

ПЕРЕВАРИВАНИЕ КРОВИ И ОБРАЗОВАНИЕ
ЧУМНОГО БЛОКА У БЛОХ *CERATOPHYLLUS TESQUORUM*¹В. И. Щедрин, Л. В. Брюханова, С. П. Осипова,
Е. А. Лунина, Л. А. СурковаНаучно-исследовательский противочумный институт
Кавказа и Закавказья, Ставрополь

Для блох *C. tesquorum* характерны высокая протеазная активность в эпителии и содержимом желудка, быстрый гемолиз эритроцитов и пониженная свертываемость крови. Редкое блокообразование у *C. tesquorum* и длительные сроки его связаны с тем, что в их пищеварительном тракте количество чумных микробов изменяется в зависимости от этапа переваривания крови — уменьшается во время гемолиза эритроцитов и увеличивается по окончании его.

Изучение особенностей переваривания крови в пищеварительном тракте разных видов блох необходимо для объяснения сложных биологических взаимоотношений возбудителя чумы с ее переносчиком. В последние годы в литературе появились сведения о результатах гистологического и гистохимического исследования пищеварения у блох пищух, полевок и крыс (Ващенко, 1966, 1967; Ващенко, Солина, 1969; Щедрин, Локтев, 1971), а также о влиянии пищеварительного процесса на чумной микроб в организме паразитов крыс и песчанок (Ващенко и др., 1972; Щедрин, 1974; Ващенко, Тараканов, 1977).

В настоящем сообщении приводятся результаты гистологического исследования переваривания крови и образования чумного блока в пищеварительном тракте блох *Ceratophyllus tesquorum*, являющихся массовыми паразитами сусликов в очаге чумы Центрального Кавказа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

При изучении пищеварения блох кормили на малых сусликах и в некоторых опытах на белых мышках. Наблюдали за молодыми непитавшимися до опыта и за взрослыми насекомыми, содержащимися предварительно в гнезде с хозяином в течение 10—14 суток. Блох подсаживали на зверька на 10 мин. Для самых ранних сроков наблюдения (до 30 мин) под пробиркой кормили одновременно по 2—3 блохи. В опыт отбирали хорошо напившихся особей и содержали их при 18—20 и 13° в пробирках, в которых относительная влажность воздуха была близкой к 100%. Под наблюдением были 519 экз. (преимущественно самки).

Блох фиксировали в жидкости Карнуа спустя различные интервалы с момента удаления с прокормителя — от 3—5 мин до 52 ч (всего 21 срок, из них 5 до 1 ч). На каждый срок брали 10—15 насекомых.

Методика изучения инфицированных чумой *C. tesquorum* была аналогична описанной ранее для *Xenopsylla cheopis* (Щедрин и др., 1975). Наблюдения проводили над 4-дневными молодыми, не питавшимися до опыта

¹ Работа выполнена в сотрудничестве со справочным и научно-исследовательским центром ВОЗ по чуме (г. Ставрополь).

самками. Для заражения их был взят штамм чумного микроба 1204Д, выделенный 26 V 1973 в Приэльбрусье от блох *C. tesquorum*, собранных из нор суслика. LD₅₀ для морских свинок равнялось 6, для белых мышей — 10 микробным телам. Исходная зараженность блох составила 100%. Одну группу *C. tesquorum* после кормления на агонирующих белых мышках содержали при 22°, другую — при 13° (относительная влажность около 100%). Блох подкармливали на белой мыши через 2 дня. Всего было проведено 12 подкормок. Насекомых исследовали через 1 и 3 ч после питания и в дальнейшем ежедневно в течение 10 суток. В каждый срок использовали по 10 насекомых. Всего исследовали 1500 блох.

Из взятых в опыт насекомых готовили парафиновые срезы толщиной 4—7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином Эрлиха с эозином. Проводили также гистохимические реакции на фибрин, по Шуенинову, на белки — бромфеноловым синим в сулеме (БФС), на углеводы — реактивом Шифф-иодная кислота (ШИК-реакция). Микробов чумы окрашивали по методу Косселя.

Для исследований на ферменты не зараженных чумой блох фиксировали в охлажденном до 4° нейтральном формалине и в криостате готовили срезы толщиной 15 мкм. В замороженных срезах выявляли кислую фосфатазу сульфидным методом, щелочную фосфатазу — кальциево-кобальтовым методом Гомори, лейцин-аминопептидазу — по Нахласу, Кроуфорду и Зелигману (Пирс, 1962).

РЕЗУЛЬТАТЫ НАБЛЮДЕНИЙ

При гистологическом исследовании молодых блох *C. tesquorum*, содержащихся после питания при 18—20°, было установлено, что сразу после кровососания содержимое их желудка состояло в основном из неразрушенных эритроцитов и небольших очажков крупной зернистости, представляющих собой выпавшие в осадок белки плазмы. У некоторых насекомых имелись местами небольшие скопления разрушенных эритроцитов. По периферии содержимого желудка определялся слой гемолизированной крови с редкими эритроцитами, сохранившими правильную форму.

При просмотре в это же время живых блох в их желудке выявлялись жировые вакуоли в виде желтоватых пузырьков. Они были многочисленными через 1—24 ч после питания. Через 49 ч сохранялись единичные пузырьки только у отдельных насекомых.

Процесс свертывания крови в желудке *C. tesquorum* выражен слабо. Количество фибрина в пищевом комке незначительно. Все же через 3—6 ч после питания в центре содержимого желудка был различим довольно плотный комок из склеившихся полигональных эритроцитов и выпавших в осадок белков плазмы. Белковые преципитаты в преджелудке выявлялись редко. Прикреплялись они лишь к задним рядам игл и не продолжались в просвет желудка.

Гемолиз эритроцитов полностью заканчивался через 8 ч. По окончании его содержимое желудка блох на гистологических срезах выглядело крупнозернистым, интенсивно окрашивалось эозином на углеводы и белки. Белковые преципитаты к этому времени в преджелудке не обнаруживались, в желудке они сохранялись лишь у некоторых особей.

Через 15 ч после питания в содержимом желудка у части особей появлялись коричневые зерна гематина; через 24 ч оно было полностью коричневым (превращалось в гематин) у всех блох.

У взрослых насекомых комок из склеившихся эритроцитов был заметен уже через 15 мин после питания. Распадался он значительно быстрее, чем у молодых имаго — менее чем за 1 ч после кровососания. За этот срок содержимое желудка становилось в основном крупнозернистым, в нем обнаруживались единичные тени эритроцитов и иногда скопления их в виде небольших комочков, которые исчезали к 2—3 ч.

Через 5 ч после питания содержимое желудка слабо окрашивалось эозином на углеводы и белки, принимало золотистый оттенок или в нем

появлялись коричневые зерна гематина. Полное превращение содержимого в гематин у взрослых блох наступало спустя 12—14 ч после окончания кровососания. В содержимом желудка сразу после питания и до окончания переваривания крови выявлялись жировые вакуоли. Через сутки после питания они отсутствовали.

Параллельно с изменениями содержимого желудка изменялась форма эпителиальных клеток последнего и окраска их различными красителями. Так, сразу после питания в результате растяжения желудка кровью эпителиальные клетки (исключая клетки регенерационных гнезд) становились плоскими или кубическими, ядра в них также уплощались. Цитоплазма клеток очень слабо окрашивалась гематоксилином на белки и углеводы.

По мере нарастания гемолиза эритроцитов эпителиальные клетки удлинялись и выступали в просвет желудка. По окончании гемолиза большинство эпителиальных клеток становилось вертикально вытянутыми. У одних особей они располагались группами по 3—5 клеток (высотой 14—21 мкм у молодых и 25—42 мкм у взрослых блох), у других образовывали почти сплошной слой. Апикальные концы цилиндрических клеток были утолщены и имели вакуоли, которые интенсивно окрашивались на белки и углеводы. К концу наблюдения (52 ч для молодых и 36 ч для взрослых), когда содержимое в желудке было скудным или совсем отсутствовало, вакуоли в вершинах клеток сохранялись только у части особей, а цитоплазма все еще интенсивно окрашивалась применявшимися реактивами.

При содержании блох в условиях температуры 13° скорость пищеварительного процесса замедлялась в 2 раза.

При гистоэнзиматическом исследовании *C. tesquorum* в эпителии желудка обнаружены кислая и щелочная фосфатазы, а также лейцинаминопептидаза. Активность последней в эпителии и содержимом желудка на всех стадиях пищеварения была значительно выше, чем у изученных ранее *Xenopsylla cheopis*, но ниже, чем у *Ctenophthalmus wladimiri* (Щедрин, 1974).

Проведенные исследования показали, что в ранние сроки (до окончания гемолиза) изменения крови в желудке у зараженных блох и у насекомых, которых не заражали чумой, одинаковы.

Сразу после заражающего кормления чумные микробы в желудке блох располагались диффузно, реже небольшими компактными группами, среди форменных элементов крови. Они имелись и в белковых преципитатах как в желудке, так и в преджелудке. Очень редко отдельные микробные клетки и небольшие группы их обнаруживались между иглами преджелудка и в его переднем отделе.

В зоне гемолиза эритроцитов по периферии пищевого комка происходило уменьшение количества микробов чумы, но в центральных участках плотного комка они обнаруживались в большом количестве. По окончании гемолиза около 20% блох освобождалось от возбудителя чумы. У остальных особей микробы сохранялись в виде небольших скоплений.

В желудке блох, содержащихся без подкормки, происходило уменьшение количества чумных микробов. При 22° очищение блох от возбудителя происходило быстрее, чем при 13°. Только у единичных особей отмечено увеличение количества чумного микроба. Обычно такие насекомые имели белковые осадки в желудке на поздних стадиях пищеварения.

Подкормки насекомых способствовали увеличению количества чумных микробов. Происходило оно на 2—5-е сутки после питания. Во время гемолиза эритроцитов количество микробов у большинства блох снова уменьшалось. По-видимому, устанавливалось как бы динамическое равновесие между числом погибающих микробов и появляющихся в результате размножения, следствием чего было длительное сохранение возбудителя в желудке блох, но без накопления его в количестве, достаточном для

блокообразования (здоровое носительство, по К. И. Кондрашкиной, 1969а, 1969б).

У тех особей, у которых образовывался блок преджелудка, по-видимому, также чередовались периоды размножения и отмирания микробов. В их желудке обнаруживались включения, состоявшие из концентрических чередующихся слоев микробных клеток и продуктов переваривания крови. Однако у этих особей размножение микробных клеток превышало отмирание, и в результате имело место медленное, но достаточное для блокообразования увеличение числа чумных микробов. Такое соотношение, приводящее к блокообразованию, отмечено для немногих особей.

В условиях опытов при 22° было выявлено 7 заблокированных насекомых, а первые особи с блоком желудочно-кишечного тракта появились лишь после пятой подкормки. При содержании насекомых в условиях пониженной температуры (13°) было обнаружено 18 заблокированных особей, т. е. значительно больше, чем при 22°. Мы предполагаем, что это связано с более длительным перевариванием крови у блох при пониженной температуре и большим соответствием ритма подкормки блох (через 2 дня) потребностям блохи и микроба в таких температурных условиях.

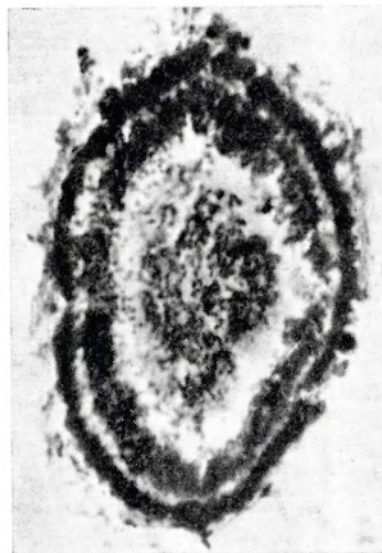
При гистологическом исследовании заблокированных блох было установлено, что блокирующие массы, как правило, состояли из микробных клеток и белковых осадков, количество последних было невелико и располагались они лишь в центральной части преджелудка. У одной особи блок преджелудка состоял сплошь из микробных клеток.

У 23 (из 25) заблокированных блох микробы чумы содержались как в преджелудке, так и в желудке, только у двух особей микробные клетки были обнаружены в преджелудке, а в желудке отсутствовали.

На гистологических срезах удалось выявить закономерное изменение формы микробных клеток в желудке *C. tesquorum*. Так, вскоре после заражающего кормления, еще на стадии гемолиза эритроцитов, обнаруживались шаровидные формы бактерий, а на 4—5-е сутки появлялись коккобактерии. У заблокированных блох в желудке, в средней и задней частях преджелудка обнаруживались коккобактерии; в кардиальном отделе преджелудка и в пищеводе встречались палочковидные, шаровидные формы, а также коккобактерии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что *C. tesquorum* отличаются от *X. cheopis* менее выраженным свертыванием крови в их желудке, а также большей активностью пищеварения, в частности быстрым гемолизом эритроцитов. Так, при содержании *C. tesquorum* в условиях 18—20° гемолиз эритроцитов в желудке молодых блох заканчивался через 8 ч, а превращение содержимого желудка в гематин происходило через 24 ч; у *X. cheopis* при 20—23° — соответственно только за 24—36 ч и 2—3 суток, т. е. значительно позже (Щедрин и Локтев, 1971). У взрослых блох различия в сроках меньше. Гемолиз эритроцитов у взрослых *C. tesquorum* заканчивался за 2—3 ч, а превращение порции крови в гематин — за 14 ч;



Концентрические слоистые включения в желудке зараженных чумой *C. tesquorum*. Окраска по Коселю $\times 900$.

у *X. cheopis* — соответственно за 3—5 и 10—12 ч (Ващенко и Солина, 1969; Щедрин и Локтев, 1971).

При гистоэнзиматическом исследовании было установлено, что протеазная активность эпителия желудка и его содержимого блох *C. tesquorum* была значительно выше, чем у *X. cheopis*, но ниже, чем у *Ct. wladimiri*.

Редкое блокообразование у *C. tesquorum* и длительные сроки его в условиях наших опытов, по-видимому, связаны с тем, что в их пищеварительном тракте количество чумных микробов изменялось в зависимости от этапа переваривания крови — уменьшалось во время гемолиза эритроцитов и увеличивалось по окончании его.

Л и т е р а т у р а

- Ващенко В. С. 1966. Морфо-физиологические изменения, происходящие в организме блох *Echidnophaga oshanini* (Aphaniptera, Pulicidae) в процессе питания и размножения. Энтомол. обозр., 45 (2) : 715—727.
- Ващенко В. С. 1967. Гонотрофические отношения у блох *Ceratophyllus consimilis* Wagn. (Aphaniptera, Ceratophyllidae). Паразитол. сб. ЗИН АН СССР, 23 : 222—235.
- Ващенко В. С., Солина Л. Т. 1969. О пищеварении у блох *Xenopsylla cheopis* Roths. (Aphaniptera, Pulicidae). Паразитология, 3 (5) : 451—460.
- Ващенко В. С., Гончаров А. И., Ёлкин Ю. М., Осипова С. П. 1972. Опыт гистологического исследования блох *Xenopsylla cheopis*, блокированных чумным микробом. Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 4 (26) : 157—158.
- Ващенко В. С., Тараканов Н. Ф. 1977. Влияние пищеварительного процесса на переживание возбудителя чумы в блохах *Xenopsylla gerbilli* minax. Паразитология, 11 (6) : 474—479.
- Кондрашкина К. И. 1969а. Болеют ли блохи чумой? Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 5 (9) : 212—222.
- Кондрашкина К. И., Герасимова Н. Г., Куряев И. И., Лукьянова А. Д. 1969б. Особенности обмена веществ у отдельных групп особей *Xenopsylla cheopis*, зараженных чумными микробами. Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, (6) : 210—212.
- Щедрин В. И., Локтев Н. А. 1971. Морфологические изменения пищевого комка у блох *X. cheopis* Roths. Проблемы особо опасных инфекций. Саратов, 6 (22) : 97—103.
- Щедрин В. И. 1974. Морфологические и гистохимические данные по перевариванию крови у некоторых видов блох-переносчиков возбудителя чумы. Автореф. канд. дис. Саратов : 3—26.
- Щедрин В. И., Бейер А. П., Локтев Н. А., Акиев А. К. 1975. Морфологическое и гистохимическое изучение блох *X. cheopis* Roths., зараженных чумными микробами. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 44 (1) : 86—89.
- Пирс Э. 1962. Гистохимия теоретическая и прикладная. Изд-во ИЛ, М. : 1—962.

THE BLOOD DIGESTION AND PLAGUE BLOCKFORMATION IN FLEAS CERATOPHYLLUS TESQUORUM

V. I. Shchedrin, L. V. Brjukhanova, S. P. Osipova, E. A. Lunina, L. A. Surkova

S U M M A R Y

The fleas of *C. tesquorum* are characterized by high protease activity in the epithelium and contents of the stomach, quick hemolysis of erythrocytes and low blood coagulation. Rare blockformation in *C. tesquorum* and its long terms under experimental conditions are apparently associated with changes in the quantity of plague microbes in the digestive tract depending on the stage of blood digestion: reduced during the hemolysis of erythrocytes and increased when it was over.