя в тече-

Т а б л и ц а 1

Сохранение *Y. enterocolitica* в блохах *X. cheopis*, содержащихся без подкормки при 6–8°

Показатели	Сразу после заражения	Сутки			
		1-е	2-е	3–5-е	6–10-е
Штамм NMy79B (9-й серотип)					
Исследовано блох	25	10	12	24	20
Из них зараженных	25	10	12	24	20
Процент зараженных	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Среднее количество микробов на 1 зараженную блоху ($\pm Sx$, в тыс.)	35.9 \pm 5.4	385.4 \pm 112.2	2263.5 \pm 596.1	3022.5 \pm 554.8	5535.2 \pm 1491.7
Коэффициент вариации среднего количества микробов на 1 блоху (CV)	75.3	92.0	78.7	73.4	120.5
Штамм NMyO (3-й серотип)					
Исследовано блох	15	15	10	20	20
Из них зараженных	15	15	10	20	20
Процент зараженных	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Среднее количество микробов на 1 зараженную блоху ($\pm Sx$, в тыс.)	42.9 \pm 7.1	259.3 \pm 81.3	752.0 \pm 211.2	5319.0 \pm 1004.7	10425.0 \pm 2257.3
Коэффициент вариации среднего количества микробов на 1 блоху (CV)	63.7	121.4	88.7	84.4	96.8

Т а б л и ц а 2

Сохранение *Y. enterocolitica* в блохах *X. cheopis*, содержащихся без подкормки при 18–21°

Показатели	Сразу после заражения	Сутки			
		1-е	2-е	3–5-е	6–10-е
Штамм NMy79B (9-й серотип)					
Исследовано блох	25	25	20	20	25
Из них зараженных	25	24	18	18	23
Процент зараженных	100.0	96.0	90.0	90.0	92.1
Среднее количество микробов на 1 зараженную блоху ($\pm Sx$, в тыс.)	35.9 \pm 5.4	268.5 \pm 97.7	18.2 \pm 4.9	104.3 \pm 40.3	54.7 \pm 19.3
Коэффициент вариации среднего количества микробов на 1 блоху (CV)	75.3	174.6	113.7	163.9	169.1
Штамм NMyO (3-й серотип)					
Исследовано блох	15	20	10	20	20
Из них зараженных	15	20	10	20	18
Процент зараженных	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0
Среднее количество микробов на 1 зараженную блоху ($\pm Sx$, в тыс.)	42.9 \pm 7.1	109.7 \pm 55.6	42.5 \pm 21.5	34.8 \pm 0.3	11.6 \pm 5.5
Коэффициент вариации среднего количества микробов на 1 блоху (CV)	63.7	196.3	160.0	35.4	176.6

Т а б л и ц а 3

Сохранение *Y. enterocolitica* в блохах *X. cheopis*, содержащихся при периодической подкормке при 18—21°

Показатели	Сразу после заражения	Сутки					
		1-е	2-е	3—5-е	6—10-е	11—20-е	21-е и позднее
Штамм NMy79B (9-й серотип)							
Исследовано блох	25	20	20	25	29	30	21
Из них зараженных	25	19	18	22	25	26	15
Процент зараженных	100.0	95.0	90.0	88.0	86.2	86.7	71.4
Среднее количество микробов на 1 зараженную блоху ($\pm Sx$; в тыс.)	35.9 \pm 5.4	268.5 \pm 97.7	18.2 \pm 4.9	26.8 \pm 3.1	93.8 \pm 63.5	132.3 \pm 69.1	264.8 \pm 164.0
Коэффициент вариации среднего количества микробов на 1 блоху (CV)	75.3	174.6	113.7	53.5	339.0	288.4	214.5
Штамм NMyO (3-й серотип)							
Исследовано блох	15	20	10	25	20	50	24
Из них зараженных	15	20	10	18	8	12	4
Процент зараженных	100.0	100.0	100.0	72.0	40.0	24.0	16.7
Среднее количество микробов на 1 зараженную блоху ($\pm Sx$; в тыс.)	42.9 \pm 7.1	109.7 \pm 55.6	42.5 \pm 21.5	3.3 \pm 1.5	0.7 \pm 0.4		
Коэффициент вариации среднего количества микробов на 1 блоху (CV)	63.7	196.3	160.0	169.5	251.0		

Т а б л и ц а 4

Сохранение *Y. enterocolitica* в блохах *X. cheopis*, содержащихся постоянно с прокормителем при 18–21°

Показатели	Сразу после заражения	Сутки					
		1-е	2-е	3–5-е	6–10-е	11–20-е	21-е и позднее
Штамм NMy79B (9-й серотип)							
Исследовано блох	25	25	20	30	40	45	47
Из них зараженных	25	17	12	17	17	18	17
Процент зараженных	100.0	68.0	60.0	56.7	42.5	40.0	36.2
Среднее количество микробов на 1 зараженную блоху ($\pm Sx$; в тыс.)	35.9 \pm 5.4	115.5 \pm 51.8	18.4 \pm 11.2	33.9 \pm 11.6	74.9 \pm 26.1	62.7 \pm 15.3	45.6 \pm 9.4
Коэффициент вариации среднего количества микробов на 1 блоху (CV)	75.3	155.4	210.7	141.5	120.8	97.8	82.9
Штамм NMyO (3-й серотип)							
Исследовано блох	15	20	10	25	35	30	20
Из них зараженных	15	18	4	5	7	5	2
Процент зараженных	100.0	90.0	25.7		20.0	16.7	10.0
Среднее количество микробов на 1 зараженную блоху ($\pm Sx$; в тыс.)	42.9 \pm 7.1	228.2 \pm 80.1	0.4 \pm 0.3		4.2 \pm 0.2		
Коэффициент вариации среднего количества микробов на 1 блоху (CV)	63.7	127.7	202.1		126.4		

ние 1-х суток в дальнейшем параллельно с уменьшением процента инфицированных особей происходило неуклонное сокращение их обилия, и, начиная с 6-го дня, количество микробных клеток, приходившееся на 1 особь, не выходило за пределы 1 тыс.

Постоянное содержание блох с прокормителем еще в большей степени способствовало освобождению их от инфекции (табл. 4). При этом, так же как и при периодической подкормке, штамм КМу79В сохранялся в них более устойчиво. Это выразилось как в изменении процента инфицированных особей, так и в количестве микробных клеток, выявлявшихся при исследовании эктопаразитов через различные сроки после заражения.

Максимальный срок сохранения возбудителя кишечного иерсиниоза в блохах *X. cheopis* в наших опытах составил 34 дня. Он был отмечен у эктопаразитов, зараженных штаммом НМу79В, содержавшихся постоянно с прокормителем и отличавшихся наибольшей продолжительностью жизни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наблюдения показали, что возбудитель кишечного иерсиниоза, подобно чумному и псевдотуберкулезному микробам, относящимся также к роду *Yersinia*, может длительно сохраняться в блохах.

Общей особенностью обоих испытанных штаммов оказалась их способность размножаться и накапливаться в больших концентрациях в организме *X. cheopis* при содержании последних в условиях пониженной температуры (6—8°). Уровень численности микробов при этом мог достигать нескольких миллионов.

При комнатной температуре (18—21°) такого беспрепятственного роста микробной массы не наблюдалось, а периодические подкормки и особенно постоянное содержание подопытных эктопаразитов с прокормителем способствовали постепенному освобождению их от инфекции. При этом у блох, зараженных возбудителем кишечного иерсиниоза КМуО, принадлежащим к 3-му серологическому типу, снижение процента зараженных особей происходило более интенсивно и сопровождалось неуклонным снижением численности микробов. В этом отношении штамм КМуО обнаруживал значительное сходство с псевдотуберкулезным микробом, пребывание которого в организме блох, по наблюдениям Малафеевой и Плотниковой (1976), не сопровождается размножением, что приводит к постепенному отмиранию исходной популяции возбудителя.

В отличие от этого другой штамм *Y. enterocolitica* (КМу79В), относящийся к 9-му серологическому типу, помимо того что он более устойчиво сохранялся в подопытных насекомых, в течение всего периода наблюдений у значительного числа особей обнаруживался в количестве, намного превышающем первоначальный уровень численности микробов, определявшийся сразу после заражающего кормления. Отмечавшаяся при этом значительная вариабельность обилия возбудителя у разных особей позволяет предполагать, что его численность подвержена постоянным колебаниям, обусловленным изменениями физиологического состояния кишечника. Судя по всему, пищеварительный процесс отрицательно влияет на переживание возбудителя кишечного иерсиниоза в блохах, а его приостановка, как это имеет место при помещении эктопаразитов в холодильник, обуславливает беспрепятственное накопление в них этих микробов, способных размножаться при пониженной температуре.

Л и т е р а т у р а

- М а л а ф е е в а Л. С., П л о т н и к о в а Е. А. 1976. Взаимоотношение возбудителя псевдотуберкулеза с организмом блох. — В сб.: Профилактика особо опасных инфекций. Вып. 1 : 16—22.
- К р у н с к и С., М о л л а р е т Н. Н., В е с л а Е 1966. L'inoculation de *Yersinia enterocolitica* par voie intrarectale chez le pou. — Ann. Inst. Pasteur, 110 (5) : 779—784.

PRESERVATION OF YERSINIA ENTEROCOLITICA
IN FLEAS OF XENOPSYLLA CHEOPIS (APHANIPTERA)

V. S. Vashchenok

S U M M A R Y

Experimentally infected fleas of *X. cheopis* are capable of preserving two strains of *Y. enterocolitica*. One of the strains was found to belong to the 3rd, the other to the 9th serotype. The both strains actively multiplied and accumulated in great amount (up to several millions of microbial cells) in ectoparasites which were maintained at 6 to 8° C. At a temperature of 18 to 21° C some part of fleas gradually became free from the agent that was favoured by their periodical feeding or constant maintenance on the host. In insects infected with the strain of the 3rd serotype the decrease of the infected individuals carried out quicker and was accompanied by the reduction in the number of microbes. The strain of the 9th serotype preserved more steadily and was found in many individuals in amount exceeding the initial level.
