

Панова О. А.¹, Гламаздин И. Г.¹, Шибитов С. К.² Способ выделения личинок *Toxocara canis* из паренхимы печени и легких плотоядных животных. // *Российский паразитологический журнал*. – М., 2015. – Вып. 4. – С.

СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ ЛИЧИНОК *TOXOCARA CANIS* ИЗ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ И ЛЕГКИХ ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ

Панова О. А.¹, Гламаздин И. Г.¹, Шибитов С. К.²

¹ Московский государственный университет пищевых производств

125080, Москва, Волоколамское ш., д. 11, e-mail: Glamazdin@yandex.ru

² Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28; Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория

Реферат

Цель исследования – разработать способ выделения личинок *Toxocara canis* из паренхимы печени и легких плотоядных животных для посмертной диагностики токсокароза при слабой инвазии и в период препатентной стадии.

Материалы и методы. Дан перечень оборудования, реактивов и растворов для выделения личинок *T. canis*. Описан ход работы, который состоит из подготовки проб ткани печени и легких, приготовления искусственного желудочного сока, переваривания проб тканей, оценки результатов, концентрации личинок *T. canis*. Для исследований берут пробы паренхимы легких или печени массой 50 г, измельчают на мясорубке. Пробы переваривают в течение 50 мин при температуре 41–42 °С при постоянном перемешивании. После 10-минутного отстаивания осадок сливают в чашки Петри и исследуют на наличие личинок *T. canis* и их подвижность. Для концентрации материала осадок центрифугируют 10 мин при 5000 об./мин.

Результаты и обсуждение. Способ выделения мигрирующих личинок токсокар разработан для посмертной диагностики токсокароза при слабой инвазии и, когда в кишечнике еще нет половозрелых гельминтов, для изучения патогенеза данного паразитоза. Полученную культуру личинок *T. canis* можно использовать для изучения патогенеза болезни, проведения генетических исследований и получения белков с диагностическими и протективными свойствами.

Ключевые слова: личинки, *Toxocara canis*, печень, легкие, плотоядные, переваривание, диагностика.

Введение

Токсокароз – инвазионная зоонозная болезнь, имеющая важное эпидемиологическое и большое социальное значение, возбудителем которого является нематода семейства Anisakidae, рода *Toxocara*, вид *Toxocara canis* (Werner, 1782) – паразит псовых.

Пути миграции паразита зависят от возраста и вида хозяина. Наиболее интенсивно заражаются молодые собаки, а щенки от рождения до 30 сут заражены токсокарами на 90–100 %. Большинство личинок, вышедшие из яиц в пищеварительном тракте, совершают гепато-пульмональную миграцию и достигают половозрелой стадии в кишечнике. Впоследствии начинается выделение яиц токсокар во внешнюю среду. Одна самка токсокары способна выделить 200 000 яиц в сутки с фекалиями, поэтому контаминация окружающей среды повышается очень быстро. У собак старше года личинки обычно накапливаются в соматических тканях и остаются жизнеспособными в течение 2–3 лет [4]. В период

беременности и повышения гормонального фона при лактации личинки могут проявить свою активность и продолжить миграцию и при этом часто попадают в органы и ткани плода. Высокий процент зараженности собак токсокарами является следствием пожизненного бессимптомного паразитирования личинок [3].

До сих пор недостаточно изучены особенности патогенеза, эпизоотологии, патоморфологии тканей при ларвальном токсокарозе, продолжительность сохранения инвазионных свойств личинок у взрослых плотоядных [2]. Мигрирующие личинки токсокар могут вызывать различные патологические реакции в тот период, когда их диагностика затруднена [1].

Данные о выделении личинок токсокар II стадии из органов щенят методом переваривания в литературе отсутствуют, поэтому целью нашей работы была разработка способа выделения личинок *T. canis* из паренхимы печени и легких плотоядных животных.

Материалы и методы

Оборудование: аппарат «Gastros» для выделения личинок трихинелл (производство ПетроЛазер, г. Санкт-Петербург); лупа лабораторная (ГОСТ 25706-83 «Лупы. Типы, основные параметры. Общие технические требования»); микроскоп биологический (МБИ) (ГОСТ 28489-90 «Микроскопы световые»); мясорубка бытовая (с диаметром решетки 3–4 мм) (ГОСТ 4025 «Мясорубки бытовые. Технические условия»); весы лабораторные общего назначения CAS MWP-1500, 2-го класса точности (ГОСТ 24104-2001 «Весы лабораторные. Общие технические требования»); центрифуга лабораторная (5 тыс. об./мин) (ГОСТ 15150-69 «Машины, приборы и другие технические изделия»); чашки Петри (ГОСТ 19908-90 «Тигли, чаши, стаканы, колбы, воронки, пробирки и наконечники из прозрачного кварцевого стекла»); ножницы.

Растворы и реактивы: вода водопроводная (ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством»); кислота соляная концентрированная (уд. масса 1,2) (ГОСТ 3118-77 «Реактивы. Кислота соляная. Технические условия»); пепсин пищевой свиной (ТУ 9219-564-00419779-2000).

Ход работы:

1. Пробу массой 50,0 г (паренхима легких или печени) тщательно измельчали в мясорубке с диаметром решеток 3–4 мм.

2. Для проведения исследования использовали ИЖС, приготовленный по следующей прописи: вода водопроводная – 1000 см³ (температура 41–42 °С); кислота соляная концентрированная (удельная масса 1,2) – 11 см³; пепсин пищевой свиной – 7,0 г.

3. ИЖС заливали в реактор, после прогрева в него помещали стакан с фаршем и аппарат устанавливали в режим работы: переваривание – 60 мин при 41–42 °С, время отстаивания пробы 10 мин при автоматическом перемешивании пробы и поддержании выбранной температуры. После отстаивания из реактора осадок сливали в объеме 15–20 см³.

4. Осадок исследовали в чашке Петри под лупой для определения наличия личинок (при переваривании свежего материала личинки сохраняют свою подвижность). Для концентрации полученного материала осадок центрифугировали при 5000 об./мин 10 мин. После этого из пробирки удаляли 10,0 мл верхнего слоя жидкости, а осадок использовали для дальнейших исследований.

Результаты и обсуждение

Разработанный способ выделения мигрирующих личинок токсокар можно применять для посмертной диагностики данной болезни при слабой инвазии и, когда в кишечнике еще нет половозрелых гельминтов, для изучения патогенеза данного паразитоза. С другой стороны, можно получать чистую культуру личинок, что может служить материалом для дальнейших генетических исследований, а также для получения белков с хорошими диагностическими или протективными свойствами. Результаты проведенных исследований позволяют разрабатывать и совершенствовать методы диагностики токсокароза плотоядных на стадии миграции паразитов.

Литература

1. Гламаздин И. Г., Петрушина С. В., Хисамов И.Р. Токсокароз собак, диагностика и методы эпизоотического надзора // *Вет. врач.* – 2007. – № 3. – С. 28–31.
2. Замазий Т. Н., Здор О. А. Особенности эпидемиологии и клинического течения токсокароза в современных условиях // *Международ. мед. журнал.* – 2005. – № 1. – С. 133–135.
3. Солопов П. А. Иммуноферментный метод диагностики токсокароза собак, сероэпизоотологический мониторинг и терапия: дис. ... канд. вет. наук. – Рязань, 2009. – 114 с.
4. Тумольская Н. И., Сергиев В. П., Лебедева М. Н. и др. Токсокароз. Клиника. Диагностика. Лечение. Профилактика. – Новосибирск, 2004. – 48 с.

References

1. *Glamazdin I.G., Petrushina S.V., Hisamov I.R.* Toksokaroz sobak, diagnostika i metody jepizooticheskogo nadzora // *Vet. vrach.* – 2007. - № 3. – S. 28-31.
2. *Zamazij T.N., Zdor O.A.* Osobennosti jepidemiologii i klinicheskogo techenija toksokaroza v sovremennykh usloviyakh // *Mezhdunar. med. zhurnal.* 2005. – № 1. – S. 133-135.
3. *Solopov P.A.* Immunofermentnyj metod diagnostiki toksokaroza sobak, serojepizootologicheskij monitoring i terapija: Dis. ... kand. vet. nauk. - Rjazan', 2009. – 114 s.
4. *Tumol'skaja N.I., Sergiev V.P., Lebedeva M.N. i dr.* Toksokaroz. Klinika. Diagnostika. Lechenie. Profilaktika. – Novosibirsk, 2004. – 48 s.

Russian Journal of Parasitology

Article history:

UDK 619:616.995.132:1-07

DOI:

Received 01.08.2015

Accepted 24.11.2015

*Panova O.A.¹, Glamazdin I.G.¹, Shibitov S.K.² Method for releasing of larvae *Toxocara canis* from liver and lung parenchyma of carnivores, Russian Journal of Parasitology, 2015, V. 4 , P. .*

METHOD FOR RELEASING OF LARVAE TOXOCARA CANIS FROM LIVER AND LUNG PARENCHYMA OF CARNIVORES

Panova O.A.¹, Glamazdin I.G.¹, Shibitov S.K.²

¹Moscow State University of Food Production, 125080 Moscow, 11 Volokolamskoye shossee, e-mail: Glamazdin@yandex.ru

²All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya St., Central Scientific and Methodical Veterinary Laboratory

Abstract

A method for releasing of larvae *Toxocara canis* from liver and lung parenchyma of carnivores for post-mortem diagnostics of toxocarosis under light invasion and in prepatent period has been suggested.

The received culture of larvae *T. Canis* can be used to study disease pathogenesis, conduct genetic research and obtain proteins with diagnostic and protecting properties.

A list of equipment, reagents and solutions for releasing of larvae *T. canis* is presented.

Course of work including preparation of liver and lungs samples, gastric juice, digestion of tissue samples, results estimation, concentration of larvae *T. canis* has been described. Samples of liver and lung parenchyma of mass 50 g are being obtained and grinded in a meat mincer. Samples are being digested within 50 min under the temperature 41-42 °C by permanent stirring.

After 10 minutes of settling the sediment is being poured into Petri dishes and investigated for presence of larvae *T. canis* and their mobility. For material concentration the sediment is being centrifuged 10 min at 5000 rpm.

Keywords: larvae , *Toxocara canis*, liver, lungs, carnivores, digestion, diagnostics.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)