

В. И. ХАЧОЯН, Е. С. НАЛБАНДЯН

ФЛОТАЦИЯ И ОТДЕЛЕНИЕ ТРИПАНОСОМ ОТ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ

По литературным данным [3, 4] паразитические жгутиковые трипаносомы в основном выращиваются в кровяных средах и в организме восприимчивых животных.

В окрашенных мазках и в нативных препаратах они хорошо заметны и легко определяются, но часто возникает необходимость отделить их от форменных элементов крови, от клеток тканей и получить концентрат в чистом виде для изучения антигенов, экстрактов, цитохими, электрон-микроскопической структуры и т. д.

В хронике ВОЗ [1] указывается, что данные изучения механизмов иммунитета вообще при паразитарных заболеваниях затрудняются, потому что трудно получить и накапливать паразитов изолированно от тканей хозяина в достаточной для разных исследований количествах. Эта трудность вынудила нас заняться этим вопросом.

Обычно для концентрации трипаносом полученную из сердца подопытного животного кровь для предотвращения свертывания, центрифугируют или дефибринируют (при помощи стеклянных бус и встряхиванием 10 мин.), затем в условиях рефрижератора при +5°C и 1000 оборотов в минуту для освобождения от форменных элементов крови центрифугируют 10 минут и повторным центрифугированием плазмы при 6000—8000 оборотах в минуту в течение 10—15 мин. осаждают трипаносомы.

Так же описан способ концентрации трипаносом центрифугированием на сепараторах, что является эффективным методом концентрации трипаносом из культуральной жидкости [2].

Вышеописанные способы при работе с мелкими лабораторными животными (мыши, хомячки) неприменимы, так как кровь бывает в незначительном количестве.

В доступной литературе мы не нашли описания способа концентрации трипаносом из крови мелких животных и из конденсационной жидкости кровяных сред. В настоящей работе изучена возможность использования флотационной жидкости при концентрации трипаносом следующего состава: поваренной соли—1,0 г, глюкозы—1,0 г, лимоннокислого натрия—1,5 г и дистиллированной воды 100 мл.

Для опытов использована трипаносома *Tricosei** и трипаносома *Lewisii*. Взятую от зараженного животного кровь или конденсационную

* Штамм *Tr. tricosei* любезно предоставлен доктором Пахчяняном (Галвестон, Техас, США).

жидкость из среды, где выращивались трипаносомы, смешивали с флотационной жидкостью вышеописанного состава, энергично встряхивали и при обычных условиях (1000 оборотов в минуту в течение 5 мин. и повторное центрифугирование 10 млн. при 6000—8000 оборотов в минуту) производили центрифугирование и получали концентрат трипаносом почти в плотном виде.

Для удобства флотационную жидкость брали в 5—10 раз больше, чем исследуемый материал. Отделение трипаносом от форменных элементов крови в данной жидкости можно производить и без предварительного центрифугирования. Для этого необходимо в течение 12—24 час. оставлять смесь в холодильнике при $+5^{\circ}\text{C}$. За это время форменные элементы крови оседают на дно, а трипаносомы остаются в надосадочной жидкости. Путем центрифугирования надосадочной жидкости при необходимости можно получать концентрат трипаносом в достаточном количестве.

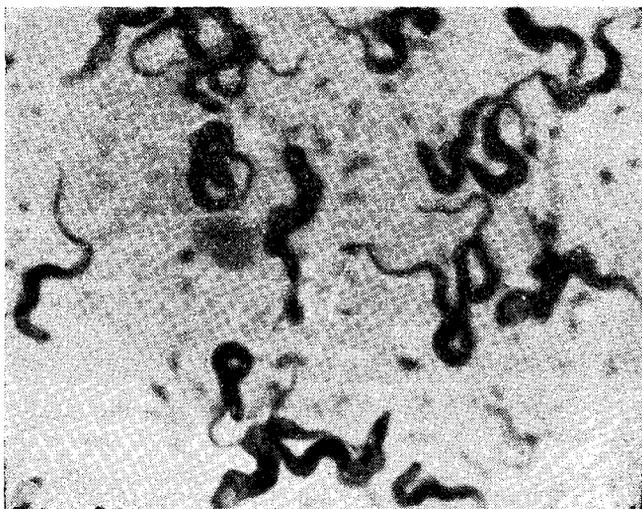


Рис. 1. *Trypanosoma brucei*, после отделения и флотации из крови серых хомячков. Окраска по Романовскому-Гимза ($\times 900$).

При помощи флотационной жидкости можно также отделить трипаносомы от тканей внутренних органов (печень, сердце, селезенка, почки). Для этого мелко нарезанный или гомогенизированный орган помещается в сосуд с флотационной жидкостью, энергично встряхивается и смесь на несколько часов оставляется в холодильнике, затем центрифугированием (1000 оборотов в минуту в течение 5 мин) осаждают частицы тканей, в дальнейшем повторным центрифугированием центрифугата осаждаются трипаносомы.

Если при обычном микрокопировании иммерсионной системой (увеличения 90×7) в окрашенных препаратах крови находили единичные трипаносомы в поле зрения, то после флотации при том же увеличении, находили 100 и более трипаносом (рис. 1).

Проводя периодическое микроскопирование нативных препаратов, приготовленных из концентрата и из надосадочной жидкости, мы убедились, что в обоих случаях трипаносомы сохраняют активную подвижность и морфологические особенности, а при введении этого материала биопробным животным даже через 24 часа получали развитие трипаносомоза.

Таким образом, опыты показали, что в данной жидкости трипаносомы морфологически не изменяются, сохраняют активную подвижность, а также инфекционность.

Метод прост и может применяться в любой лаборатории.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступило 1.XII 1966 г.

Վ. Բ. ԽԱԶՈՅԱՆ, Ե. Ս. ՆԱԼԲԱՆԴՅԱՆ

ՏՐԻՊԱՆՈՍՈՄՆԵՐԻ ՖԼՈՏԱՑԻԱՆ ԵՎ ԱՆՉԱՏՈՒՄԸ ԱՐՅՍ՝
ՉԵՎԱՎՈՐ ՏԱՐՐԵՐԻՑ

Ա մ փ ն փ ն լ մ

Հողվածում շարադրվում է լաբորատոր մանր կենդանիների արյունից արյան պարազիտների, տրիպանոսոմների անջատման և հարստացման նոր մեթոդը:

Այդ նպատակով օգտագործվել է հատուկ հեղուկ NaCl—1,1 glucosae 1,0, Natr. citricum 1,5 և aq. dest. 100,0, որի մեջ հեշտութվամբ անջատվում և կուտակվում են տրիպանոսոմները:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Хроника ВОЗ, том 20, 3, стр. 87—94, 1966.
2. Париж Б. М., Замберblatt Г. С. Лабораторное дело, стр. 38—41, 1962.
3. Эпштейн Г. В. Патогенные простейшие спирохеты и грибки. Госмедиздат, М., стр. 324, 1931.
4. Wenyon C. M. Protozoology vol 1, New-York, стр. 539—551, 1926.