

**СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ ЛИЧИНОК *Toxocara canis*
ИЗ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ И ЛЕГКИХ ПЛОТЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ**

О.А. ПАНОВА

аспирант

И.Г. ГЛАМАЗДИН

доктор ветеринарных наук

Московский государственный университет пищевых производств,
125080, Москва, Волоколамское ш., д. 11, e-mail:

С.К. ШИБИТОВ

Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория,
e-mail:

Предложен способ выделения личинок *Toxocara canis* из паренхимы печени и легких плотоядных животных для посмертной диагностики токсокароза при слабой инвазии и в период препатентной стадии. Полученную культуру личинок *T. canis* можно использовать для изучения патогенеза болезни, проведения генетических исследований и получения белков с диагностическими и протективными свойствами. 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.

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

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.

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.

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: подготовка проб ткани; приготовление искусственного желудочного сока (ИЖС); переваривание и оценка результатов, концентрация личинок.

1. Пробу массой 50,0 г (паренхима легких или печени) тщательно измельчали в мясорубке с диаметром решетки 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.

Литература

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 sovremennyh uslovijah // 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.

The method of allocation of *Toxocara canis* larvae from parenchyma of liver and lung of carnivores

O. A. Panova

postgraduate

I.G. Glamazdin

doctor of veterinary sciences

Moscow State University of food productions

125080, Moscow, Volokolamskoye Highway, 11, e-mail: glamazdin@yandex.ru

S. K. Shbitov

Central scientific and methodical veterinary laboratory,

The method of allocation of *Toxocara canis* larvae from parenchyma of liver and lung of carnivorous animals for postmortem diagnostics of toxocarosis is offered at a weak infection and in prepatent period. The received culture of larvae of *T. canis* can be used for studying pathogenesis of the diseases, carrying out genetic researches and receiving proteins with diagnostic and protective properties. The list of the equipment, reactants and solutions for allocation of *T. canis* larvae is given. The work course which consists of preparation of tests of tissue of a liver and lungs, preparation of artificial gastric juice, digestion of tissues, an assessment of the results, concentration of *T. canis* larvae is described. For researches take samples of a parenchyma of lungs or a liver weighing 50 g, crush on a meat grinder. Samples digest to the current of 50 min. at a temperature of 41–42 °C. After 10 minute upholding a deposit merge in Petri's cups and investigate on existence of *T. canis* larvae and their mobility. For concentration of a material a deposit centrifuge during 10 min.

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