

FAGOCYTOZA U KLESZCZY *HYALOMMA DROMEDARII* KOCH PO ZAKAŻENIU DO HEMOCELU PAŁECZKĄ *YERSINIA* *ENTEROCOLITICA*

MARIAN MACHEL

Zakład Mikrobiologii, Instytut Patologii, Akademia Medyczna, Gdańsk

Fagocytoza jest jednym z głównych mechanizmów obronnych u stawonogów w przypadku zakażeń wywołanych przez drobnoustroje. Poznanie mechanizmów obronnych zarówno komórkowych, jak i humoralnych, wpływających w decydujący sposób na biologię zakażenia, pozwala na ustalenie potencjalnej roli epidemiologicznej danego gatunku stawonoga. Celem pracy było ustalenie fagocytarnej roli hemocytów w przebiegu bakteryjnego zakażenia kleszczy do jamy ciała.

Material i metoda

Doświadczenia przeprowadzono na laboratoryjnym szczepie kleszczy, których hodowla prowadzona była w temperaturze 28 °C. Dojrzałe kleszcze, kilka dni po linieniu, zakażano do jamy ciała dawką bakterii $x \cdot 10^2$ - $x \cdot 10^3$. Kontrolnej partii kleszczy wstrzykiwano takie same dawki bakterii zabitych formaliną. Kleszcze po zakażeniu nie były karmione i przechowywano je w temperaturze 20° i 28 °C. Liczbę żywych bakterii ustalano metodą płytek agarowych. Równolegle z ustalaniem liczby bakterii pobierano od kleszczy hemolimfę po amputacji odnóży lub aspirującą szklaną kapilarą, po jej wkłuciu do jamy ciała [1]. Z pobranej hemolimfy wykonywano rozmazy, które po utrwaleniu w ciągu 5 min. w absolutnym metanolu barwiono azurem A wg Lilliego lub barwnikiem Giemzy wg Dolpa [2]. Wykonywano również skrawki histologiczne, celem wykluczenia w obrazie mikroskopowym ewentualnej adsorpcji bakterii na powierzchni hemocytów.

Wyniki

Zarówno w temperaturze 20 °C, jak i 28 °C pełna fagocytoza zabitych bakterii następowała w ciągu kilku godzin po ich wstrzyknięciu do jamy ciała kleszczy. W temperaturze 20 °C liczba bakterii wzrastała do 5-7 dnia po zakażeniu (od $x \cdot 10^2$ do $x \cdot 10^7$), a następnie utrzymywała się na niezmiennym poziomie do końca doświadczeń (ryc. 1). Pojedyncze bakterie wewnątrz hemocytów (plazmatocyty, hemocyty sferyczne) stwierdzono po upływie kilku godzin od zakażenia. Liczba hemocytów, wewnątrz których znajdowały się bakterie, jak również ilość bakterii w hemocytach, zwiększały się wraz z upływem czasu. Po 20 godzinach po zakażeniu w preparatach stwierdzano nieliczne hemocyty wolne od bakterii oraz liczne bakterie w osoczu (ryc. 2 — 1,2). W 3-6 dniu liczba bakterii wolnych była znacznie większa, a pojedyncze hemocyty, z bardzo dużą ilością bakterii, znajdowały się w stadium rozpadu (ryc. 2 — 3,4). W 15-20 dniu pojawiają się zwyrodniałe formy hemocytów z dużymi wakuolami wypełnionymi bakteriami (ryc. 2 — 5,6). Pozostałe hemocyty wypełnione były dużą ilością bakterii (ryc. 2 — 7,8). Stwierdzano również nieliczne hemocyty z pojedynczymi bakteriami w protoplazmie. W tym stadium zakażenia zaczynało się wymieranie kleszczy. Nieco inny przebieg miało zakażenie w temperaturze 28 °C. Liczba bakterii wzrastała do 3-6 dnia (od $x \cdot 10^3$ do $x \cdot 10^6$) i następnie systematycznie spadała do wartości $x \cdot 10^4$ w 25 dniu. Na tym poziomie utrzymywała się do końca doświadczeń, tj. około 100 dni (ryc. 1). Bakterie w hemocytach znajdowano już w 10-30 min. po zakażeniu. Do około 10 dnia obraz hemolimfy był podobny do obrazu uzyskanego w temperaturze 20 °C. Następnie liczba hemocytów wolnych od bakterii zwiększała się, a część bakterii w osoczu tworzyła skupiska (10-100 bakterii), które w dalszej fazie (20-30 dzień) ulegały otorbieniu. Stan ten utrzymywał się do końca doświadczeń (około 100 dni). Wymierania kleszczy w temperaturze 28 °C nie stwierdzono.

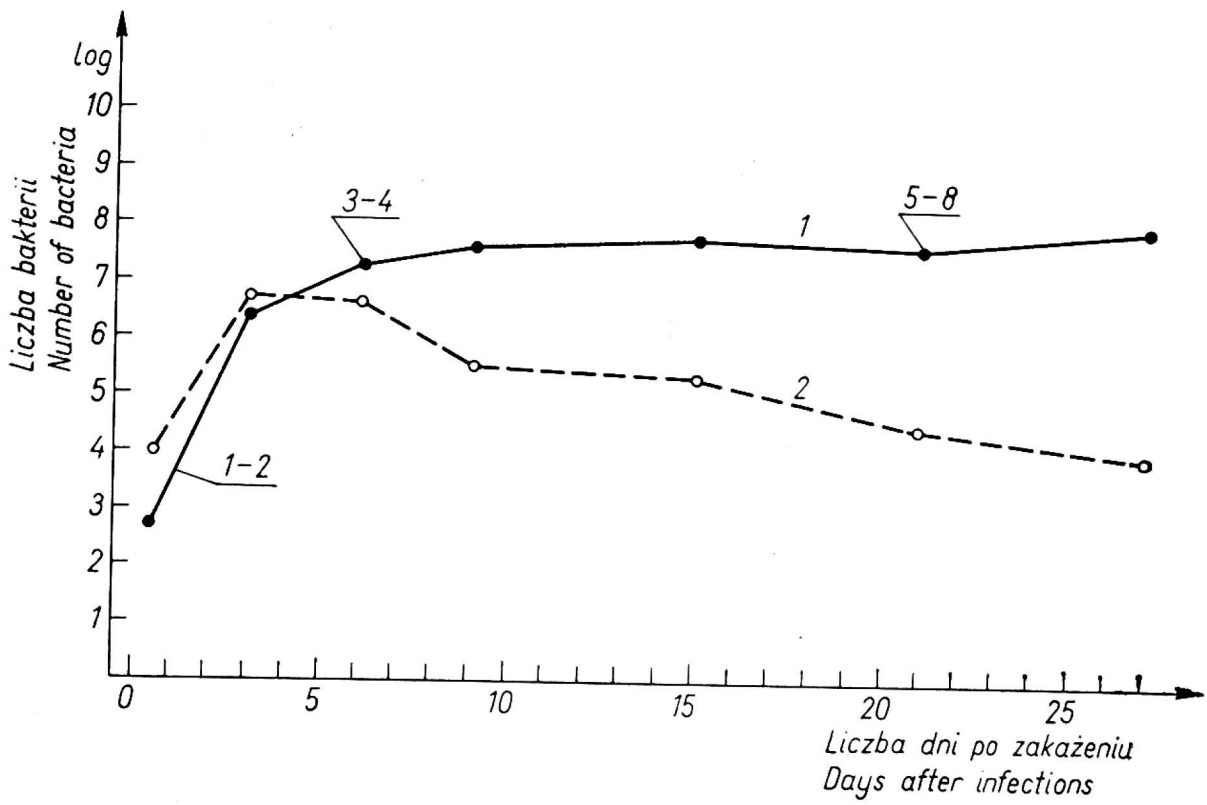
W całym przebiegu zakażenia, zarówno w temperaturze 20 °, jak i w 28 °C, nie stwierdzono nigdy bakterii wewnątrz prohemocytów i oenocytów.

Wnioski

Zarówno wzrost liczby bakterii, jak też aktywność fagocytarna hemocytów uzależniona była od temperatury otoczenia, w której przebywały kleszcze po zakażeniu.

Adres autora:

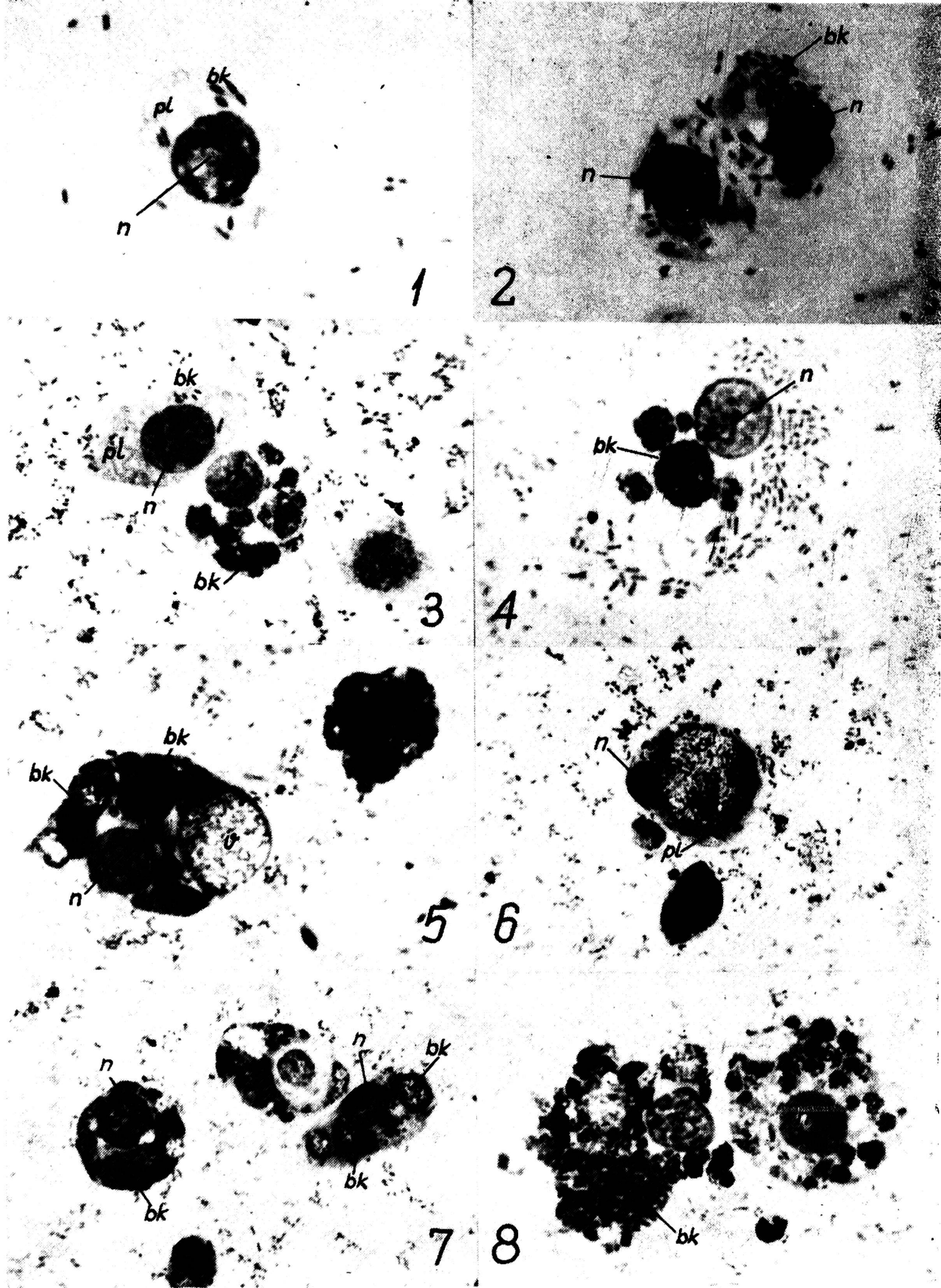
80-227 Gdańsk, ul. Hibnera 38



Ryc. 1. Wzrost liczby bakterii w kleszczach *H. dromedarii* po zakażeniu do hemocelu pałeczką *Y. enterocolitica*

1 — 20 °C, 2 — 28 °C

Fig. 1. The increase of bacteria number in *H. dromedarii* ticks after into hemocelom infection by means of *Y. enterocolitica* rod



Ryc. 2. Obraz hemocytów kleszczy *H. dromedarii* po zakażeniu do hemocelu pałeczką *Y. enterocolitica* w 20°C (rozmaz, barw. azur A, pow. 1000 X). Objaśnienia w tekście

n — jądro, pl — protoplazma, v — wakuola, bk — bakterie

Fig. 2. The picture of *H. dromedarii* tick hemocytes after into hemocelom infection by means of *Y. enterocolitica* rod at 20°C (smear, azur A stain, 1000 X). Explanations in the text.

n — nucleus, pl — protoplasm, v — vacuol, bk — bacteria

LITERATURA

1. Burgdorfer, W.: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 19, 6: 1010-1014, 1970.
2. Dolp, R. M.: *J. Med. Ent.*, 7, 3: 277-288, 1970.
3. Machel, M., Becla, E.: *Z. angew. Zool.*, 57, 3: 257-264, 1970.

PHAGOCYTOSIS IN *HYALOMMA DROMEDARII* KOCH TICKS FOLLOWING
INTRACOELOMATIC INFECTION WITH *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

by

M. MACHEL

Intracoelomatic infection of *H. dromedarii* Koch ticks was carried out with *Y. enterocolitica*. After being infected, the ticks were not fed, and were stored at 20° and 28°C. The total number of bacteria in the ticks was determined, haemolymph stained by Lilli's method was taken, or histologic sections were made.

At 20°C bacteria were found to multiply both in haemocytes and plasma. The haemocytes were destroyed and the ticks perished 20 days after the infection. At 28°C the haemocytes killed the bacteria following phagocytosis and some of the bacteria in the plasma were agglutinated and ensheathed. The ticks did not die as the result of infection. The activity in phagocytosis was displayed by plasmacytes and, to a lesser degree, spherular haemocytes.