Перекрестное заражение лабораторных крыс простейшими рода *Giardia* sp., выделенными от собак и кошек

Cross-infection of laboratory rats with the protozoa *Giardia* sp. separated from dogs and cats.

Курносова О.П.
г. Москва

DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-7-15
619:616.993

Ключевые слова: гиардии, заражение лабораторных крыс, собаки, кошки, лабораторная модель

Key words: giardia, infection of laboratory rats, dogs, cats, laboratory model.

Резюме. Гиардиоз является широко распространенным среди животных протозойным заболеванием. Возможность перекрестного заражения гиардиями, выделенными от домашних собак и кошек лабораторных крыс является актуальной темой. Разновозрастные группы крыс заражали перорально разными дозами цист гиардий. Исследования показали, что препатентный период варьировал от 17 до 30 дней, патентный от 30 до 520 дней. Клинические проявления у всех лабораторных животных были минимальными и характеризовались размягчённым стулом. Цисты гиардий у зараженных крыс выделялись периодически во внешнюю среду с разной интенсивностью инвазии. Успех создания лабораторной модели гиардиоза на лабораторных крысах зависит не только от генотипа гиардий и их инвазионной способности, но и от индивидуальной восприимчивости лабораторных животных. Не смотря на трудоемкость создания лабораторной модели гиардиоза и наблюдения за ходом инвазии у опытных животных, успешное заражение позволяет проводить различные исследования в условиях *in vivo* и *in vitro* и сохранять в жизнеспособном состоянии различные изоляты гиардий.

Summary. Giardiasis is a widespread protozoal disease among animals. The possibility of cross-contamination with giardia, between different species of animals is an actual topic that will help to clarify many issues in the field of epizootiology and epidemiology of this disease. Different-aged groups of rats were orally infected with different doses of giardia cysts, isolated from domestic dogs and cats. Studies have shown that the prepatent period ranged from 17 to 30 days, the patent period from 30 to 520 days. Clinical manifestations in all laboratory

animals were minimal and characterized by a softened stool. Cysts of giardias in infected rats were periodically released into the external environment with different rates of invasion. The success of the creation of a laboratory model of giardiasis on laboratory rats depends not only on the giardia genotype and their invasive ability, but also on the individual susceptibility of laboratory animals. Despite the labor input of creating a laboratory model of giardiasis and monitoring the progress of invasion in experimental animals, successful infection allows various studies to be carried out *in vivo* and *in vitro* and to preserve various *Giardia* isolates in a viable state.

Введение

Гиардиоз – широко распространенное заболевание, вызываемое паразитированием в тонком кишечнике животных, птиц и людей жгутиковых простейших *Giardia* sp. Клинические признаки заболевания могут сильно варьировать. Степень выраженности гиардиоза зависит от ряда predisposing факторов как со стороны организма хозяина, так и от степени вирулентности генотипов гиардий. Известно, что наиболее восприимчивы животные в возрасте до 1 года. Состояние пониженного иммунитета организма, наличие других заболеваний, снижающих защитные способности слизистой оболочки тонкого кишечника, могут привести к затяжному течению болезни. В ряде случаев отмечают длительное носительство гиардий. Вместе с этим известны случаи бессимптомного переболевания и самопроизвольного освобождения от гиардий.

На сегодняшний день гиардиоз как заболевание и сами гиардии активно и всесторонне изучаются по всему миру [1, 3,4,5,7,9]. Но, не смотря на это, до сих пор по некоторым направлениям остаются актуальные вопросы. В эпидемиологии гиардиоза остается открытым вопрос о зоонозной передаче этих простейших от животных к человеку. Генетические исследования показали, что гиардии *Giardia lamblia* генотипа А и В способны вызывать заражение не только людей, но и многих видов животных, что позволяет предположить их потенциальную роль в передачи инвазии человеку [9]. Этот факт необходимо учитывать при тесном контакте человека с домашними животными, особенно при не соблюдении правил личной гигиены.

Успешное экспериментальное заражение гиардиями лабораторных животных имеет очень большое значение для науки и практики [10]. Это поможет проводить целый ряд различных исследований по выявлению биологических особенностей разных изолятов лямблий в организме зараженного животного, изучать клинические проявления инвазии в чистом эксперименте, позволит провести оценку эффективности новых лекарственных форм для терапии гиардиоза в условиях *in vivo*. Для экспериментального заражения исследователи используют разных животных, однако, наиболее подходящей моделью являются лабораторные мыши, крысы и монгольские песчанки [8].

Целью представленной работы было: 1) оценить вероятность перекрестного заражения гиардиями, изолированными от домашних животных для лабораторных крыс; 2) определить длительность препатентного и патентного периодов при экспериментальном заражении; 3) изучить характер выделения цист во внешнюю среду за весь период эксперимента; 4) оценить перспективность использования крыс как лабораторной модели гиардиоза.

Авторы / Authors

Курносова О.П., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории паразитарных зоонозов, e-mail: 916952522@mail.ru

Успенский А.В., профессор, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией паразитарных зоонозов, e-mail: 916952522@mail.ru

Kurnosova O.P., Uspensky A.V.

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений- филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный научный центр-Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук", Россия, Москва, Большая Черемушкинская ул., 28, 117218, 8(499)1245655

Материалы и методы

Для экспериментального заражения использовали цисты гиардий, которые выделяли из фекалий спонтанно зараженных домашних собак и кошек. Изоляты цист от животных были любезно предоставлены ветеринарной лабораторией "Пастер".

Цисты из положительных образцов фекалий выделяли с помощью флотационного метода с использованием раствора хлорида натрия, плотностью 1,2 [2]. Капли с цистами гиардий гельминтологической петлей переносили с поверхности пленки на предметное стекло, затем, со стекла смывали цисты в пробирки типа эппендорф и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 3-х минут. Надосадочную жидкость отбирали пипеткой, к осадку добавляли дистиллированную воду и повторяли центрифугирование. Количество цист подсчитывали после окрашивания 2% раствором Люголя при увеличении микроскопа x400, подсчет цист вели во всех полях зрения [1].

Белые нелинейные крысы были получены из питомника "Андреевка" ФГБУН НЦБМН России. Перед началом опыта крысы многократно ежедневно исследовали методом концентрации фекалий на наличие кишечных паразитов и свободные от них животные были отобраны для опыта [6]. Все животные содержались в индивидуальных клетках, в условиях, исключающих спонтанное заражение гиардиями.

Экспериментальных животных заражали разными дозами (от 800 цист до 45 000 цист на голову). Контрольные крысы перорально получили по 20 мкл кипяченой воды.

С первого дня после заражения, ежедневно у всех животных методом флотации исследовали фекалии на наличие цист лямблий для определения начала препатентного периода. С наступлением патентного периода частоту исследований сократили до одного раза в неделю. После самопроизвольного прекращения выделения цист, фекалии животных продолжали исследовать в течение 3-х недель, и при отсутствии цист в этот период опыт считали законченным.

Для определения интенсивности инвазии 1 г фекалий исследовали методом эфирно-формалинового осаждения, осадок окрашивали 2% раствором Люголя и при увеличении микроскопа x400 вели полный подсчет цист во всех полях зрения [6].

Результаты и обсуждение

Всего проведено 10 опытов по перекрестному заражению лабораторных крыс. Результаты представлены в таблице №1. Возраст и соответственно масса тела лабораторных крыс были различными. Изначально в опытах использовали молодых животных, выбор которых был обоснован биологическими особенностями гиардий, способных интенсивно размножаться в условиях хорошего пристеночного пищеварения. Но с течением времени проведения опытов была проведена попытка заражения лабораторных крыс меньшей дозой цист и более старшего возраста.

Из 8 опытов (№1-№8) по заражению изолятами от собак, в 3 случаях все крысы в опытной группе были успешно заражены. Препатентный период длился от 17 до 25 дней, патентный период – от 30 до 520 дней. Из 2 опытов

(№9-№10) при заражении крыс изолятами гиардий, выделенных от кошек, только в 1 случае крысы успешно заразились (№9). Препатентный период длился 30 дней, патентный 150 дней. Во всех опытах у животных наблюдался прерывистый характер выделения цист с фекалиями во внешнюю среду, интенсивность инвазии варьировала – от 10 до 5500 цист на 1 грамм фекалий. Клинические проявления гиардиоза у зараженных животных были отмечены только со стороны желудочно-кишечного тракта и проявлялись в виде периодически возникающего неоформленного стула или увеличения объема и размягчения фекальных масс.

Обсуждение

Для проведения перекрестного заражения исследователи в своих опытах используют разное количество цист и трофозоитов, от 7–10 цист до 1,5 миллионов трофозоитов на одно животное [5,8]. В нашем исследовании для заражения крыс также использовалось разное количество цист (от 800 цист до 45000 цист на одно животное). Максимально большое количество цист для заражения было использовано в начале экспериментов для увеличения шанса осуществить экспериментальное перекрестное заражение с одной стороны, с другой стороны использование меньшего количества цист (минимально 800 цист на одно животное) было связано с интенсивностью инвазии гиардиями у спонтанно зараженного животного, из фекалий которого выделяли инвазионный материал. Также, в начале исследований, заражению подвергали молодых крыс, основываясь на биологии гиардий, способных наиболее интенсивно размножаться в условиях хорошего пристеночного пищеварения [7]. Но, по мере выполнения исследований, в дальнейшем для заражения были также использованы и взрослые крысы, в возрасте одного года и более.

Вопрос о существовании перекрестного заражения гиардиями между разными видами животных и вероятность их зоонозной природы для человека интересует исследователей по всему миру очень давно. [5,7,8,10]. Генетическая идентичность изолятов гиардий, выделенных от человека и животных является достаточным основанием считать данного возбудителя зоонозом [9]. Но, не смотря на потенциальный зоонозный характер инвазии, условия, необходимые для передачи от животных к человеку во многом остаются неясными. Животные в таком случае могут быть резервуаром инвазии, и степень опасности для передачи паразита к человеку будет сильно зависеть от условий проживания людей. Это в первую очередь является актуальным вопросом для тех стран и регионов, где отсутствует централизованное водоснабжение и отведение сточных вод. В то время, передача данной инвазии, даже при наличии общего генотипа, людям, проживающим в условиях мегаполисов с хорошей социальной урбанизацией будет минимальна. В таких условиях группу риска будут представлять люди, чья профессия связана с уходом за большим количеством животных и дети маленького возраста с несформированными навыками личной гигиены.

В представленной работе была сделана попытка экспериментального заражения лабораторных крыс изолятами гиардий, выделенными от спонтанно зараженных до-

Таблица №1. Результаты опытов по заражению крыс изолятами гиардий, выделенных от собак и кошек.

Кол-во опытов	Доза заражения (кол-во цист на гол.)	Кол-во крыс в опыте	Кол-во заразившихся крыс в опыте	Длительность препатентного периода (дни)	Длительность патентного периода (дни)	Длительность наблюдения (всего дней)	Характер выделения цист
№1 от собаки	3-10 тыс	3	0	-	-	30	-
№2 от собаки	2,6-5 тыс	3	0	-	-	30	-
№3 от собаки	18-45 тыс	4	4	17-25	520	537*	прерывистый
№4 от собаки	5,6-11,2 тыс	5	0	-	-	30	-
№5 от собаки	800 -1,6 тыс	6	0	0	0	30	-
№6 от собаки	5 тыс	4	4	25	95	120	прерывистый
№7 от собаки	5-18 тыс	5	5	19-21	30	55*	прерывистый
№8 от собаки	5 тыс	4	0	-	-	30	-
№9 от кошки	5-6 тыс	2	2	30	150	180*	прерывистый
№10 от кошки	4 тыс	4	0	-	-	30	-

* - звездочкой отмечено количество дней наблюдения за выделением цист при самопроизвольном освобождении от гиардий

машних собак и кошек. Исследование показало наличие возможности перекрестного заражения. Следует учитывать, что эксперименты достаточно трудоемки, требуют длительного и кропотливого наблюдения. Успех создания лабораторной модели на животных может зависеть не только от используемого для заражения генотипа гиардий, но и от жизнеспособности и инвазионности цист, от индивидуальной восприимчивости лабораторных животных[5].

Исследования подобного плана являются весьма актуальными и дают возможность расширить представления в области раскрытия потенциально зоонозной опасности данного заболевания для человека. Помимо этого создание лабораторных моделей гиардиоза на крысах позволит проводить широкий круг исследований в условиях *in vivo* и *in vitro*.

Список литературы

1. Ириков О.А. Проблемы выделения культуры лямблий, Мед. па-

разитол, 2008 1, 50-51.

2. Котельников Г.А. Диагностика гельминтозов животных. - М., 1974.

3. Курносова О.П., Одоевская И.М., Красавченко К.С. Определение генотипов *Lamblia duodenalis* у инвазированных лямблиями людей в городе Москва, Мед. паразитол., 2015, 3, 21-24.

4. Курносова О.П. Распространение простейших *Lamblia sp.* (*Giardia sp.* среди собак и кошек города Москвы Мед. паразитол

5. Курносова О.П., Одоевская И.М. Экспериментальное заражение крыс изолятами лямблий от человека - модель длительного течения инфекции Мед. паразитол 2016. 2, 16-19

6. Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов, МУК 4.2.3145-13. - М., 2014. <http://docs.cntd.ru/document/1200110752>.

7. Adam R.D. Biology of *Giardia lamblia*, Clinical Microbiol. Reviews, 2001, 14, 447-475.

8. Tantawattananon N., Sangloun C., Buddhirongawatr R., Sukthana Y. Cultivation of *Giardia duodenalis* in Mongolian gerbils, Southeast Asian J Trop Med Public Health., 2006, 37, 21-23.

9. Thompson R.C., Monis P.T. Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology, Adv. Parasitol., 2004, 5869-137.

10. Zak O., Sande M.A. Handbook of animal models of infection, Academic press, 1999, 867-872.