

03.02.00 – ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 619:616.995.1

К ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТРИХИНЕЛЛЕЗА ПРОМЫСЛОВЫХ ЖИВОТНЫХ

© 2017

Андреянов Олег Николаевич, доктор ветеринарных наук,
старший научный сотрудник лаборатории паразитарных зоонозов
*Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии
животных и растений имени К.И. Скрябина (г. Москва, Российская Федерация)*

Аннотация. Известна автоматизированная диагностика трихинеллеза свинины на крупных мясоперерабатывающих предприятиях. В данной статье рассматривается возможность использование автоматизированного метода диагностики возбудителя трихинеллеза *Trichinella* spp. у диких промысловых животных. В процессе исследуемого мониторинга на трихинеллез в Центральном регионе России были отобраны естественно инвазированные туши животных. Зараженных животных хранили при отрицательной температуре (-5°C) в климатической камере до проведения исследований. На аппаратах типа АВТ проведены диагностические исследования на трихинеллез различных видов проб мышечной ткани промысловых животных (диафрагма, массетер, мышцы конечностей, язык). В исследованиях использовались замороженные, а затем охлажденные пробы мышц. При исследовании туш готовили навеску массой $50 \pm 0,5$ г. Для получения качественного мясного фарша из мышечной ткани удаляли жир и соединительную ткань. Для искусственного пептолиза использовался пепсин производства фирмы ООО «Шако» Ростовской области. Диагностические пробы мышечной ткани кабанов, лисиц, куниц увеличивали массу навески в период времени до 40 минут, волков до 50 минут и енотовидных собак до 60 минут. Далее происходило ферментирование ткани и снижение массы навески исследуемых проб. Отработан оптимальный период времени для трихинеллоскопического контроля проб мышечной ткани диких животных автоматизированным методом на аппаратах типа АВТ.

Ключевые слова: аппараты типа АВТ; период ферментирования; интенсивность переваривания; искусственный желудочный сок; диагностика; диафрагма; мышечная ткань; пробы; пепсин; промысловые дикие животные; соляная кислота; трихинеллоскопия; Центральный регион России; возбудитель *Trichinella* spp.

Введение

В последнее время наблюдается усиление эпидемической напряженности по гельминтозоонозам на территории России, включая страны СНГ. Данные, полученные в результате анализа эпизоотической и эпидемиологической ситуации, свидетельствуют о повышении роли диких промысловых и экзотических животных в распространении таких зоонозов, как трихинеллез, спарганоз, парагонимоз, аляриоз и другие [1–4].

Трихинеллез в некоторых регионах оценивается как природно-очаговая инвазия, что связано в основном с употреблением населением мяса диких животных, добытых на охотах, экзотических блюд из барсучатины, волчатины и других. В соответствии с СанПиНом «Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации» (Москва, 2003) выявление личинок трихинелл в мышечной ткани животных проводится методами компрессорной трихинеллоскопии и переваривания мышечной ткани в искусственном желудочном соке. Низкая производительность, невысокая эффективность диагностики, утомляемость исследователей при компрессорной диагностике являются основанием для поиска новых, более эффективных методов контроля на трихинеллез. В настоящее время высокопроизводительным методом диагностики трихинеллеза является искусственное переваривание в желудочном соке, с использованием аппаратов типа АВТ [5–7]. Ме-

тод искусственного пептолиза основан на растворении в искусственном желудочном соке мышечной ткани и обнаружении в осадке личинок трихинелл. Его проведение регламентировано «Методикой лабораторной диагностики трихинеллеза», утвержденной Главным управлением ветеринарии Госагропрома СССР 16.10.86 г. Современные аппараты для выделения личинок трихинелл («Гельми», «Гастрос», «Рубикон») используются в ветеринарных лабораториях мясокомбинатов и рынках. Время диагностирования в приборах сокращено до 35 минут.

Цель исследований – отработать и рекомендовать ветеринарным врачам-диагностам оптимальные интервалы времени искусственного переваривания на аппаратах АВТ мышечных проб от охотничье-промысловых животных для диагностики трихинеллеза.

Материалы и методы

В процессе исследуемого мониторинга на трихинеллез в Центральном регионе России были отобраны естественно инвазированные туши животных. Зараженных животных хранили при отрицательной температуре (-5°C) в климатической камере до проведения детальных исследований. Для приготовления мясного фарша из тушек использовали диафрагму, массетер, мышцы сгибателей и разгибателей конечностей, язык. В исследованиях использовались замороженные, а затем охлажденные пробы мышц. Для получения качественного мясного фарша из

мышечной ткани удаляли жир и соединительную ткань. В исследовательской работе использовались автоматизированные диагностические аппараты по выделению личинок трихинелл типа АВТ – «Рубикон» и «Гельми». На указанных приборах проведены трихинеллоскопические исследования различных видов проб мышечной ткани охотничье-промысловых животных. При исследовании туши из регламентированных групп мышц брали по 10–14 г мышечной ткани и формировали групповую пробу массой $50 \pm 0,5$ г, в которой полностью отсутствовали фасции, кости, жир и сухожилия. Пробы мышц пропускали через мясорубку с диаметром отверстий на выходе 4 мм. Периоды работы приборов задавались в ручном режиме с интервалом в 10 минут. Для получения более чистого осадка из мышц на мешалки крепили с помощью вязальной проволоки $d=1,5$ мм мешочки из мельничного газа, куда помещалась навеска мясного фарша. В опытах по проведению искусственного пептолиза использовался отечественный пепсин производством фирмы ООО «Шако» Ростовской области [8]. Навеска фермента для приготовления искусственного желудочного сока составляла 3 г на 1 л водопроводной воды. Соляной кислоты в составе желудочного сока было 10 мл. Температура переваривающего сока соответствовала $41-42^{\circ}\text{C}$ [5; 7–9]. Реакторы заправляли свежеприготовленным искусственным соком. Для пептолиза 50 г мясного фарша каждый раз готовили 1 л желудочного сока по прописи. Личинки трихинелл появлялись в осадке достаточно быстро, активно двигаясь, сгибаясь и разгибаясь. Погибшие личинки раскручивались и принимали серповидную форму. За учетный период автоматизированного переваривания должно было подвергнуться искусственному пептолизу от 40 до 70% мышечной массы исследуемой пробы. По окончании заданного цикла пептолиза (каждые 10 минут) 5 мл осадка сливали, отстаивали, микроскопировали, проводили подсчет личинок. Учет результатов проводили по отобраным пробам мышц из тушек кабанов, волков, лисиц, енотовидных собак и куниц. Оптимально рекомендуемый период пере-

варивания мышечных проб основывался на интенсивности выделения личинок трихинелл из мышечного фарша за определенный период времени и переваривания 40–50% объема массы мышечной пробы.

Результаты исследований и обсуждения

Для мышечных проб, отобранных от диких промысловых животных, при диагностике на трихинеллез характерно высыхание, так как поблизости, как правило, не бывает ветеринарных пунктов с диагностической лабораторией и после разделки и заготовки трофеев в охотничьих угодьях тратится значительное время на доставку их на стол ветеринарно-санитарным экспертам.

Судя по полученным в результате опытов графикам (рис. 1–6), пробы исследуемых мышц вначале насыщаются искусственным желудочным соком, помещенным в контейнеры аппаратов. В это время происходит увеличение навески мышечной ткани (см. верхний красный график). В мышечных пробах от кабанов, лисиц, куниц увеличение массы навески происходило до 40 минут, от волков до 50 минут и от енотовидных собак до 60 минут. Далее происходило быстрое ферментирование ткани и снижение массы навески исследуемых проб. В контроле же, представленном мышечной тканью экспериментально инвазированных крыс возбудителем *T. spiralis* (лабораторный изолят), насыщение мышечной пробы не происходило, а переваривание мышц в искусственном желудочном соке начиналось сразу. Во время измерения опытных навесок мышечных проб от диких животных было отмечено, что личинки трихинелл интенсивно выделялись при наибольшем насыщении навески искусственным соком и чуть позже. Видимо, трихинеллы после активации могли свободно выходить в переваривающий осадок после увеличения массы диагностической пробы. Полученные данные по искусственному пептолизу в аппаратах типа АВТ согласуются с данными Л.А. Гребенкиной (2008), которая одна из первых апробировала перевариваемость мышечных тканей от кабанов, мышей, медведей, лисиц, волков и енотовидных собак [10].

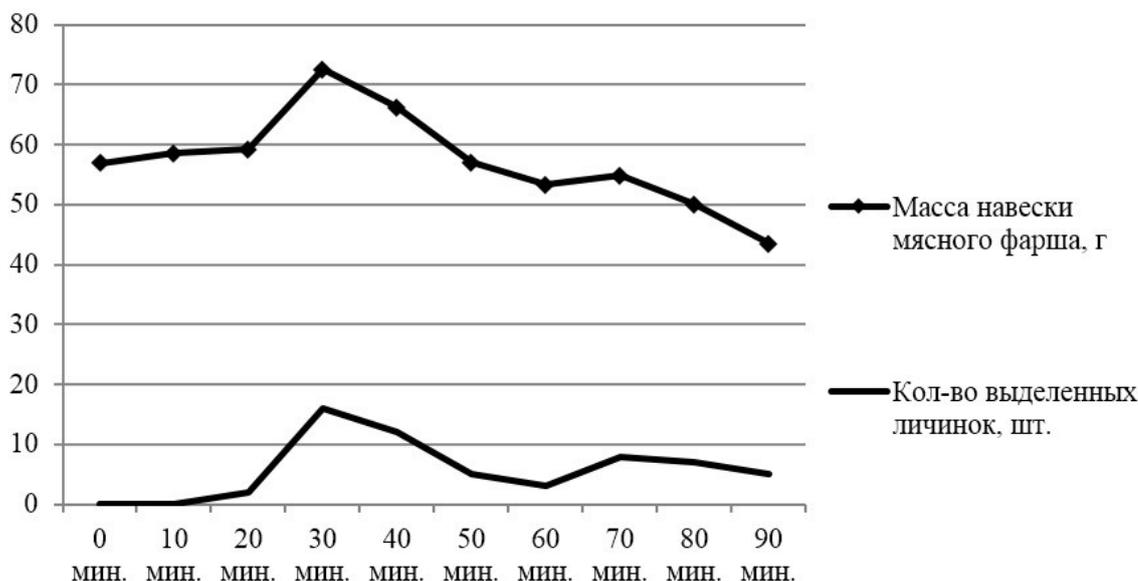


Рисунок 1 – Динамика изменения навески фарша (ножки диафрагмы, диафрагма) и интенсивность выделения личинок капсулообразующих трихинелл из мышечной ткани естественно инвазированной тушки кабана. Интенсивность инвазии (ИИ) = 12 лич./г диафрагмы

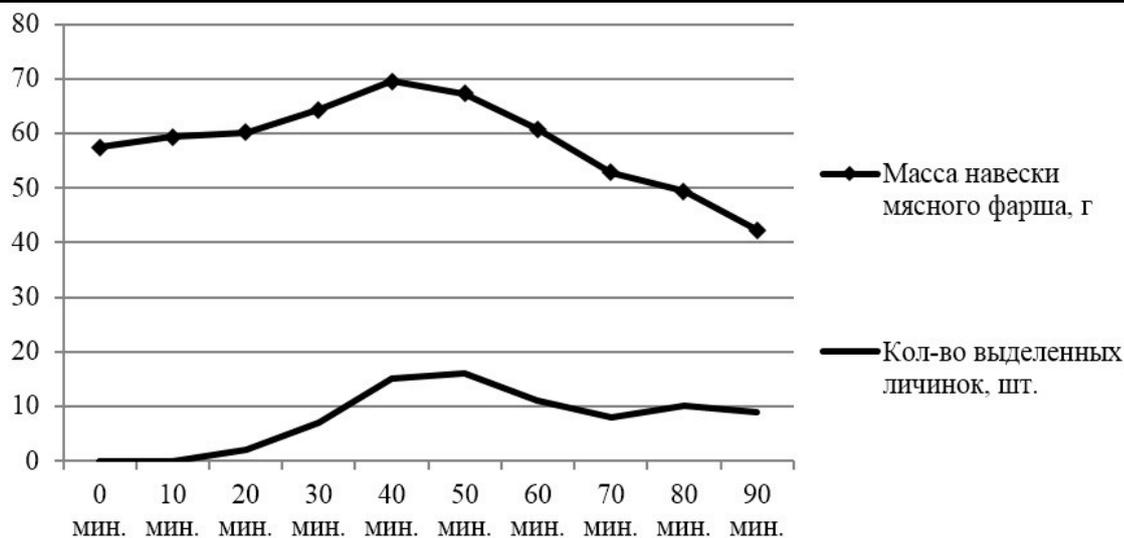


Рисунок 2 – Динамика изменения навески фарша (диафрагма, мышцы передней и задней конечностей) и интенсивность выделения личинок капсулообразующих трихинелл из мышечной ткани естественно инвазированных тушек волков. ИИ = 19 и 27 лич./г диафрагмы (результаты двух опытов)

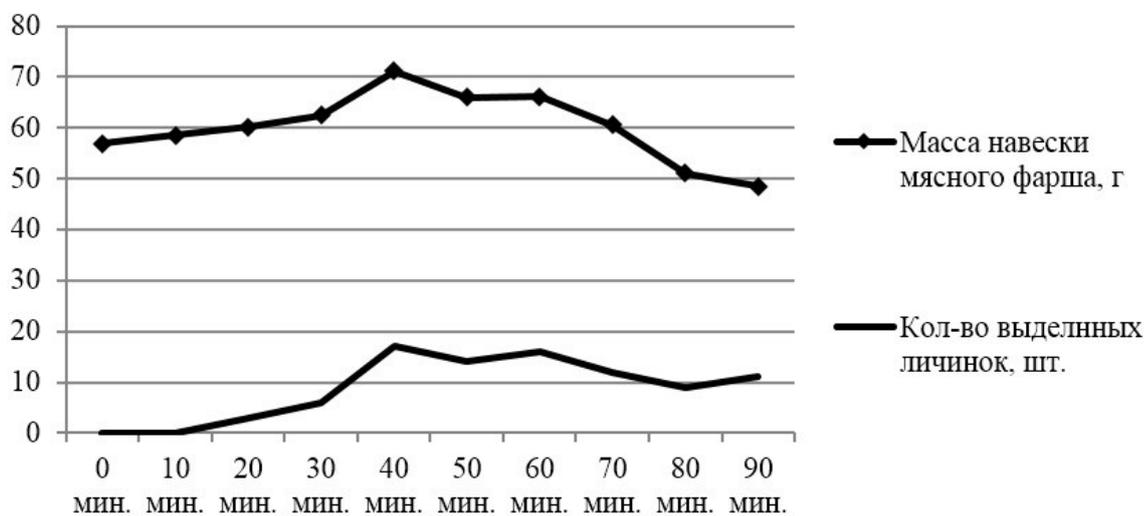


Рисунок 3 – Динамика изменения навески фарша (диафрагма, мышцы передней и задней конечностей) и интенсивность выделения личинок капсулообразующих трихинелл из мышечной ткани естественно инвазированных тушек обыкновенных лисиц. ИИ = 20, 24, 26, 21 лич./г диафрагмы (результаты 4 опытов)

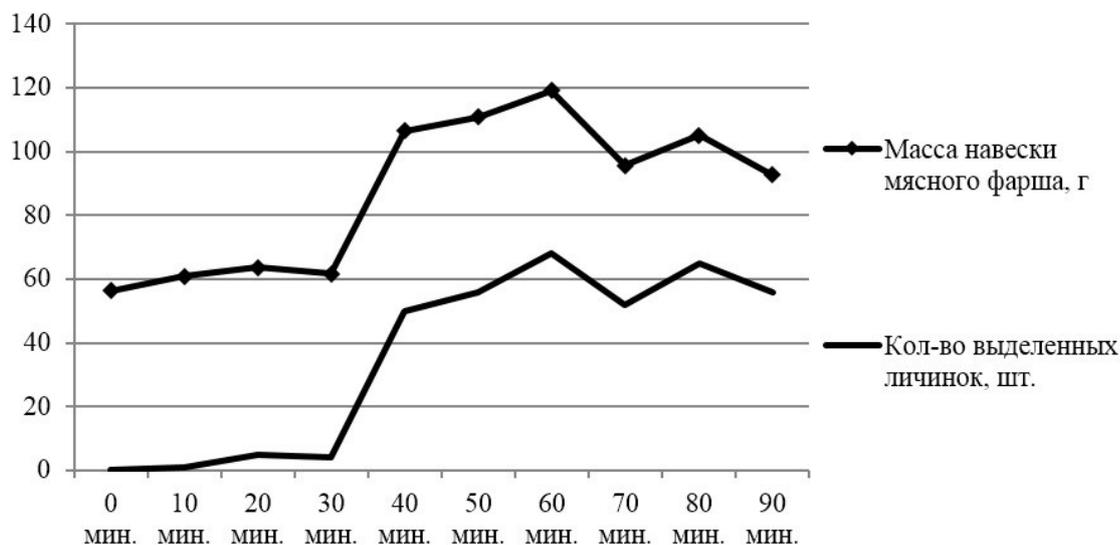


Рисунок 4 – Динамика изменения навески фарша (диафрагма, мышцы передней и задней конечностей) и интенсивность выделения личинок капсулообразующих трихинелл из мышечной ткани естественно инвазированных тушек енотовидных собак. ИИ = 54, 63 лич./г диафрагмы (результаты 2 опытов)

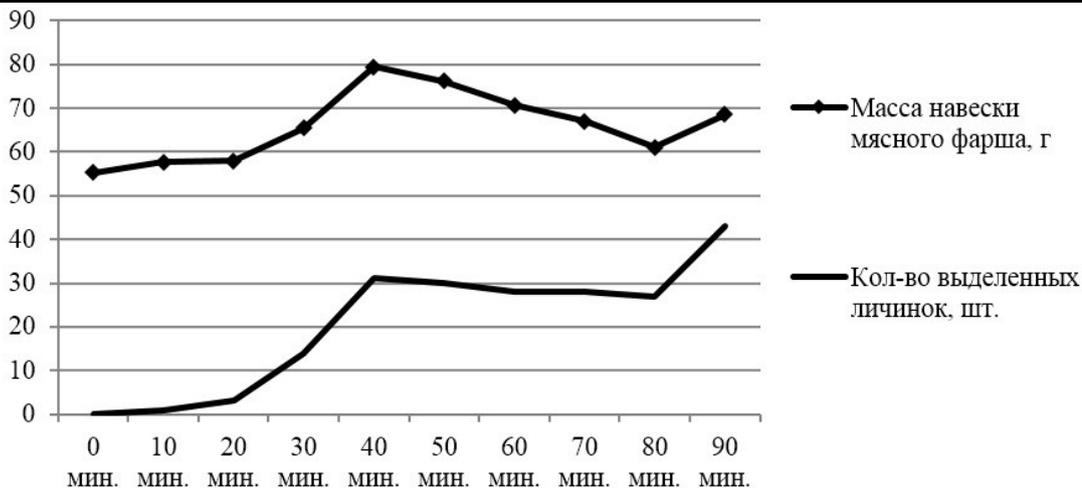


Рисунок 5 – Динамика изменения навески фарша (диафрагма, язык, мышцы шеи, передней и задней конечностей) и интенсивность выделения личинок капсулообразующих трихинелл из мышечной ткани естественно инвазированных тушек куниц. ИИ = 52, 63, 49 лич./г диафрагмы (результаты 3 опытов)

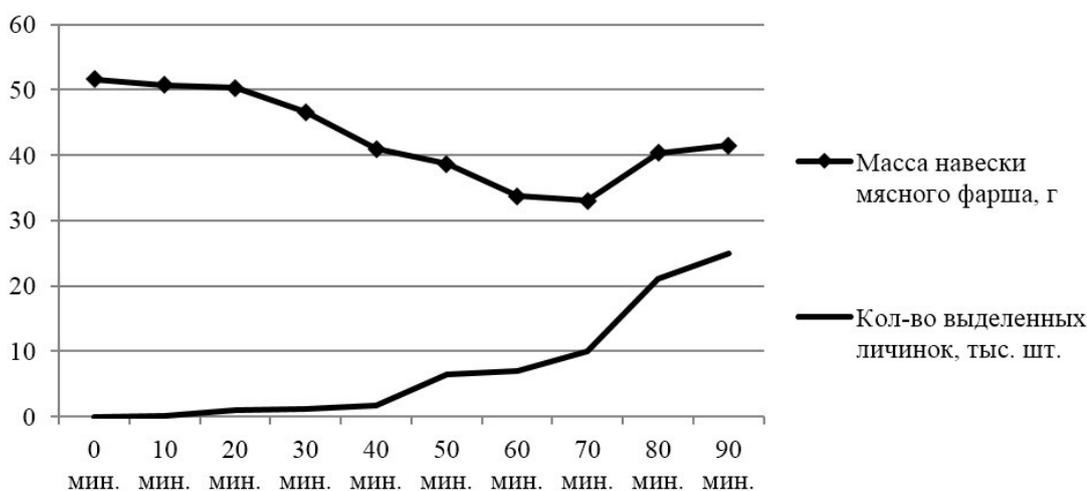


Рисунок 6 – Динамика изменения навески фарша (мышцы головы, шеи, межреберные, мышцы передней и задней конечностей) и интенсивность выделения личинок *T. spiralis* трихинелл (лабораторный изолят) из мышечной ткани тушки лабораторной крысы (ИИ = 138 лич./г диафрагмы)

Таким образом, в результате серии поставленных опытов отработан оптимальный период времени для трихинеллоскопического контроля проб мышечной ткани от диких животных автоматизированным методом на аппаратах типа АВТ. Рекомендуемые режимы работы приборов при диагностике мышц промысловых животных на трихинеллез представлены в табл. 1. С учетом вышеизложенного, актуальным является дальнейшее изучение метода автоматизиро-

ванной диагностики инвазированных тушек промысловых млекопитающих личинками других нематод, спарганусами, мезоцеркариями трематоды *Alaria alata* на территории Центральной России, так как дикие животные, особенно кабаны, животные семейства куньих [1–4; 12], являются объектами спортивно-промысловой охоты и зараженное мясо может представлять потенциальную угрозу для здоровья человека.

Таблица 1 – Оптимальные режимы работы аппаратов типа АВТ при диагностике мышечной ткани промысловых животных на трихинеллез

Вид животных исследуемых образцов мышечной ткани	Рекомендуемое время экспозиции навески фарша в аппарате типа АВТ (мин.)
Кабан	40–50
Волк	50–60
Лисица обыкновенная	40–50
Енотовидная собака	60–70
Куница	40–50
Крыса лабораторная (экспериментальное заражение)	–

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Малышева Н.С., Самофалова Н.А., Власов Е.А., Вагин Н.А., Елизаров А.С., Борзосеков А.Н., Гладких К.А. К вопросу об актуальности изучения аляриоза (мезоцеркариоза) на территории Курской области // Ученые записки: электронный научный журнал Самарский научный вестник. 2017. Т. 6, № 2 (19) Курского государственного университета. 2013. № 3 (27). Т. 1. 5 с.
 2. Кротенков В.П., Буренков С.Н. Мониторинг паразитарных заболеваний кабана в охотничьих хозяйствах Смоленской области // Теория и практика

борьбы с паразитарными болезнями: матер. науч. конф. ВОГ РАН. М., 2013. Вып. 14. С. 182–185.

3. Андреянов О.Н., Успенский А.В., Горохов В.В., Хрусталева А.В., Бундина Л.А. Гельминтозоозы промысловых плотоядных животных Центрального региона России // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: матер. науч. конф. ВОГ РАН. М., 2016. Вып. 17. С. 25–26.

4. Малышева Н.С., Самофалова Н.А., Вагин Н.А. и др. Особенности циркуляции возбудителей зоонозов на территории Курской области и риск заражения ими человека // Уч. зап. Электр. науч. журнал Курского гос. ун-та. № 3 (23). Курск, 2012. 5 с.

5. Успенский А.В., Скворцова Ф.К. Метод ветеринарно-санитарной экспертизы мяса промысловых животных при паразитарных зоонозах // Российский паразитологический журнал. 2014. № 3. С. 151–156.

6. Борисенко Н.Е., Кронева О.В. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов убоя при выявленных инвазионных болезнях животных // Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов вынужденного убоя животных, при выявлении болезней и при изменениях, возникающих в процессе хранения мяса. Барнаул, 2006. С. 114–139.

7. Скворцова Ф.К., Успенский А.В. Диагностическая эффективность АВТ-Л6 для выявления бескап-

сульных личинок трихинелл // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: мат-лы докл. научн. конф. М., 2006. С. 375–378.

8. Андреянов О.Н. Современные пепсины в диагностике трихинеллеза // Новые методы экспресс-диагностики микроорганизмов в медицине, фармации, ветеринарии и экологии: мат-лы всерос. науч.-практ. конф. 2015. С. 22–26.

9. Успенский А.В., Бессонов А.С., Шеховцев Н.В., Гребенкин С.А. Методические рекомендации по применению аппаратов для выделения личинок при ветеринарно-санитарной экспертизе туш и мясопродуктов // Тр. Всероссийского ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина. М., 2005. Т. 41. С. 447–452.

10. Гребенкина Л.А. Усовершенствование метода пептолиза с целью повышения эффективности трихинеллоскопического контроля // Российский паразитологический журнал. 2008. № 4. С. 57–59.

11. Гребенкина Л.А. Послеубойная диагностика трихинеллеза животных: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 20 с.

12. Андреянов О.Н., Скворцова Ф.К. К дифференциальной диагностике возбудителя трихинеллеза // Ветеринария: научно-производственный журнал. 2013. № 8. С. 32–36.

LABORATORY DIAGNOSIS OF TRADE ANIMALS' TRICHINOSIS

© 2017

Andreyanov Oleg Nikolayevich, doctor of veterinary sciences, senior researcher of Parasitic Zoonosis Laboratory
*All-Russian Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of animals and plants
named after K.I. Scriabin (Moscow, Russian Federation)*

Abstract. In this paper the author considers the possibility of using an automated method of diagnostics of the causative agent of trichinosis *Trichinella* spp. at wild trade animals. In the course of trichinosis monitoring in the Central region of Russia naturally infested carcasses of animals were selected. The infected animals were stored at a low (-5°C) temperature in the climatic camera before carrying out researches. With the help of AVT devices diagnostic tests on trichinosis of different types of trade animals' muscular tissue samples (diaphragm, masseter, extremities muscles, tongue) were conducted. During the research refrigerated and later cooled muscles samples were used. Samples weighing 50±0,5 g. were used for the research. To get qualitative mincemeat fat and connective tissue were removed from muscular tissue. Pepsin produced by «Shako» (Rostov region) was used for an artificial peptoliz. Diagnostic samples of boars, foxes, martens increased the weighing mass to 40 minutes, of wolves to 50 minutes and of raccoon dogs to 60 minutes. Further tissue was fermented and weighing mass of the researched samples was decreased. The optimal period of time was found for trichinellascopy test of wild animals' muscular tissue by the automated method on AVT devices.

Keywords: AVT devices; period; digestion intensity; artificial gastric juice; diagnostics; diaphragm; muscular tissue; tests; pepsin; trade wild animals; hydrochloric acid; trichinellascopy; Central Region of Russia; *Trichinella* spp. activator.

УДК 578

ДИНАМИКА ЗАРАЖЕННОСТИ КЛЕЩЕЙ ВИРУСОМ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В НЕКОТОРЫХ РАЙОНАХ КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2017

Бессолицына Екатерина Андреевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии
Ноздрина Елена Васильевна, студент института биологии и биотехнологии
Волков Станислав Александрович, аспирант кафедры микробиологии
Вятский государственный университет (г. Киров, Российская Федерация)

Аннотация. В данном исследовании изучалась динамика зараженности вирусом клещевого энцефалита (европейской и сибирской изоформ) популяции клещей, собранных в период с 2007 по 2016 гг. с растительного покрова, домашних животных и одежды человека в городе Кирове, Кирово-Чепецком, Оричевском, Зуевском, Слободском и Тужинском районах Кировской области. Все собранные образцы проанализированы на наличие в них РНК-вируса клещевого энцефалита. Изоформы вируса выявлялись методом обратной тран-