

23. Орлов Н.П. Чесотка сельскохозяйственных животных и современные методы борьбы с ней. Алма-Ата. 1951. Т. 3. 240 с.
24. Сайфуллов И.С. Гельминтологическая оценка методов выращивания молодняка крупного рогатого скота // Дис. ... канд. вет. наук., М., 1969.
25. Сайфуллов И.С. Гельминтологическая оценка различных способов содержания телят // Ветеринария. 1969. №9. С. 53-55.
26. Сайфуллов И.С. Динамика гельминтозов телят в специализированных откормочных хозяйствах // Матер. Всес. научн. конф. по проблемам ветеринарии в животноводческих комплексах и хозяйствах промышленного типа. Казань, 1972. С. 132-134.
27. Сайфуллов И.С. Распространение основных гельминтозов крупного рогатого скота в Московской области // Бюл. Всес. ин-та гельминтол., вып. 4, 1970. с. 111-116.
28. Сайфуллов И.С. Распространение основных гельминтозов крупного рогатого скота в Московской области // Бюл. Всес. ин-та гельминтол. 1970. Вып. 4. С. 111-116.
29. Сайфуллов И.С. Экономический ущерб при диктиокаулезе и стронгилятозах // Ветеринария. 1985. №2. С. 52-55.
30. Сафронов М.Г. Гельминтофауна сельскохозяйственных животных в Якутской АССР // Сб. тр. Якутск. НИВС, вып. 1, 1958. с. 78-83.
31. Сафронов М.Г. Гельминты и гельминтозы сельскохозяйственных животных в Якутской области // Автореф. дис. ... канд. вет. наук. 1955. 27 с.
32. Скрябин К.И., Шульц Р.С. Гельминты крупного рогатого скота и его молодняка // М.: Сельхозгиз, 1937.
33. Степанов А.И. Гельминтофауна крупного рогатого скота в Мордовской АССР // Тр. Всес. ин-та гельминтол. 1962. Т. 9. С. 120-125.
34. Степанов И.А. Гельминты и гельминтозы крупного рогатого скота в Мордовской АССР // Дис. ... канд. вет. наук. ВИГИС, 1962.
35. Степанов И.А. Сезонная и возрастная динамика главнейших гельминтозов крупного рогатого скота. Учен. зап. (Мордовск. Гос. ун-т), 1962, №22, с. 117-134.
36. Стринадкин П.С. Саркоптоидозы животных и меры борьбы // Проблемы энтомологии и арахнологии / Научн.-техн. бюлл. ВПИИВЭА. Тюмень, 1989. Вып. 34. С. 86-93.

**О.Ф. Гробов, Л.П. Дьяконов**

*Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко*

## РАЗВИТИЕ МИКРОСПОРИДИЙ НАСЕКОМЫХ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Микроспоридии широко распространенные облигатные внутриклеточные паразиты, известны у различных представителей животного мира от простейших до человека. Из установленных в настоящее время более 1200 видов этих патогенов около 70% выявлены у членистоногих, преимущественно у насекомых (59%), включая такие хозяйственно полезные и широко используемые населением виды, как медоносная пчела (*Nosema apis*, *N. ceranae*), шмели (*Nosema bombi*), тутовый шелкопряд (*N. bombycis*), китайский дубовый шелкопряд (*Vairimorpha antheraeae*). Вместе с тем специфичность хозяев для большинства этих паразитических организмов остается неясной (4).

В ветеринарной практике помимо микроспориidioзов полезных насекомых наибольшее значение имеет *Encerphalitozoon cuniculi*, установленный у различных видов животных: грызунов (мыши, крысы, хомячки, морские свинки, кролики), хищников (собаки, песцы, лисы, норки, кошки), жвачных (крупный рогатый скот, козы), приматов. Из мышей также выделены *N. muris* и *Thelohania apodemi*. Сходные паразиты установлены у североамерикан-

кой землеройки, жесткошерстного кролика, лесной и желтоголовой мышей, рыжей полевки, многососковых мышей, суррикат, дымчатого леопарда, рыси, хорьков, в головном мозге лошадей совместно с тельцами Негри. *E. cuniculi* передается интраутеринно, споры выделяются с мочой пораженных животных. Энзоотические вспышки энцефалитозооза с признаками поражения центральной нервной системы, почек, печени, глаз, абортными, неонатальной смертностью известны на фермах кроликов, пушных зверей, у зоопарковых животных, в пометах собак и кошек. У лабораторных животных заболевание преимущественно протекает латентно, паразитов чаще устанавливают при гистологическом исследовании ткани (1). В городских условиях заражено 40% грызунов, но случаи их гибели редки (10).

*Encerphalitozoon sp* - обнаружен в клетках почек, печени, тонкой кишке при гибели птиц (попугаи *Agapornis spp*) (19,24,25).

Представители этого рода микроспоридий также выделены у медоносной пчелы, у клещей и трематод (4).

Однако наибольшую озабоченность вызывают случаи поражения микроспори-

диями человека. Если сравнительно недавно регистрировали лишь отдельные случаи гибели, чаще детей при врожденном иммунодефиците, то проблема поражения оппортунистической инфекцией этими патогенами на всех континентах земного шара при СПИДе стала приобретать массовый характер. К настоящему времени у человека зафиксировано 14 видов микроспоридий, относящихся к 8 родам. Помимо *E. cuniculi* и других представителей этого рода *E. helleni*, *E. intestinalis*, у больных СПИДом пациентов в различных странах мира наиболее обычен возбудитель хронической диареи *Enterocytozoon bienersi*. Реже встречаются при различной патологии - от поражения глаз до общего поражения различных органов с летальным исходом - *Brachiola algerae*, *B. vesicularum*, *B. conpni*, *Nosema ocularum*, *Vittaforma corneae*, *Pleistophora ronneafiei*, *Trachipleistophora hominis*, *T. anthropophthera* и представители сборного рода *Microsporidium* (*M. africanum*, *M. ceylonensis*) (30).

Из перечисленных видов микроспоридий *B. algerae* была установлена впервые у личинок комара *Anopheles stephensi* как *N. algerae* (Varva et Unduh, 1970) и в последующем отнесена к роду *Brachiola* (22). Уже первоначальные исследования показали, что этот паразит может поражать не только различные виды комаров рода *Anopheles* (18), но также различные виды полужесткокрылых, чешуекрылых и жесткокрылых насекомых (28), развивается при инъекции в клетках подушечек лап и на поверхности роговицы глаза мышшей (28, 30), проходит полный цикл развития в культурах клеток почек кролика при 29°C (26), при 26°, 35°, 37°, 38°C – почек свиней. Максимальный процент спор с выброшенной полярной трубкой отмечен через 15-30 мин. после их внесения при 35°C, чуть меньше при 26°C. Образование спор в клетках культур происходило через 48 и 60 часов соответственно (27), он также развивается в культурах почек обезьян (ЕС), фибробластах легких человека (HLF) при 30, 36 и 37°C (13, 23, 30). Исследования сыроворотки крови многих пациентов с неклассифицированными глазами микроспоридиозами показали у них высокие титры антител к *B. algerae* (15). Эта микроспоридия была выделена из роговицы глаз, глубокой мышечной ткани, абсцессов кожи у 3 больных лиц с подобным поражением. Показано морфологическое, биологическое, серологическое и генетическое подобие выделенных штаммов *B. algerae* с исходным

штаммом от комаров (генетические различия некоторых изолятов составляли около 1%). Предполагается возможность заражения человека спорами этой микроспоридии при укусе комара или с водой (30).

*B. algerae* и *B. vesicularum* принадлежат к семейству *Tubulinosematidae*, к этому же семейству относится патоген дрозофил (*Drosophila melanogaster*) *Tubulinosema ratisbonensis*. Выделенные из фруктовых мух споры этой микроспоридии были инокулированы в культуры клеток млекопитающих и насекомых, культивирование проводили при 31°C и 37°C. Развитие паразита в виде отдельных небольших очагов отмечено при 37°C в фибробластах легких человека. Роста патогена в клетках Vero, культуре клеток насекомых и при 31°C не наблюдали. Электронно-микроскопические и генетические исследования показали идентичность выросших микроспоридий с вносимым инокулятом (16).

Безусловный интерес представляют отношения широко распространенных в природе микроспоридий тутового шелкопряда и медоносных пчел к клеткам млекопитающих, поскольку человек имеет непосредственный контакт при работе с инфицированными хозяевами и их продуктами.

*N. bombycis* - возбудителю пембрины тутового шелкопряда восприимчивы более 15 видов различных чешуекрылых различных семейств (11, 9). *N. apis* более специфичен для медоносной пчелы, не способен развиваться в муравьях, личинках мух, шелковичных червях, но экспериментально к нему восприимчива восковая пчела, *Apis cerana*, шмели, возможно, гигантская пчела, *A. dorsata*.

R. Ishihara, 1968, сообщает об успешном культивировании *N. bombycis* в первично трипсинизированных клетках эмбрионов крыс при 28°C. Паразит проходил полный цикл развития; результаты опытов были отрицательными при 37°C, а также при использовании клеток эмбрионов кроликов, мышшей и кур при 28°C и 37°C (17). В опытах лаборатории ВИЭВ А.А. Мещеряковым, 1978-1983, проведено изучение возможности культивирования *Nosema apis*, *N. bombycis* и известной у более 20 видов личинок комаров *Thelohania opacita* на первично трипсинизированной культуре почек эмбрионов крупного рогатого скота (ПЭК) и перевиваемой линии эпителия трахеи этих животных (TR) на питательной среде с 0,5% гидролизата лактоальбумина при температуре 28-29°C для *N. apis* и *N. bombycis* и 24-26°C для *T. opacita* (3,5-8).

Предварительно адаптированные к росту при низких температурах культуры заражали очищенными спорами *N.apis* и *N.bombycis* в дозах 400-600 тыс. спор/мл среды и *T. oracita* - 10-20 тыс. спор/мл среды. Перевиваемая линия клеток TR была невосприимчива к заражению *N.bombycis*, в отличие от ПЭК. Внесенные в культуры ПЭК споры *N.apis* и *N.bombycis* вблизи монослоя выбрасывали полярные трубки, по которым в цитоплазму клеток инъецировалась спороплазма. Прохождение двуядерных споропазм было зафиксировано в полярной трубке *N.apis* и на конце этой органеллы *N.bombycis* внутри протоплазмы клетки хозяина. На 2-е сутки в клетках с *N.apis* можно было выявить одно-, двух- и многоядерные шизонты, на 3-е сутки - многоядерные шизонты и споробласты, на 4-е и последующие сутки - споры. Число пораженных клеток достигало 10-12%, при этом наблюдали деформацию ядер шизонтами паразита, атипичное деление ядер, на 6-е сутки наступала вакуолизация цитоплазмы, появление в ней эозинофильных включений, клетки деформировались и распадались.

При *N.bombycis* процессы шизогонии проходили в течение первых 5 суток, спорогонии на 6-9 сутки после заражения культур, на 13 сутки в клетках встречали только споры, поражалось около 10% клеток. У *T. oracita* спорогония отмечена на 8-11 сутки в 20-22% клеток ПЭК. При заражении микроспоридиями чаще поражались эпителиоподобные клетки, чем фибробластоподобные. Изменения в клетках-хозяевах были аналогичны как при *N.apis*.

Продолжительность полных жизненных циклов развития *N.apis* и *N.bombycis* в клетках ПЭК увеличивалась, практически удваивалась, очевидно, за счет замедленного процесса спорогонии соответственно до 4 и 9-13 дней по сравнению с развитием этих паразитов в организмах специфических хозяев: медоносной пчелы - 48 часов (12) и шелковичного червя - 96 часов (11).

В последние годы значительную озабоченность пчеловодов Европы вызвало распространение новой микроспоридии у медоносной пчелы, выявленной ранее у восковой пчелы в Азии, *N.ceranae* Fries et al., 1996. В отличие от *N.apis*, поражающих пчел весной и лишь изредка осенью, *N.ceranae* вызывает гибель пчел в течение всего активного сезона насекомых (2). Этот вид микроспоридий был успешно прокультивирован на клетках млекопитающих Vero E-6 при 37°C, что приводит ав-

торов к заключению об опасности паразита для человека (14).

Анализ приведенных данных показывает, что чаще всего успешное развитие микроспоридий насекомых происходит на первично- трипсинизированных культурах клеток млекопитающих, за исключением развития *N.ceranae* в линии клеток Vero E-6; преимущественной тканью исследователям служили почки животных и лишь в отдельных случаях фибробласты человека.

Если считать критерием опасности для человека при нарушенном иммунитете микроспоридий насекомых возможность их развития в культурах клеток млекопитающих с учетом температур как фактора защиты теплокровных от паразитов беспозвоночных (20), то перечисленные выше патогены могут быть распределены на ряд групп.

Проходящая развитие в клетках различных животных при большом диапазоне температур (26-39°C) и выделенная у больных людей *V.algaeae* является наиболее изученным опасным паразитом человека и, вероятно, других млекопитающих. Следует отметить, что развитие рассматриваемой в настоящем как специфическая микроспоридия человека *N.corneae* также происходит при 30, 35 и 37 C (21). У беспозвоночных и других теплокровных не обнаружен этот агент.

Культивированные при 37°C *T.ratisbonensis* от дроздофил в фибробластах легкого человека и *N.ceranae* от пчел в Vero E-6, очевидно, имеют большую возможность паразитировать у млекопитающих, хотя о развитии их в организме теплокровных данных нет. Попадание этих микроспоридий в организм возможно соответственно с перезрелыми фруктами (овощами) и с продуктами пчеловодства (медом, пыльцой, пергой) из неблагоприятных семей пчел. Возникает необходимость предварительных исследований этих продуктов, проведения дифференциации микроспоридий при их выявлении, ограничения их к применению у лиц при СПИДе;

Развитие *N.ceranae* при 37°C объясняет факт поражения пчел в активный период их жизнедеятельности и дифференцирует этого патогена от *N.apis*.

Отдельную группу, вероятно, представляют *N.bombycis*, *N.apis* и *T. oracita*, развитие которых в клетках млекопитающих происходит при сниженных температурах. *N.bombycis* развивается при 28 C, но развитие отсутствовало при 37°C; подобным образом, вероятно, ведет себя *N.apis*, у кото-

рого в пчеле при температуре 10°C образования спор не происходит, при 20°C они появляются через 88 часов, при 30°C через 44-48 часов, а более высокие температуры подавляют спорообразование. *T. oracita* развивалась в культуре ткани при 24-26°C. Развитие *N.bombycis* и *N.apis* в клетках почек эмбрионов крупного рогатого скота вдвое продолжительнее, чем в организме основных хозяев насекомых, кроме того поражение 10% клеток в культурах сопровождается атипичным образованием многих связанных тонкими тяжами ядер, которые, по мнению некоторых исследователей (21), представляют защиту паразитам, подобную ксеному, может указывать на недостаточно благоприятные условия для развития этих микроспоридий насекомых

**РЕЗЮМЕ**

**Проведен анализ результатов собственных исследований и обзор работ по культивированию микроспоридий насекомых: *Brachiola algerae*, *Tubulosema ratisbonensis*, *Nosema bombycis*, *N.apis*, *N.ceranae*, *Thelohania oracita* в культурах клеток млекопитающих и оценка возможности их развития в организме теплокровных.**

**SUMMARY**

**We've reviewed the results of analysis of our investigation and survey on cultivation the insect microsporidium: *Brachiola algerae*, *Tubulosema ratisbonensis*, *Nosema bombycis*, *N.apis*, *N.ceranae*, *Thelohania opacita* into the cells culture of the mammalian and the possibility of their development in the warmblooded animals.**

**Литература**

1. Гробов О.Ф., Дроздова Э.И. Энцефалитозооз (нозематоз) животных. Обзорная информация. М. 1979
2. Гробов О.Ф., Сотников А.Н. Возбудители нозематоза. Пчеловодство 2007, 1, 26-27
3. Дубицкий А.М., Левченко Н.Г., Мещеряков А.А., Гробов О.Ф. Способ получения спор *Thelohania oracita* Kudo, 1922. Авт. свидетельство СССР №809883 от 3 ноября 1980 г. Приоритет по заявке №2834718 от 29.10.1979 г
4. Исси И.В. Микроспоридии как тип паразитических простейших. В кн. «Микроспоридии», Наука, Л., 1986, 6-136
5. Мещеряков А. А. Культивирование микроспоридий в культурах клеток. Дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук, М, 1981
6. Мещеряков А.А. Микроспоридии в культурах клеток. Пчеловодство, 1983, 11, 13
7. Мещеряков А.А., Дьяконов Л.П., Гробов О.Ф. Способ получения спор *Nosema apis*. Авт. свидетельство СССР №836092 от 6 февраля 1981 г. Приоритет по заявке №2784412 от 19.06.1979 г
8. Мещеряков А.А., Дьяконов Л.П., Панкова Г.Е., Данишевский Д.А. Способ получения микроспоридий беспозвоночных. Авт. свидетельство СССР №980432 от 9 августа 1982 г. Приоритет по заявке №2754413 от 19.06.1979 г
9. Михайлов Е.Н. Инфекционные болезни тутового шелкопряда. Уктугви, Ташкент, 1984
10. Соколова Ю.Я., Исси И.В. Энтомопатогенные простейшие и особенности патогенеза протозойных заболеваний насекомых. В кн.: Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты, под ред. В.В.Лупова. Изд. «Круглый год», М. 2001, 76-188
11. Штейнхауз Э. Патология насекомых. Изд. Ин. лит., М., 1952
12. Borchert A. Schädigungen der Bienenzucht durch Krankheiten, Vergiftungen und Schädlinge der Honigbiene. S.Hirzel Verlag, Leipzig, 1974
13. Chioralia G., Maier W.A., Seitz H.M. In vitro replication of *Nosema algerae* (Microsporidia), a parasite of anopheline mosquitoes in human cells above 36°C. Journ. Eukaryot. Microbiol. 1999, 46, 464-468
14. Delaguila C, Izquierdo F, Palencia P.G., Martin R., Higes M., Fenoy S. First steps toward the in vitro cultivation of *Nosema ceranae*. Proceeding of the second European Conference of Apidology. Prague 10-14 Sept 2006, 32
15. Didier E.S., Bessinger T.D. Host-parasite relationships in microsporidiosis animals and immunology. In.: M.Wittner and L.M.Weiss (Eds). Microsporidia and Microsporidiosis. ASM Press, Washington D.C. 1999, 225-257
16. Franzen C, Fischer S., Schroeder J., Bleiss W, Schneuwey S., Scholmerich J., Salzberger B. In vitro cultivation of an Insect Microsporidian *Tubulosema ratisbonensis* in mammalian cell. Journ. Eukaryot. Microbiol., 2005, 52(4), 349-355
17. Ishihara R. Growth of *Nosema bombycis* in primary cell cultures of mammalian and chicken embryos. Journ. Invertebr. Pathol., 1968, 11, 328-329
18. Kelley J.F., Antony D.W. Susceptibility of spores of the microsporidian *Nosema algerae* to sunlight and germicidal ultraviolet radiation. Journ. Invert. Pathol., 1979, 34, 164-169
19. Kemp R.L., Kluge J.P. Encephalitozoon sp. in the blue-masked lovebird *Agapornis personata* (Reichenow): first confirmed report of the microsporidian infection in birds. Journ. of Protozoology 1975, 22(4), 489-491
20. Kucerova Z., Moubu H., Visvesvara G.S., Leitch G.J. Differences between *Brachiola* (*Nosema*) *algerae* isolates of human and insect origin when tested using an in vitro spore germination assay and a cultured cell infection assay. Journ. Eukaryot. Microbiol. 2004, 51, 339-343
21. Leitch G.L., Shaw A.P., Colden-Stanfield M., Scanlon M., Visvesvara G.S. Multinucleate host cells induced by *Vittaforma corneae* (Microsporidia)

- Folia parasitol. 2005, 52 (1-2), 103-110
22. Lowman P., Takvorian P.M., Cali A. The effects of elevated temperature and various time-temperature combinations on the development of Brachiola (Nosema) algerae n.comb. in mammalian cell culture. Journ. Eukaryot. Microbiol. 2000, 47, 221-224
  23. Moura H., Da Silva A.J., Moura J.N.S., Schwartz D.A., Leitch G.J., Wallace S., Pieniazek N.J., Wirtz R.A., Visvesvara G.S. -Characterization of Nosema algerae isolates after continuous cultivation in mammalian cells at 37°C. Journ. Eukaryot. Microbiol. 1999, 46, 149-165
  24. Novilla M.N., Kwapien R.P. - Microsporidian infection in the pied-peach-faced lovebird (Agapornis roseicollis). Avian Diseases 1978, 22(1), 198-204
  25. Randall C.J., Lees S., Higgins R.J., Harcourt-Brown N.H. Microsporidian infection in lovebirds (Agapornis spp.) Avian Pathol. 1986, 15, 223-231
  26. Takvorian P.M., Weiss L.M., Cali A. The early events of Brachiola algerae (Microsporidia) infection, spore germination, sporoplasm structure and development within host cells. Folia parasitol. 2005, 52(1-2), 118-129
  27. Undeen A.H. Growth of Nosema algerae in pig kidney cell cultures. Journ. Protozol. 1975, 22, 107-110
  28. Undeen A.H., Alger N.E. Nosema algerae: infection of the white mouse by a mosquito parasite. Exp. Parasitol. 1976, 40, 86-88
  29. Undeen A.H., Maddox V. The infection of nonmosquito hosts by injection with spores of the microsporidian Nosema algerae. Journ. Invertebr. Pathol. 1973, 22(2), 258-265
  30. Visvesvara G.S., Moura H., Leitch G.J., Schwartz D.A., Xiao L.X. Public health importance of Brachiola algerae (Microsporidia) - an emerging pathogen of humans. Folia parasitol. 2005, 52(1-2), 83-94

УДК 619:615.9:636.7

**Л.К. Герунова, С.В. Чернигова, В.Д. Коввай**

*ФГОУ ВПО Омский государственный аграрный университет,  
Омская государственная медицинская академия*

## **МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ У СОБАК, ПОДВЕРГШИХСЯ ИНТОКСИКАЦИИ НЕОСТОМОЗОМ, И ИХ КОРРЕКЦИЯ ЭНТЕРОСОРБЕНТОМ ЗООКАРБОМ**

Особую актуальность проблема острых и хронических отравлений животных приобрела в последние десятилетия вследствие накопления в окружающей среде огромного количества различных химических соединений – около 10 млн. наименований ксенобиотиков [3].

Постоянным спутником острых отравлений является эндотоксикоз, развивающийся вследствие накопления в организме эндогенных токсических веществ в результате поражения центральной нервной системы, печени, почек, желудочно-кишечного тракта [4]. Эти поражения требуют проведения лечебных мероприятий.

Детоксикация как один из важнейших механизмов химической резистентности направлена на сохранение химического гомеостаза, который обеспечивается кооперативной функцией систем естественной детоксикации.

В настоящей работе изучали механизмы развития метаболических нарушений при интоксикации неостомозом и перспективу использования для их коррекции энтеросорбции зоокарбом.

### **Материалы и методы.**

Опыты проводили на 15 беспородных

собаках массой 4,5 – 6 кг, подобранных по принципу аналогов. Их произвольно разделили на 3 группы по 5 животных в каждой. Первую группу «И» составляли интактные животные, вторую «Н» – собаки, которым однократно был введен подкожно неостомозан в дозе 250 мг/кг массы. Животным третьей группы «Н+З» после инъекции неостомозана вводили энтеросорбент зоокарб в дозе 0,5 г/кг массы 1 раз в день в течение 7 суток. Состояние животных оценивали по данным клинических наблюдений и изменениям биохимических показателей через 1, 7 и 14 суток после введения неостомозана. У собак натошак утром из лучевой вены брали кровь, в которой на биохимическом анализаторе-полуавтомате «Микролаб – 300» определяли концентрацию глюкозы, молочной кислоты, мочевины, креатинина, фракции «средних молекул» (ФСМ), активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). С плазмой крови проводили тимоловую пробу. Результаты исследования подвергали статистической обработке с использованием программы STATISTICA. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из экспери-