

УДК 619:616.995.132

<https://doi.org/10.31016/978-5-6050437-8-2.2024.25.41-45>

ПЕРВИЧНЫЙ ЭТАП ПОЛУЧЕНИЯ АНТИГЕНА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТОКСОКАРОЗА

Андрянов О. Н.¹,

доктор ветеринарных наук,

ведущий научный сотрудник лаборатории паразитарных зоонозов,

1980oleg@mail.ru

Успенский А. В.¹,

доктор ветеринарных наук, профессор,

член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией паразитарных зоонозов,

a.v.uspensky@yandex.ru

Постевой А. Н.¹,

кандидат ветеринарных наук,

научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и санитарной паразитологии,

apostevoy81@mail.ru

Аннотация

В статье описывается метод выделения личинок токсокар *Toxocara canis* из яйцевых оболочек. Личинки нематод могут служить специфическим антигеном в диагностике серологическими реакциями. Материалом для исследования служили культуры яиц токсокар, полученные из гонад самок нематод. Яйца токсокар хранили в 4,0%-ном растворе формалина или в 1,0%-ном растворе соляной кислоты. Половозрелых самок токсокар получали выделением гельминтов из кишечника тушек естественно зараженных плотоядных животных. Для искусственного выделения личинок токсокар из яиц применяли метод кратковременного инкубирования их в желчи жвачных животных. Культуру яиц нематод устанавливали на магнитной мешалке с подогревом. В пробу помещали магнит в пластике размером 1,5–3,5 см и включали подогрев до температуры 38 ± 1 °С. После 30 минутной экспозиции личинок отмывали в физиологическом растворе. Для удобства, их можно поместить в аппарат Бермана при температуре 38 ± 1 °С. Свежеполученный и хранившийся в течение 3-х месяцев материалы показали высокий процент выхода ли-

¹ 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» (117218, Россия, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28)

чинок из яиц. Хранившийся материал в течение 1-го года показал несколько худший результат.

Ключевые слова: желчь, личинки, яйца, *Toxocara canis*

PRIMARY STAGE OF TOXOCARA ANTIGEN PRODUCTION

Andreyanov O. N.¹,

Doctor of Veterinary Sciences,
Leading Researcher of the Laboratory of Parasitic Zoonosis,
1980oleg@mail.ru

Uspensky A. V.¹,

Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian
Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Parasitic Zoonosis,
a.v.uspensky@yandex.ru

Postevoy A. N.¹,

Candidate of Veterinary Sciences, Associate Researcher Laboratory
of Epizootology and Sanitary Parasitology,
apostevoy81@mail.ru

Abstract

The article describes a method for isolating *Toxocara canis* larvae from chorions. Nematode larvae can serve as a specific antigen in the diagnosis with serological reactions. The study material was cultures of *Toxocara* eggs obtained from female nematode gonads. *Toxocara* eggs were stored in a 4.0% formalin solution or a 1.0% hydrochloric acid solution. Sexually mature female *Toxocara* species were obtained by isolating helminths from the intestines of carcasses of naturally infected carnivores. For artificial isolation of *Toxocara* larvae from eggs, a method of their short-term incubation in the bile of ruminants was used. The nematode egg culture was put on a heated magnetic stirrer. A magnet in plastic of 1.5–3.5 cm was placed in a sample, and heating to 38 ± 1 °C was turned on. After 30-minute exposure, the larvae were washed in the saline. For convenience, they may be placed in a Berman device at 38 ± 1 °C. The materials freshly obtained and stored for 3 months showed a high percentage of larval yield from eggs. The stored material showed a rather worse result for the 1st year.

Keywords: bile, larvae, eggs, *Toxocara canis*

¹ All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV" (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia)

Введение. Последние годы, в связи с ростом численности домашних питомцев, их безнадзорным содержанием, доступностью к разным объектам и массивным загрязнением внешней среды фекалиями, токсокароз стал серьезной медико-социальной проблемой для многих стран мира. Высока загрязненность почвы, игровых площадок в детских дошкольных учреждениях, парках, дворах, пищевой зелени, овощей, ягод и грибов яйцами токсокар [2, 4, 5]. При обследовании населения на токсокароз в возрастной группе от 4 до 10 лет экстенсивность (ЭИ) детей достигает 10,1% [1, 2]. С медицинской точки зрения, токсокароз (В83.0 по МКБ-10) – зоонозный тканевой гельминтоз с геооральным механизмом инфицирования, вызываемый миграцией личинок круглых червей из отряда нематод плотоядных млекопитающих, характеризующийся длительным рецидивирующим течением и полиорганным поражением, ведущую роль в патогенезе которого играют иммунопатологические реакции. В патологии человека наиболее изучена роль собачей токсокары – *Toxocara canis*, меньше кошачьей – *T. mystax (cati)*. Высокий процент зараженности собак (сук, щенков) токсокарами является следствием пожизненного бессимптомного носительства личинок [2, 4]. Инвазированные животные ежедневно загрязняют внешнюю среду миллионами яиц, при этом у щенка в фекалиях может находиться их около 100 тыс. на один грамм. Как кошачьей, так и собачьей токсокаре требуется несколько недель для созревания в сырых влажных условиях за пределами хозяина, прежде чем яйца станут инвазионными. Недавно вышедшие наружу с животного яйца гельминта никакой опасности не представляют. В процессе созревания яйца внутри его формируется живая личинка (личинка I-ого порядка). Для изучения эпидемиологического и эпизоотического фона зараженности человека и животных токсокарозом в диагностических исследованиях требуется качественный антиген. Первичный антигенный состав, контактирующий с будущим хозяином возбудителя, находится на поверхности личинок, сформированные внутри токсокарозного яйца. Диагностические тест-системы, вероятно, следует готовить из инвазионных личинок, локализованные в яйцевых оболочках.

Цель работы сводилась к получению полноценных, освобожденных от яйцевых оболочек жизнеспособных личинок *T. canis*. Применение данного метода в практической медицине и ветеринарии позволит получить высоко специфический материал для создания диагностических тест-систем.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили культуры яиц *T. canis*, полученные из гонад самок нематод. Половозрелых самок токсокар получали выделением гельминтов из кишечника тушек естественно зараженных лисиц, волков, енотовидных и домашних собак, отстреленные на территориях охотхозяйств Центральной России. Яйца токсокар хранили в 4,0%-ном растворе формалина или в 1,0%-ном растворе соляной кислоты. Для искусственного выделения личинок токсокар из яиц применяли метод кратковременного инкубирования в желчи жвачных животных (крупного рогатого скота) на магнитной мешалке с подогревом [3]. Взвесь (суспензию, объемом 0,25 мл) свежеполученных или хранившихся яиц *T. canis* с личинками I-ой стадии помещали в химический стакан с желчью. Химический стакан с пробой помещали на платформу магнитной мешалки с подогревом. Далее, клали в суспензию магнит в пластике размером 1,5–3,5 см, включали подогрев до температуры 38 ± 1 °С. Режим вращения перемешивающего элемента 50 об/мин устанавливали вручную. После 30 минутной экспозиции личинок отмывали в физиологическом растворе. Для удобства их можно поместить в аппарат Бермана при температуре 38 ± 1 °С. Подсчет личинок и яиц проводили в счетной камере Могилевой-Котельникова, при микроскопировании с увеличением $\times 10-40$.

Результаты исследований. Основные результаты исследований представлены в таблице.

Таблица

Выход личинок токсокар *Toxocara canis* из яичевых оболочек

№ опыта, пп	Период хранения яиц с личинками	Среда хранения инвазионного материала	Всего яиц, экз.	Выход личинок	
				Кол-во	%
1	Свежий инкубируемый материал	4,0%-ный раствор формалина, 1%-ный раствор соляной кислоты	2 500	1 600	64
2	3 месяца		15 000	8 700	58
3	1 год		7 100	2 700	38

Свежеполученный материал и хранившийся в течение 3-х месяцев показали высокий процент выхода личинок из яиц. Хранившийся материал токсокар в течение 1-го года показал несколько худший результат.

Заключение. Для получения специфического диагностического антигена токсокар на первичном этапе личинок токсокар 1-й стадии из яйцевых оболочек можно выделять в желчи жвачных животных. Из свежеполученных инвазионных яиц токсокар выходит личинок несколько больший, чем из хранившихся.

Список источников

1. *Конаныхина С. Ю., Лавров В. Ф., Ведунова С. Л., Эмбралидзе Л. К.* Низкоавидные IgG-антитела в диагностике острой фазы токсокароза // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2004. № 2(15). С. 39-41.
2. *Мальшева Н. С., Самофалова Н. А., Григорьев Д. Г., Вагин Н. А., Елизаров А. С., Гладких К. А., Шуйкина Э. Е.* Проблема токсокароза в современных условиях и совершенствование подходов к его профилактике // Ученые записки: электронный научный журнал Курского государственного университета. 2013. № 1(25). 7 с.
3. *Прошин И. Г.* К методике искусственного выделения личинок аскаридат из яиц // Медицинская паразитология. 1954. № 2. С. 126-131.
4. *Сергиев В. П., Лобзин Ю. В., Козлов С. С.* Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы). СПб.: Фолиант, 2016. 640 с.
5. *Чернова Т. М., Булина О. В.* Токсокароз в практике детского врача // Педиатр. 2010. Т. 1. № 2 С. 119-124.

References

1. *Konanykhina S. Y., Lavrov V. F., Vedunova S. L., Embralidze L. K.* Low-grade IgG in the diagnosis of the acute phase of toxocarasis. *Epidemiology and vaccine prophylaxis*. 2004; 15(2): 39-41. (In Russ.)
2. *Malysheva N. S., Samofalova N. A., Grigoriev D. G., Vagin N. A., Elizarov A. S., Gladkikh K. A., Shuikina E. E.* The problem of toxocarasis in modern conditions and the improvement of approaches to its prevention. *Scientific notes: electronic Scientific Journal of the Kursk State University*. 2013; 1(25): 7. (In Russ.)
3. *Proshin I. G.* To the method of artificial isolation of Ascaris larvae from eggs. *Medical parasitology*. 1954; 2: 126-131. (In Russ.)
4. *Sergiev V. P., Lobzin Y. V., Kozlov S. S.* Parasitic diseases of humans (protozoosis and helminthiasis). St. Peterburg, Foliant, 2016. 640 p. (In Russ.)
5. *Chernova T. M., Bulina O. V.* Toxocarasis in the children's doctor practice. *Pediatrician*. 2010; 1(2): 119-124. (In Russ.)