

УДК 576.895.122 : 599.32

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЗАРАЖЕНИЯ
ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВНУТРИВЕННОМ
И ПОДКОЖНОМ ВВЕДЕНИИ ЦЕРКАРИЙ
SCHISTOSOMA MANSONI

О. П. Зея, Ф. П. Коваленко

Определена сравнительная эффективность заражения золотистых хомяков и хлопковых крыс церкариями *S. mansoni* внутривенно (в воротную и бедренную вены) и подкожно. Среднее количество прижившихся гельминтов у золотистых хомяков при всех испытанных способах заражения было достоверно выше такового у хлопковых крыс. Наименьшая приживаемость шистосом у обоих видов животных отмечена после введения церкарий в бедренную вену.

Для воспроизведения экспериментальной модели кишечного шистосомоза лабораторных животных (белых мышей, золотистых хомяков, джунгарских хомячков и др.) обычно заражают путем подкожной инъекции церкарий *Schistosoma mansoni* или перкутанно методами «кольца» и «хвостовой иммерсии», основанными на естественном проникновении церкарий через кожу животных. Процесс проникновения личинок через кожные покровы хозяина и миграция шистосомул до места их окончательной локализации сопровождается гибелью большинства паразитов, в результате чего половой зрелости достигают лишь 20—30 % введенных церкарий (Wilson, Lawson, 1980; Зея, 1984). При введении церкарий непосредственно в кровяное русло мышей путем инъекции в хвостовую вену приживаемость паразитов была в 2—2.5 раза ниже, чем при подкожном заражении (Holanda e. a., 1974). С другой стороны, показано, что после введения в воротную вену белым мышам шистосомул, выделенных из печени или легких инвазированных животных или полученных после культивирования церкарий *in vitro*, развитие паразитов может происходить по сокращенной схеме, минуя кожную, а в некоторых случаях и легочную фазы (Rocha, Coelho, 1980).

Сведений об инвазивности церкарий *S. mansoni*, введенных непосредственно в воротную вену животных, не имеется. В связи с этим мы попытались выяснить, возможно ли заражение лабораторных животных шистосомами после введения им в воротную вену церкарий, и имеются ли различия в степени приживаемости и сроках развития шистосом до половозрелой стадии в зависимости от способа введения церкарий и числа введенных личинок. Мы попытались также выяснить пригодность хлопковой крысы в качестве нового вида экспериментального окончательного хозяина шистосомы Мэнсона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Церкарии были получены от моллюсков *Biomphalaria sudanica*, используемых нами в качестве промежуточных хозяев малийского штамма *S. mansoni*. Золотистых хомяков массой 40—50 г и хлопковых крыс массой 60—80 г заражали подкожно и внутривенно путем введения каждому животному по 50—200 церкарий в 0.3—0.5 мл физиологического раствора. Введение церкарий в кровяное русло проводили в бедренную и воротную вены под общим обезболиванием в асептических условиях с помощью комбинированного катетера,

состоящего из черенка инъекционной иглы внутренним диаметром 0.2 мм и жестко соединенного с ним прозрачного и гибкого полиэтиленового капилляра, на другом конце которого имеется расширение для соединения с канюлей шприца. Катетер предварительно промывали раствором гепарина (5000—10 000 М. Е./мл).

Для введения церкарий в бедренную вену у животных рассекали кожу в паховой области вдоль пупартовой связки (разрез 2—3 см), выделяли из фасций бедренную вену. После введения в вену взвеси церкарий на область пункционного отверстия наносили 0.5—0.7 мл 5 %-ного раствора аминокaproновой кислоты и на кожу накладывали швы.

Для введения церкарий в воротную вену у животных послойно рассекали переднюю брюшную стенку по средней линии живота от мечевидного отростка (разрез 3—4 см). Из левой половины брюшной полости извлекали петли кишечника, смещали их вправо и располагали на смоченной теплым физраствором марлевой салфетке, открывая подход к воротной вене. После введения церкарий в вену на область пункционного отверстия прикладывали ватный тампон, смоченный 5 %-ным раствором аминокaproновой кислоты, и вправляли петли кишечника в брюшную полость. Через 1—2 мин глазным пинцетом извлекали тампон и послойно зашивали брюшную стенку.

Эффективность заражения определяли по проценту прижившихся паразитов от числа введенных церкарий и по средней численности гельминтов на животное. Вскрытие производили на 60—70-е сутки от момента заражения. Особенности развития шистосом в зависимости от пути введения церкарий определяли путем последовательных вскрытий животных в течение 9 недель инвазии, начиная с 20-го дня после заражения. При этом учитывали локализацию и число выявленных паразитов, степень их дифференцировки по полу, соотношение самцов и самок. Длину шистосом определяли с точностью до 0.1 мм.

В связи с перерассеянным (негативно-биномиальным) типом распределения вероятностей заражения шистосомами лабораторных окончательных хозяев (Зеля, 1984) достоверность различий в эффективности разных способов заражения и доз инвазионного материала определяли с помощью непараметрического критерия Колмогорова-Смирнова.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показали, что после введения церкарий *S. mansoni* непосредственно в воротную вену золотистым хомякам и хлопковым крысам восприимчивость животных к шистосоме Мэнсона составила 100 % и не отличалась существенно от таковой при использовании известных эффективных способов заражения (табл. 1). Среднее число прижившихся паразитов у золотистых хомяков при всех испытанных способах заражения было достоверно выше такового у хлопковых крыс ($P = 0.01$). При этом наименьшая приживаемость шистосом у животных обоих видов отмечена после введения церкарий в бедренную вену.

Т а б л и ц а 1

Восприимчивость лабораторных животных к заражению шистосомой Мэнсона в зависимости от способа введения церкарий *

| Способ введения церкарий | Вид лабораторного животного | Число вскрытых животных | Экстенсивность заражения (в %) | Приживаемость паразитов (в %) | Среднее число разжившихся паразитов |
|------------------------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Подкожно | Золотистые хомяки | 46 | 100 | 20.3 ± 0.4 | 42.6 ± 4.2 |
| | Хлопковые крысы | 4 | 100 | 5.9 ± 0.8 | 11.8 ± 5.4 |
| Внутривенно (воротная вена) | Золотистые хомяки | 6 | 100 | 18.9 ± 0.9 | 37.8 ± 5.8 |
| | Хлопковые крысы | 4 | 100 | 4.5 ± 0.7 | 9.0 ± 3.5 |
| Внутривенно (бедренная вена) | Золотистые хомяки | 5 | 100 | 13.0 ± 1.0 | 26.0 ± 6.6 |
| | Хлопковые крысы | 4 | 75.0 | 1.1 ± 0.4 | 2.2 ± 1.0 |

* Доза заражения 200 церкарий на животное.

Т а б л и ц а

Восприимчивость золотистых хомяков к заражению шистосомой Мэнсона в зависимости от числа введенных церкарий при внутривенном их введении

| Доза (число введенных церкарий) | Число вскрытых животных | Процент прижившихся паразитов | Число развившихся марит | | |
|---------------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|--------------|----------|
| | | | минимальное | максимальное | среднее |
| 50 | 8 | 23.8±4.5 | 2 | 20 | 11.8±2.4 |
| 100 | 9 | 33.4±1.6 | 15 | 58 | 33.4±5.0 |
| 150 | 4 | 20.2±1.6 | 14 | 50 | 30.2±8.5 |
| 200 | 6 | 18.9±0.9 | 16 | 56 | 37.8±5.8 |

Результаты заражения золотистых хомяков разным количеством личинок показали, что с повышением дозы церкарий процент прижившихся паразитов возрастает до 33.4 (табл. 2). При этом максимум приживаемости шистосом достигался в результате введения в воротную вену 100 церкарий на животное, тогда как при подкожном заражении этот показатель был наиболее высоким при дозе 200 церкарий на животное (Зея, 1984). Повышение дозы церкарий, вводимых в воротную вену, до 200 экз. на животное не приводило к достоверному повышению интенсивности инвазии.

У золотистых хомяков сроки развития до половой зрелости и размеры марит *S. mansoni* не различались при разных способах введения церкарий. Спаренные шистосомы обнаруживались начиная с 27—30-х суток после внутривенного введения церкарий, т. е. в те же сроки, что и при подкожном заражении (Зея, Беэр, 1983). Максимальная длина гельминтов при подкожном и внутривенном (в воротную и бедренную вены) введении церкарий составила: самок — 11.5, 10.2 и 10.7 мм, самцов — 10.5, 10.8 и 9.8 мм соответственно. Средняя длина гельминтов к 60-му дню инвазии составляла 6.3 ± 0.1 мм.

Наряду с обычной локализацией паразитов в печеночных и мезентериальных венах хозяина у 26.1 % золотистых хомяков независимо от способов их заражения половозрелые паразиты (преимущественно погибшие) выявлены в венах легких (в среднем 2.8 ± 0.5 гельминта на животное).

Полученные данные показывают, что введение церкарий непосредственно в воротную вену не обеспечивает повышения приживаемости шистосом по сравнению с подкожным способом заражения. В то же время выживаемость церкарий в хозяине, по-видимому, существенно зависит от пути их введения. Так, достоверное ($P = 0.01$) снижение приживаемости шистосом после введения церкарий в хвостовую вену белым мышам (Holanda e. a., 1974) и в бедренную вену хлопковым крысам по сравнению с таковой при подкожном заражении может быть связано с тем, что в обоих случаях церкарии попадают в нижнюю полую вену, далее через сердце и легкие, где, вероятно, большая часть их погибает, не успевая трансформироваться в шистосомулы.

При введении церкарий в воротную вену часть личинок, по-видимому, задерживается в венозной системе печени, что повышает вероятность их выживания без дальнейшей миграции по кровеносной системе хозяина. Однако резко выраженная асинхронность роста и развития, характерная для шистосом, и вероятность миграции части личинок из венозной системы печени не позволяют достоверно определить различия в сроках достижения половозрелости гельминтами в зависимости от способа заражения животных (Barbosa e. a., 1978).

Отсутствие достоверных различий в числе выявленных шистосом у золотистых хомяков, зараженных путем введения церкарий в воротную и бедренную вены, можно объяснить тем, что по сравнению с другими видами грызунов диаметр сосудистых капилляров печени у них, по-видимому, больше, что в меньшей степени препятствует свободной циркуляции шистосомул. В пользу этого предположения свидетельствует обнаружение взрослых паразитов в кровеносных сосудах легких у 26.1 % золотистых хомяков.

Анализ результатов заражения золотистых хомяков разными дозами инвазионного материала дает основание полагать, что приживаемость шистосомул

у животных после введения церкарий в воротную вену несколько выше, чем при подкожном заражении, так как введение 100 церкарий на животное в воротную вену обеспечивает достижение максимальной приживаемости паразитов. Вероятно, численность популяции гельминта регулируется и на поздних этапах развития, когда часть шистосом отмирает, не достигая половой зрелости. Сравнительный анализ уровня приживаемости паразитов при внутривенном заражении животных дает основание для предположения о том, что большая часть личинок погибает не в процессе проникновения через кожу хозяина, а во время миграции шистосомул до их окончательной локализации.

ВЫВОДЫ

1. Восприимчивость золотистых хомяков и хлопковых крыс к экспериментальному заражению шистосомой Мэнсона после введения церкарий в воротную вену животных составляет 100 %.

2. При введении лабораторным животным церкарий в воротную вену и под кожу приживаемость паразитов была практически одинаковой и выше таковой при заражении в бедренную вену.

3. Интенсивность инвазии животных при увеличении доз вводимых церкарий повышается лишь до определенного среднего уровня, не превышающего 42.6 ± 4.2 гельминта на животное, достигаемого введением церкарий в воротную вену в меньших дозах, чем при подкожном заражении.

4. Приживаемость шистосом у хлопковых крыс была в 3—4 раза ниже таковой у золотистых хомяков, что не позволяет рекомендовать этот вид грызунов в качестве окончательных хозяев *S. mansoni* в целях поддержания модели.

Литература

- З е л я О. П. Заражение лабораторных животных при моделировании кишечного шистосомоза. — Паразитология, 1984, т. 18, вып. 5, с. 368—373.
- З е л я О. П., С а А. Б е э р. Использование джунгарских хомячков в экспериментальном моделировании кишечного шистосомоза. — В сб.: Актуальные вопросы медицинской паразитологии и тропической медицины. Баку, 1983, Вып. 3, с. 86—90.
- В а р б о с а М. А., П е л л е г р и н о J., С о е л h o P. M. Z., S a m p a i o I. B. M. Quantitative aspects of the migration and evolutive asynchronism of *Schistosoma mansoni* in mice. — Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo, 1978, vol. 20, N 3, p. 121—132.
- Н о л а н д а J. C., П е л л е г р и н о J., G a z z i n e l l i G. Infection of mice with cercariae and schistosomula of *Schistosoma mansoni* by intravenous and subcutaneous routes. — Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo, 1974, vol. 16, N 3, p. 132—134.
- Р о с h a M. O., С о е л h o P. M. Z. The importance of skin and pulmonary phases to the development of *Schistosoma mansoni* in albino mice. — Rev. Inst. Med. trop. Sao Paulo, 1980, vol. 22, N 4, p. 157—163.
- W i l s o n R. A., L a w s o n R. J. An examination of the skin phase of schistosome migration using a hamster cheek pouch preparation. — Parasitology, 1980, vol. 80, N 2, p. 257—266.

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

Поступила 18 VII 1984
после доработки 18 VII 1985

COMPARATIVE EFFECTIVENESS OF INFECTION OF LABORATORY ANIMALS BY
INTRAVENOUS AND SUBCUTANEOUS INJECTION OF CERCARIAE OF SCHISTOSOMA
MANSONI

O. P. Zela, F. P. Kovalenko

S U M M A R Y

Comparative study on effectiveness of intravenous and subcutaneous methods of infection of animals has shown that infection rate of helminths after the injection of equal dozes of cercariae under skin, into portal and femoral veins of golden hamsters does not differ significantly (42.6 ± 4.2 , 37.8 ± 5.8 and 26.0 ± 6.6 schistosomes, respectively). When using the above methods for cotton rats the infection rate was lower than that in golden hamsters. The most insignificant infection rate of parasites was recorded in both species after the injection of cercariae into the femoral vein. Results of the infection of golden hamsters with different dozes of cercariae have shown that with the increase of dozes of infectious material the infection rate of helminths rises during the experimental intestinal schistosomiasis only to a definite level, which is attained by the injection of cercariae into the portal vein in dozes lower than those used for subcutaneous infection.
