

## МЕТОДИКА ИНДИВИДУАЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ МОЛЛЮСКОВ, ИНВАЗИРОВАННЫХ ЛИЧИНКАМИ ШИСТОСОМ, В УСЛОВИЯХ ТЕРМОСТАТИРОВАНИЯ

О. П. Зеля, С. А. Беэр

Институт медицинской паразитологии и тропической медицины  
им. Е. И. Марциновского Минздрава СССР, Москва

Предложена методика индивидуального содержания промежуточных хозяев *Schistosoma mansoni* — моллюсков рода *Biomphalaria* в условиях термостатирующей водяной бани с терморегулятором с целью изучения хозяино-паразитных взаимоотношений в системе моллюск — трематода. Показаны преимущества предлагаемой методики для изучения тотальной продукции церкариев.

Изучение взаимоотношений трематод с их промежуточными хозяевами — моллюсками, в частности выяснение степени совместимости штаммов *Schistosoma mansoni* (Sambon) с разными расами некоторых видов рода *Biomphalaria*, требует строгой стандартизации методов заражения, содержания инвазированных моллюсков и оценки продукции церкариев.

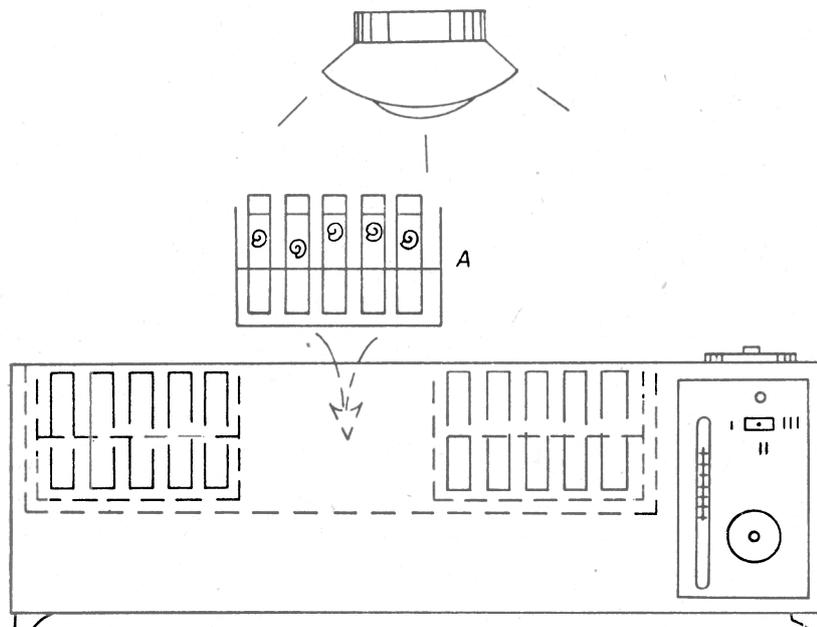


Схема термостатирующей водяной бани для индивидуального содержания моллюсков, инвазированных *Schistosoma mansoni*.

А — штативы с индивидуальными микроаквариумами (по 35 в каждом блоке).

Разными авторами было показано существенное влияние внешних факторов на способность проникновения мирацидиев в моллюска, развитие партенит и выход церкариев. Такими факторами являются в первую очередь температура и объем воды, состав корма и плотность популяции моллюсков. Отмечается замедление и даже остановка в развитии партенит при снижении температуры ниже оптимальной (26—28 °С) и существенное снижение продукции церкариев *S. mansoni* при содержании моллюсков в условиях перенаселения в ограниченном объеме воды или при недостаточном питании (Purnell, 1966; Upatham, 1972; Coles, 1973; Carlos, Coelho, 1978; Pflüger, 1979, 1980).

В целях устранения влияния перечисленных факторов на процесс внедрения мирацидиев и развитие партенит шистосом в моллюсках, мы, выполняя исследования на длительно функционирующей модели кишечного шистосомоза, организованной в ИМПитМ им. Е. И. Марциновского, использовали термостатирующую водяную баню с терморегулятором (Р-507/4, ВНР), с модификацией (наличие верхнего освещения, блоки с пробирками), в которой поддерживалась температура  $26.0 \pm 0.5$  °С (см. рисунок). При этом моллюски содержались

индивидуально в пробирках-микроаквариумах, объемом 50 мл (105 пробирок в бане), с отстоянной водопроводной водой и веточками водных растений. Смена воды производилась 1 раз в неделю. Кормом моллюскам служили проваренные листья тополя, сухой и витаминный корм для рыб и высушенные размельченные водоросли *Oscillatoria*.

Для оценки степени совместимости между личинками шистосом и их промежуточными хозяевами — моллюсками использована методика, предложенная Франдсеном (Frandsen, 1979a, 1979b), основанная на вычислении тотальной продукции церкариев в расчете на 100 инвазированных моллюсков. Однако для сравнения полученных данных недостаточно знание только тотальной продукции церкариев, выделенных всей группой моллюсков. Необходимо вычисление продукции церкариев, полученной от каждого инвазированного моллюска, что дает возможность применения статистических методов оценки различий. Индивидуальное содержание моллюсков делает эту задачу разрешимой.

При этом формула Франдсена принимает следующий вид

$$TPC/100 = \Sigma_1^A [\Sigma_1^n (x \cdot N)] \cdot \frac{110}{A},$$

где:  $A$  — число моллюсков в группе;  $n$  — число подсчетов;  $N$  — количество дней между подсчетами;  $x$  — тотальная продукция церкариев от каждого индивидуально содержащегося инвазированного моллюска.

Степень совместимости оценивали по 7-значной шкале Франдсена (от 1-го класса — несовместимые, а 7-го — совместимые в высшей степени).

Для оценки предлагаемой методики изучено влияние условий индивидуального содержания моллюсков *Biomphalaria sudanica* (Martens) на их рост и репродуктивную способность, а также продукцию церкариев. Две группы моллюсков, инвазированные по 20 мирацидиев *S. mansoni* (Малийский штамм) и неинвазированные, содержали по методике, описанной выше. Контролем служили две группы по 20 моллюсков (также инвазированные по 20 мирацидиев и свободные от инвазии), содержащиеся группами в аквариумах объемом по 5 л. Наблюдения проводили в течение 20 недель (см. таблицу).

Отмечено отставание в темпе роста ( $P < 0.05$ ) и задержка полового созревания на 4—5 недель у свободных от инвазии и зараженных моллюсков, содержащихся индивидуально. Достоверные различия в темпе роста наблюдались и между группами инвазированных и неинвазированных моллюсков. Но в отличие от обычного ускорения темпа роста инвазированных моллюсков, наблюдаемого как в природных, так и экспериментальных условиях (James, 1965; Гинецинская, 1968) и имеющего место в нашем опыте при аквариумном содержании моллюсков, зараженные *B. sudanica*, содержащиеся индивидуально, росли медленнее, чем свободные от инвазии.

Влияние условий содержания на рост, репродуктивную способность моллюсков *Biomphalaria sudanica* и на развитие инвазии *Schistosoma mansoni*

Условия опыта	Группа моллюсков	Диаметр раковины (в мм)		Продолжительность жизни моллюсков от начала опыта (в неделях)	Число клалок на группу в течение 20 недель	Среднее число яиц в клалке	Время развития паргенти (в днях)	Средняя продукция церкариев на 1 моллюска в течение жизни	TPC/100
		в начале опыта	в период активного выхода церкариев						
Индивидуальное содержание моллюсков	Инвазированные	4.0 ± 0.2*	6.5 ± 0.1	7.4 ± 0.8*	5	2.6 ± 0.7	33.4 ± 1.3*	8720 ± 2840*	270.000
	Свободные от инвазии	4.0 ± 0.1*	7.0 ± 0.1	16.8 ± 1.1*	68	3.7 ± 0.3	—	—	—
Групповое (аквариумное) содержание моллюсков	Инвазированные	4.1 ± 0.2*	9.8 ± 0.4	7.4 ± 1.2*	19	9.7 ± 1.2	28.7 ± 0.7*	8430 ± 1770*	480.000
	Свободные от инвазии	4.1 ± 0.2*	8.0 ± 0.2	17.0 ± 2.2*	57	9.5 ± 1.1	—	—	—

Примечание. Звездочкой отмечены результаты, полученные в опыте и контроле, они не имеют достоверной разницы при  $P < 0.05$ .

Число кладок у неинвазированных моллюсков в среднем не менялось, сокращалось лишь число яиц в кладке (в среднем в 2.5 раза) при индивидуальном содержании, что, возможно, связано с отсутствием перекрестного оплодотворения. У инвазированных моллюсков репродуктивная способность подавлялась по мере развития инвазии в обоих случаях.

Продолжительность жизни инвазированных особей не менялась в зависимости от условий содержания, в обоих случаях она не превышала 15 недель от момента заражения моллюсков.

Несмотря на незначительную задержку в сроках развития партенит до начала выхода церкариев у моллюсков, содержащихся индивидуально, и статистически достоверную разницу в скорости роста ( $P < 0.01$ ), средняя продукция церкариев на одного моллюска в течение всей жизни не зависела от условий содержания ( $8720 \pm 2840$  церкариев/моллюск при индивидуальном и  $8430 \pm 1770$  церкариев/моллюск при групповом содержании моллюсков).

Рассчитанные значения  $TPC/100$  позволили обе группы инвазированных моллюсков отнести в один — 6-й класс — «очень совместимые» с *S. mansoni*, несмотря на то, что числовое значение тотальной продукции церкариев в случае группового содержания превышает этот показатель, полученный при индивидуальном содержании моллюсков.

Основываясь на полученных данных, мы считаем возможным применение предложенной методики индивидуального содержания инвазированных моллюсков для проведения экспериментов по изучению паразито-хозяйинных взаимоотношений личиночных стадий трематод и моллюсков. Варьируя температурный режим содержания, возможно выяснение влияния этого фактора на инвазионную способность мирацидиев, продолжительность развития партенит и продукцию церкариев *S. mansoni*. Индивидуальное содержание моллюсков в условиях термостатирования значительно облегчает подсчет общей продукции церкариев от каждого инвазированного моллюска при выяснении степени совместимости различных штаммов *S. mansoni* и рас (популяций) моллюсков некоторых видов рода *Biomphalaria*; исключает влияние комплекса неблагоприятных факторов, связанных с высокой плотностью популяции моллюсков в ограниченном объеме воды, и колебаний температуры во время развития инвазии; дает возможность дозировать корм моллюскам и менять рационы. Все это позволяет давать более объективную сравнительную оценку получаемым результатам.

#### Л и т е р а т у р а

- Гинецинская Т. А. Трематоды, их жизненные циклы, биология, эволюция. Л., Наука, 1968. 410 с.
- Carlos M. A., Coelho M. Z. The crowding effect in *Biomphalaria glabrata* affect in Intramolluscan *Schistosoma mansoni*. — J. Parasit., 1978, vol. 64, N 6, p. 1137—1138.
- Coles G. C. The effect of diet and crowding on the shedding of *Schistosoma mansoni* cercariae by *Biomphalaria glabrata*. — Ann. trop. Med. Parasit., 1973, vol. 67, N 4, p. 419—423.
- Frandsen F. Studies of relationships between *Schistosoma* and their intermediate hosts, I. The genus *Bulinus* and *Schistosoma haematobium* from Egypt. — J. Helminth., 1979a, vol. 53, N 1, p. 15—29.
- Frandsen F. Discussion of the relationships between *Schistosoma* and their Intermediate Hosts, assesment of the Degree of Host-parasite Compatibility and Evaluation of *Schistosoma* Taxonomy. — Z. Parasitenk., 1979b, vol. 53, N 3, p. 275—296.
- James B. L. The effect of parasitism by larval Digenea on the digestive gland of intertidal prosobranch *Littorina saxatilis* subsp. *tenebrosa* (Montagu). — Parasitology, 1965, vol. 55, N 1, p. 93—115.
- Pflüger M. Influence de temperatures constantes et de temperatures variables sur la prepatence de *Schistosoma mansoni* et sur l'hote intermediaire *Biomphalaria glabrata*. — Halotis, 1979, vol. 8, p. 151—155.
- Pflüger M. Experimental epidemiology of Schistosomiasis. I. The prepatent period and cercarial production of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria* snail at various constant temperatures. — Z. Parasitenk., 1980, vol. 63, N 2, p. 159—160.
- Purnell R. E. Host-parasite relationships in schistosomiasis. I. Effect of temperature on infection of *Biomphalaria sudanica tanganyicensis* with *Schistosoma mansoni* and of laboratory mice with *Schistosoma mansoni* cercariae. — Ann. trop. Med. Parasit., 1966, vol. 60, N 1, p. 90—93.
- Upatham E. S. Effect of some physicochemical factors on infection of *Biomphalaria glabrata* (Say) by miracidia of *Schistosoma mansoni* Sambon in St. Lucia, West Indies. — J. Helminth., 1972, vol. 46, N 4, p. 307—315.

A TECHNIQUE OF INDIVIDUAL MAINTENANCE OF MOLLUSCS INFECTED  
WITH LARVAE OF SCHISTOSOMA MANSONI

O. P. Zelja, S. A. Beér

S U M M A R Y

A technique has been suggested for individual maintenance of intermediate hosts of *Schistosoma mansoni*, molluscs of the genus *Biomphalaria*, in thermostat water bath with thermoregulator in order to study the host-parasite relationships in the mollusc-trematode system. Advantages of the suggested technique have been shown for studying total production of Cercaria when estimating the compatibility degree of various strains of *S. mansoni* and races of molluscs of some species of the genus *Biomphalaria*.

---