- / П.В. Журавлев, О.П. Панасовец [и др.] //Здоровье населения и среда обитания. 2015. № 5 (266). C. 24-26.
- $\Pi$ анасовец  $O.\Pi.$  и  $\partial p.$  Новая накопительная питательная среда и методика ее применения / О.П. Панасовец, В.В. Алешня [и др.] //Здоровье населения и среда обитания. 2012. № 4 (229).
- Панасовец О.П. Биологические свойства сальмонелл, выделенных из воды реки Дон //Здоровье населения и среда обитания. 2015. № 6 (267). С. 35—38.
- *Таблер М.В. и др.* Внедрение метода полимеразной цепной реакции в работу микробиологических лабораторий Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора / М.В. Таблер, М.В. Зароченцев [и др.] //Здоровье населения и среда обитания. 2012. № 10 (235). C. 41-43.
- Berger D., et al. Evaluation of a Novel Chromogenic Medium for the Isolation and Differentiation of Salmonella and Shigella spp. / D. Berger, R. Clasen [et al.] //ASM. New Orleans, LA. 2011.
- Tan K., et al. Prospective Evaluation of a Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight Mass Spectrometry System in a Hospital Clinical Microbiology Laboratory for Identification of Bacteria and Yeasts: a Bench-by-Bench Study for Assessing the Impact on Time to Identification and Cost-Effectiveness / K. Tan, B. Ellis [et al.] //J. Clin Micro. 2012. Vol. 50 (10). P. 3301—3308. Schaumann R., et al. Discrimination of Entero-
- bacteriaceae and Non-fermenting Gram Negative Bacilli by MALDI-TOF Mass Spectrometry / R. Schaumann, N. Knoop [et al.] //The Open Microbiology Journal. 2013. N 7. P. 118—122.

Контактная информация: **Панасовец** Ольга Петровна, тел.: +7 (863) 234-70-55, e-mail: rostovniimp@mail.ru

Contact information:

Panasovets Olga phone: +7 (863) 234-70-55, e-mail: rostovniimp@mail.ru



УДК [639.2.09:576.89]-093/-098

## ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ ИНВАЗИРОВАННОСТИ ЛОСОСЕОБРАЗНЫХ РЫБ МЕТАЦЕРКАРИЯМИ ВОЗБУДИТЕЛЯ НАНОФИЕТОЗА

А.Г. Драгомерецкая $^{1}$ , О.Е. Троценко $^{1}$ , О.П. Зеля $^{2}$ <sup>1</sup>ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия <sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России,

г. Москва, Россия

Предложен метод определения зараженности лососеобразных рыб личинками возбудителя нанофиетоза, который повышает эффективность и снижает трудоемкость санитарнопаразитологических исследований рыбного сырья. Показано, что при определении экстенсивности инвазии партии лососеобразных рыб промыслового размера достаточно исследовать только почки, а для определения интенсивности инвазии исследуемых особей — произвести расчет по предложенной формуле, используя число метацеркарий, обнаруженных в данных органах. Ключевые слова: нанофиетоз, лососеобразные, метацеркарии, интенсивность инвазии.

A.G. Dragomeretskaya, O.E. Trotsenko, O.P. Zelya 

THE OPTIMISATION OF THE METHOD OF RESEARCH OF THE INVASION OF SALMONIFORMES BY METACERCARIAE OF CAUSATIVE AGENT OF NANOPHYETIASIS 

Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Khabarovsk, Russia; Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia.

The new method of detection of infected salmon by metacercariae has been proposed. This method improves the efficiency and decreases the laboriousness of sanitary-parasitological studies of fish products. In the evaluation of helminth invasion extensity of commercial size Salmoniformes it is enough to examine only the kidneys. In the case of single specimen, it is necessary to make an evaluation with the recommended formula using the number of metacercaria founded in kidneys.

Key words: nanophyetiasis, Salmoniformes, metacercariae, intensity of invasion.

Нанофиетоз является высокоэндемичным и социально значимым для Приамурья кишечным трематодозом человека и животных, возбудителем которого является трематода Nanophyetus salmincola schikhobalowi (Skrjabin et Podjapolskaja, 1931).

Основным фактором передачи возбудителя нанофиетоза дефинитивным хозяевам являются лососеобразные рыбы, круг которых ограничен представителями семейств лососевых Salmonidae, сиговых Coregonidae и хариусовых Thymallidae.

Совокупность природных факторов Приамурья, создающих благоприятные условия для обитания промежуточных и дополнительных хозяев N.s. schikhobalowi, в сочетании с привычкой местных жителей употреблять рыбу в сыром и малосоленом виде обеспечивают высокий уровень пораженности нанофиетусами населения на отдельных

Название вида рыбы	Исследо- вано экземпля- ров	Инвази- ровано экземпля- ров	Общее число паразитов в выборке, экз.	Общая масса выборки, кг	Среднее число паразитов на 1 кг массы	Среднее число паразитов в мышечной ткани одной инвазированной особи
Хариус нижнеамурский <i>Th. tugarinae</i>	229	106	41 212	29,452	1 399,3	182,7
Таймень сибирский Н. taimen	53	26	62 742	63,504	988	1 134,2
Ленок тупорылый В. tumensis	131	56	174 019	54,094	3217	1 460,5
Ленок острорылый <i>B. lenok</i>	81	80	352 177	74,019	4 757,9	2 069
ВСЕГО	494	268	630 150	221,069	2 850,5	_

Таблица 1. Средние показатели интенсивности инвазии

3 Hu(10

территориях и делают возможным заражение вне очагов [2, 6]. Учитывая эпизоотический характер циркуляции возбудителя нанофиетоза на большей части ареала, главное внимание в системе профилактических мероприятий должно уделяться снижению риска заражения населения.

Возбудитель нанофиетоза *N.s. schikhobalowi* является лидером среди дальневосточных трематод по показателям экстенсивности инвазии (ЭИ) и интенсивности инвазии (ИИ) дополнительных хозяев. При этом ЭИ у отдельных видов достигает 100 %, а ИИ исчисляется несколькими тысячами паразитов у одной особи промыслового размера [1].

В то же время в доступной литературе отсутствуют сведения о количественном распределении метацеркарий в теле лососеобразных рыб и числе метацеркарий в мышечной ткани, которая в основном и употребляется в пищу. Также не акцентируется внимание на изучении показателей инвазированности особей промыслового размера. При этом согласно Правилам рыболовства для Дальневосточного рыбохозяйственного бассейна [7] для каждого вида рыбы определен минимальный промысловый размер, а отлов особей размером менее установленного запрещен.

Экспертиза рыбы на паразитарную безопасность является необходимым мероприятием в системе эпидемиологического надзора за трематодозами.

В соответствии с МУ 3.2.988-00 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки» для выявления метацеркарий трематод необходимо исследовать вырезку из средней трети спины рыбы как место наиболее вероятной их локализации [4].

Определение ИИ исследуемой особи необходимо проводить путем подсчета числа метацеркарий в вырезке из средней трети спины рыбы [3]. Однако использование этого метода не позволяет оценить ИИ N.s.schikhobalowi исследуемой особи ввиду особенностей локализации личинок в теле лососеобразных рыб.

Для получения достоверных данных необходимо произвести прямой подсчет всех обнаруженных метацеркарий. Такое исследование весьма трудоемко и занимает не менее 60 минут на каждую исследуемую особь. А при исследовании особо крупных особей время исследования увеличивается до двух часов и более.

**Цель исследования** — разработать эффективный и менее трудоемкий метод исследования инвазированности лососеобразных рыб метацеркариями *N.s. schikhobalowi*.

Материалы и методы. Отлов рыбы для паразитологического исследования и определение видовой принадлежности производились совместно с сотрудниками Хабаровского филиала ФГУП «Тихоокеанский рыбохозяйственный центр». Сбор ихтиологического материала проводили в р. Амур и ее горных притоках — р. Хор, Анюй и Манома. В данных водоемах был собран ихтиологический материал в количестве 494 особей рыб 4 видов (хариус нижнеамурский *Thymallus tugarinae*, таймень сибирский *Hucho taimen*, ленок тупорылый *Brachymystax tumensis*, ленок острорылый *B. lenok*).

У исследуемых особей измеряли длину и вес, определяли пол и возраст. Затем отбирали вырезки мышечной ткани и подкожной клетчатки туловища (верхний слой 2—3 мм), а также исследовали мышцы грудных и брюшных плавников, почки, печень и жабры. Почки, печень и жабры исследовали компрессорным методом. Для исследования мышечной ткани использовали компрессорный метод и метод переваривания в искусственном желудочном соке.

При обнаружении метацеркарий паразита в каждой пробе производили подсчет обнаруженных личинок, затем определяли интенсивность инвазии исследуемой особи, после чего определяли процентное соотношение распределения метацеркарий в пробе к общему числу личинок в рыбе.

Для расчета среднего числа паразитов в мышечной ткани одной инвазированной особи определяли суммарное число метацеркарий в мышечной ткани туловища и мышцах поясов конечностей особи и определяли число паразитов в мышечной ткани в выборке, которое делили на количество инвазированных рыб данного вида.

Таблица 2. Сравнительные характеристики методов определения ИИ лососеобразных промыслового размера

Способ определения ИИ	Манипуляции	Количество проб*	Время выполнения на 1 пробу, мин	Общее время исследова- ния, мин				
общепри-	Вскрытие рыбы	_	2	2				
	Подготовка проб мышечной ткани туловища**	12	2	24				
	Подготовка проб мышечной ткани плавников	2	2	4				
1И с	Подготовка проб почек	1-6	2	2—12				
Определение ИИ общепри- нятыми методами	Подготовка проб жабр	2	2	4				
	Подготовка проб печени	1-6	2	2—12				
	Компрессия	12—22	1	12—22				
ОПО	Микроскопия и подсчет обнаруженных метацеркарий	12—22	5	60—264				
Итого на подготовку и исследование: 12—22 проб за 110—344 минуты								
Определение ИИ упро- щенным способом	Вскрытие рыбы	_	2	2				
	Подготовка проб почек	1—6	2	2—12				
	Компрессия	16	1	1—6				
	Микроскопия и подсчет обнаруженных метацеркарий	1—6	5	5—30				
Итого на подготовку и исследование: 1—6 проб за 10—50 минут								
Ппимочанио								

\*Количество проб зависит от размера рыбы.

Результаты и обсуждение. У особей в возрасте трех лет и старше наибольшее (более 80 %) число метацеркарий содержалось в почках и мышцах поясов конечностей. Показатель выявления в почках составил в среднем 51 %, в мышцах поясов конечностей —  $3\hat{1}$  % от всех метацеркарий, обнаруженных в рыбе. На мышцы туловища приходилось в среднем около 16 % метацеркарий. Из них наибольшее число было обнаружено в пробах из средней трети спины рыбы — в среднем 7,1 % и участка вокруг грудных плавников -2,4%. Единичные экземпляры находились на жабрах и в печени.

Ввиду того, что в пищу употребляется в основном только мышечная ткань рыбы, был произведен расчет среднего числа паразитов в мышечной ткани одной инвазированной особи (табл. 1). Установлено, что, несмотря на то что основным местом локализации метацеркарий N.s. schikhobalowi являются почки, в мышечной ткани трех из четырех исследованных видов лососеобразных рыб содержится количество метацеркарий (более 500 экземпляров), достаточное для заражения и развития клинических проявлений нанофиетоза [5].

Полученные нами данные о локализации 51 % метацеркарий N.s. schikhobalowi в почках лососеобразных рыб позволяют произвести расчет ИЙ исследуемой особи, используя число метацеркарий, обнаруженных в этих органах.

В связи с этим мы предлагаем для приблизительного определения ИИ у лососеобразных рыб промыслового размера использовать формулу:

I – интенсивность инвазии;

n — число метацеркарий, обнаруженных в почках.

В почках лососеобразных рыб метацеркарии N.s.schikhobalowi обнаруживаются при любой ИИ, поэтому при определении ЭИ партии рыб можно ограничиться исследованием только указанной части тела рыбы. Использование почек при определении ЭЙ и ИИ партии рыб позволяет сохранить целостность мышечной ткани. Также почки легко поддаются компрессированию, поэтому именно компрессорный метод как наиболее простой и не требующий больших затрат времени и реактивов удобен для данного вида исследований.

Нами был произведен расчет снижения трудозатрат и затрат времени при использовании предложенного метода (табл. 2). Расчет произведен для исследования одной особи рыб отряда лососеобразных промыслового размера с использованием компрессорного метода и стекол размером  $6(8) \times 12(15)$  см [4]. Время выполнения на одну пробу установлено опытным путем и достигается при достаточном опыте исследователя.

<sup>\*\*</sup>Исследование мышечной ткани с обеих сторон тела.

Таким образом, при использовании метода исследования, предложенного нами, трудозатраты снижаются в 3—12 раз, время исследования — в 6—10 раз. Особенно эффективно снижение трудозатрат и времени отмечается при исследовании особей длиной более 500 мм и весом более 2 кг.

Учитывая полученные результаты, предложенный метод (патент на изобретение № 2549949) может быть рекомендован для исследования рыбы на наличие метацеркарий *N.s. schikhobalowi*.

## ЛИТЕРАТУРА

- 1. Драгомерецкая А.Г. и др. Оценка инвазированности лососеобразных рыб метацеркариями Nanophyetus salmincola schikhobalowi (Skrjiabin et Podjiapolskaja, 1931) в реках Хабаровского края / А.Г. Драгомерецкая, О.П. Зеля [и др.] //Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2014. № 3. С. 25—29.
- Драгомерецкая А.Г. и др. Социальные факторы функционирования очагов нанофиетоза в Приамурье / А.Г. Драгомерецкая, О.П. Зеля [и др.] //Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2014. № 4. С. 23—28.
- 3. Звягина В.В. Структурно-функциональные особенности метацеркарий Opisthorchis felineus; опти-

- мизация способов обеззараживания и контроля рыбы, инвазированной личинками возбудителя описторхоза: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тюмень, 1995. 16 с.
- Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки: My 3.2.988—00.
- Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы): Руководство для врачей /Под ред. В.П. Сергиева, Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова. СПб: Фолиант, 2006. 592 с.
- 6. Посохов П.С. Биолого-эпидемиологическая характеристика очагов эндемичных трематодозов человека на Дальнем Востоке в связи с перспективой их оздоровления: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1984. С. 47.
- Правила рыболовства для Дальневосточного рыбохозяйственного бассейна (утв. приказом Росрыболовства от 06.07.2011 № 671).

Контактная информация:

**Драгомерецкая** Анна Геннадьевна, тел.: +7 (4212) 46-18-57, e-mail: da\_khv@rambler.ru

Contact information:

**Dragomeretskaya** Anna, phone: +7 (4212) 46-18-57 e-mail: da\_khv@rambler.ru