

Лечение и профилактика

УДК

DOI:

Поступила в редакцию 02.06.2015

Принята в печать 02.09.2015

Пельгунов А. Н. Разработка новых методов обеззараживания рыб и рыбной продукции от метацеркарий *Opisthorchis felineus* Rivolta 1884 // Российский паразитологический журнал. - М. - 2015. - Вып. 3. - С. .

РАЗРАБОТКА НОВЫХ МЕТОДОВ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ РЫБ И РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ ОТ МЕТАЦЕРКАРИЙ *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884

Пельгунов А. Н.

Центр паразитологии ИПЭЭ РАН

119071, Москва, Ленинский проспект, 33, e-mail: apelgunov@list.ru

Реферат

Цель исследования – разработка эффективных и энергосберегающих методов обеззараживания рыб и рыбной продукции от личинок описторхид как в промышленных, так и в домашних условиях.

Материалы и методы. В опыте использовали язей, спонтанно зараженных метацеркариями *Opisthorchis felineus*. Для обработки зараженной описторхидами рыбы применяли вакуумную обработку, электродинамический удар, ультразвуковую обработку и СВЧ-излучение. Метацеркарии *O. felineus* выделяли методом искусственного переваривания. Жизнеспособность метацеркариев определяли по сохранению морфологической структуры метацеркариев, их подвижности, эксцистированию личинок под действием трипсина, методом биологической пробы (экспериментальное заражение золотистых хомячков и белых беспородных мышей).

Результаты и обсуждение. Установлена устойчивость метацеркарий описторхисов к вакууму, электродинамическому удару и ультразвуковой обработке, что во многом определяется строением их капсулы. Только при использовании бытовой микроволновой печи происходило полное обеззараживание рыбы от метацеркарий описторхид.

Ключевые слова: описторхоз, СВЧ-излучение, вакуум, электрогидродинамический удар, ультразвуковое излучение, рыба.

Введение

Основным источником заражения населения описторхозом является рыба домашнего приготовления, отловленная самостоятельно или купленная с рук у рыбаков. Жизнеспособность метацеркарий *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884 широко известна [1].

Одним из важнейших направлений профилактики описторхоза у населения является обработка инвазированной рыбы, обеспечивающая обезвреживание метацеркариев, не только в промышленных масштабах, но и в домашних условиях.

По нормам СанПиН 3.2.569-96 [7] полное обеззараживание рыб и рыбной продукции (т. е. гибель метацеркарий описторхов) происходит при – 28 °С за 32 ч, а при посоле массовая доля соли в мясе рыб должна составлять 14 %, а продолжительность посола 40 сут.

Целью наших исследований был поиск новых эффективных и энергосберегающих методов обеззараживания рыб и рыбной продукции от личинок описторхид как в промышленных, так и в домашних условиях, для чего нами изучено влияние вакуумной обработки, электродинамического удара, ультразвуковой обработки и СВЧ-излучения на выживаемость метацеркарий описторхисов.

Наиболее эффективным (разрушающим) источником воздействия электромагнитного поля (ЭМП) на живой организм [2] является импульс тока высокого напряжения, имеющий наносекундные параметры: длительность фронта $\tau_{фр} < 50$ нс при длительности импульса $t_{и} < 350$ нс. Частота «подачи» импульса (скважность между импульсами) может меняться в широких пределах: от единиц Гц до нескольких десятков кГц. Такой режим воздействия ЭМП на любой объект эквивалентен гидродинамическому удару, т. е. приложению к объекту практически мгновенно силы в мегавысоких значениях, которые превышают прочность соединений в рассматриваемом объекте.

Такое воздействие проще всего организовать в виде электрического разряда (пробоя) промежутка, образованного двумя электродами, размещенными в сосуде с водой, создавая эффект Юткина, т. е. появление гидроудара или ударных волн со скачком давления на их фронтах с амплитудой свыше 1000 атм. (100 МПа).

В любой жидкости при приложении высоковольтного импульса к электродам, погруженным в нее, образуется неоднородное поле и возникает электрический пробой (разряд), перпендикулярно оси которого возникают ударные акустические волны (гидроудар) в течение действия импульса разрядного тока. Этот эффект носит название «эффекта Д. Юткина».

С раскрытием эффекта Юткина во многих областях физики, электрохимии и нанотехнологий стали широко использовать электрический импульсный разряд в жидкостях как простейший источник ударных волн со скачками давления до 100-тен МПа (тысячи атмосфер) без нагрева с наложением мощного переменного электромагнитного поля.

Известно, что появление ударной волны сопровождается передачей электрической энергии в канал разряда. Внедрение в канал импульсного (даже микросекундного) разряда энергии около 1 Дж оказывается достаточным для 100%-ного обеззараживания водной среды. Этот эффект сейчас широко используют в мировой практике водоподготовки и очистки различных стоков промышленного, коммунального и сельскохозяйственного производств.

Физически ультразвуковое воздействие на биообъекты характеризуется возникновением колебаний рабочей среды. Для достижения режима максимального воздействия акустического излучения на объект необходимо, в первую очередь, подобрать режим излучения, при котором в объекте выделяется максимум энергии. Но поскольку сам объект, как любой живой организм на 80 % состоит из воды и, к тому же, размещается в воде с заданным коэффициентом поглощения, то рабочий режим выбирают по максимуму вкладываемой энергии, затрачиваемой на преобразование воды [5]. Иными словами, воздействие акустического излучения тождественно воздействию на объект ЭМП (электромагнитное поле).

Максимальная концентрация получаемых ионов и электронов на объект (вторичное воздействие на неоднородное по строению вещество) будет при условии резонанса, т. е. при частоте межмолекулярной связи в воде. Наличие ионов и электронов в объеме приводит к возникновению собственного ЭМП уже независимо от глубины проникновения звуковых волн в реакторе. В этом случае это собственное (вторичное) ЭМП будет максимально воздействовать на объект, осуществляя в нем процессы сонохимии по подобию радиохимии, только с максимально достижимой дозой поглощения.

При нагревании продукта токами высокой частоты и в поле СВЧ воздействие тепла на микроорганизмы происходит не только путем теплопередачи от окружающей среды (продукты), как это характерно для других методов нагрева, сколько в результате образования тепла в самом содержимом клетки под действием высокочастотного переменного поля. Колебательные движения частиц в клетках микроорганизмов (в нашем случае метацеркарии описторхид) в поле СВЧ сопровождается не только выделением тепла, но и поляризационными явлениями, влияющими на их жизненные функции. Поэтому при нагревании продукта в поле СВЧ гибель паразитов происходит значительно быстрее [8].

Материалы и методы

Для опытов брали язей, спонтанно зараженных метацеркариями *O. felinus*, которые были отловлены в районе Миссии (приблизительно в 100 км от г. Тобольск по течению р. Иртыш). Для обработки зараженной описторхидами рыбы применяли вакуумную обработку, электродинамический удар, ультразвуковую обработку и СВЧ-излучение. На вакуумной установке проведено 18 опытов при различных значениях вакуума, временных параметрах и скорости получения вакуума. В экспериментальную камеру помещали кусок мяса язя с метацеркариями описторхид. Предварительно проверяли жизнеспособность находящихся в нем метацеркарий на второй части этого куска методом искусственного переваривания.

При применении импульсно-разрядного комплекса (предоставлен Энергетическим институтом им. Г. М. Кржижановского) использовали следующие параметры воздействия – уровень напряжения $U_N = 30$ кВ, емкость в ударе 4 мкф, сила удара 1,8 кДж. Время обработки 1 ч, 1 удар в минуту. Было обработано 4 пробы.

Каждый кусок (150-200 г) из спинок язей, зараженных метацеркариями *O. felinus*, делили пополам. Одну часть обрабатывали в установке, вторая часть служила контролем. Из опытных и контрольных образцов выделяли метацеркарии. Белые мыши (беспородные) в каждом опыте

получали по 30 метацеркарий. Метацеркарии *O. felineus* выделяли методом искусственного переваривания [3]. Жизнеспособность метацеркариев определяли по сохранению морфологической структуры метацеркарий, их подвижности, эксцистированию личинок под действием трипсина, методом биологической пробы (экспериментальное заражение белых беспородных мышей). Всего было заражено 16 мышей.

Рабочей частотой экспериментов по ультразвуковой обработке была выбрана частота $f_0 = 16,2$ кГц. В этом случае согласно эффекту В. Н. Кондратьева [4] происходит «зарядка» частиц объекта (из-за их движения) с образованием спинов (магнитной составляющей ЭМП от напряженности поглощения), приводящее к «замиранию», т. е. перехода липидов в пептин и прекращение поступления кислорода в эти неоднородности (где спин достигает максимума из-за размеров включений по сравнению с межклеточной средой).

Работа была проведена на установке, разработанной в Энергетическом институте им. Г. Кржижановского РАН в лаборатории физики сильных электромагнитных полей.

Для опытов брали спинки зараженных язей, такие же, как и в опытах с электрогидродинамическим ударом. Опытные образцы (спинки язей) делили на две части – одну часть обрабатывали, другая часть служила контролем. Образцы размещали внутри камеры, заполненной ионизированной водой симметрично относительно оси конфузора излучателя, на расстоянии 50-60 мм от сопла диффузора Лавалья. После обработки в опытных и контрольных образцах определяли жизнеспособность метацеркарий описторхисов.

В качестве СВЧ-излучения в опытах использовали микроволновую печь бытового применения «LG-электроник», максимальной мощности 800 Вт. Рыбу очищали от чешуи, т. к. чешуя частично экранирует СВЧ-излучение и поэтому требуется больше времени на обработку. Жизнеспособность метацеркариев определяли при экспериментальном заражении 21 золотистого хомячка.

Результаты и обсуждение

Вакуумная обработка. Метацеркарии описторхид выдерживали практически полный вакуум (0,02 атм.) в течение 24 ч. До обработки вакуумом все выделенные 24 метацеркарии были подвижны и 19 эксцистировались. После обработки в вакуумной камере из опытного куска было выделено 18 метацеркарий, все были подвижны, 15 эксцистировались.

Однако, неясно, за счет чего метацеркарии описторхид выживают в глубоком вакууме: за счет того, что у них анаэробное дыхание (т. е. за счет специфической для паразитов биохимии) или за счет капсулы.

Электрогидродинамический удар. У 8 опытных белых мышей, которым задали по 240 метацеркарий, найдено 10 трематод (4,2 %), выделено 26 метацеркарий – эксцистировалось 19 (69 %).

У 8 контрольных белых мышей, которым также задали по 240 метацеркарий, найдено 12 трематод (5 %), выделено 31 метацеркарий – эксцистировалось 22 (71 %). Разница статистически незначима.

Приведенные результаты показали, что воздействие гидроударом на образцы рыб не вызывает гибели метацеркарий описторхид, несмотря на сильное разрушение мышечной и костной тканей.

Ультразвуковая система обработки.

Опыт 1. При следующих параметрах: f_0 (резонансная частота) = 47 Гц, суммарная 16,2 кГц, f_1 (электромагнитнострикционная частота) = 15 кГц, экспозиции 1 ч, J_{Σ} (суммарная сила воздействия) = 0,3 кДж, в опытном образце найдено 39 метацеркариев – 24 подвижны; 17 эксцистировались (43 %). Отношение подвижные/исследованные составило 0,61. В контроле найдено 31 метацеркариев – 22 подвижны; 15 эксцистировались (48 %). Отношение подвижные/исследованные составило 0,70.

Опыт 2. При следующих параметрах: $f_0 = 47$ Гц, суммарная 16,2 кГц, $f_1 = 36$ кГц, экспозиции 1 ч, $J_{\Sigma} = 0,72$ кДж, в опытном образце найдено 24 метацеркариев – 12 подвижны; 7 эксцистировались (29 %). Отношение подвижные/исследованные составило 0,50. В контроле найдено 29 метацеркариев – 15 подвижны; 11 эксцистировались (37 %). Отношение подвижные/исследованные составило 0,52.

Разница в обоих опытах оказалась статистически незначимой.

Таким образом, полученные результаты показали отсутствие в данном диапазоне влияния ультразвуковой обработки на жизнеспособность метацеркарий описторхид, находящихся в мышечной ткани рыб.

СВЧ-излучение. Обработка рыбы СВЧ-излучением оказалась эффективной против метацеркарий описторхисов (табл.).

Таблица. Результаты экспериментального заражения золотистых хомячков метацеркариями *O. felineus* до и после обработки рыбы в микроволновой печи

№ опыта	Режим работы Вт	Время обработки мин.	К/О	Число животных	Число метацеркарий	Найдено описторхисов	Приживаемость, %
1	800	2	К	3	142	64	45±4,2
			О	3	120	20	17±3,4
2	800	4	К	3	110	43	39±4,7
			О	6	242	0	0±0,4
3	800	6	К	3	122	36	30±4,1
			О	3	121	0	0±0,8

* К/О – К – контроль; О – опыт, после обработки в СВЧ-печи.

Заключение

Несмотря на отрицательный результат при воздействии на зараженную рыбу вакуума, электродинамического удара, ультразвуковой обработки, полученные данные имеют большой теоретический интерес. Это – устойчивость метацеркарий описторхисов к различным видам физического воздействия, что во многом определяется строением их капсулы.

Проведенные исследования показали, что наиболее эффективным способом обеззараживания рыб от личиночных стадий паразитов является их обработка СВЧ-излучением (патент № 2238013 «Способ обеззараживания продуктов животного происхождения в поле СВЧ»). Нами было показано, что при использовании бытовых микроволновых печей происходит полное обеззараживание рыбы и рыбной продукции от личиночных стадий описторхид (метацеркарий).

Автор благодарит за большую помощь в проведении данной работы коллектив лаборатории ТВН ЭНИН им. Г. Кржижановского и проф. А. Г. Ляпина, а также ведущего инженера ЦП ИПЭЭ РАН А. Ю. Филиппову

Литература

1. Беэр С. А. Биология возбудителя описторхоза. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. - 336 с.
2. Буланова К. Я., Соловьева Н. Г., Лобанок Л. М. Биологические и медицинские аспекты действия электромагнитных полей // Изв. НАН Беларуси. сер. Биология. - 2003. - № 4. - С. 108.
3. Глазков Г. А., Климшин А. А., Кривенко А. И. Метод санитарно-гельминтологической экспертизы рыбы на наличие личинок описторхов и определение их жизнеспособности // Гигиена и санитария. - 1979. - № 8. - С. 53-55.
4. Кондратьев В. Н. Фотохимические реакции и реакции в электрическом разряде // Кинетика химических реакций. - М.: Изд-во АН СССР, 1958. - С. 79-127.
5. Pauling L. The nature of the chemical bond (Паулинг Л. Природа химической связи. - М.-Л., 1947. - 440 с.
6. Пельгунов А. Н., Рябов И. Н., Филиппова А. Ю. Использование микроволновых печей в профилактике описторхоза // Мед. паразитол. и паразит. бол. - 2005. - № 3. - С. 42-45.
7. Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации (Санитарные правила и нормы СанПиН 3,2,569-96). – М.: Информационно-издательский центр Минздрава России, 1997. - 168 с.
8. Рогов И. А., Адаменко В. Я. Современные методы и оборудование для сверхвысокочастотной обработки пищевых продуктов в промышленности (обзор). – М. ЦНИИТЭИлегпишемаш, 1971. - 54 с.

References

1. Beer S. A. *Biologija vozбудitelya opistorkhoza* [Biology of the agent of opisthorchiasis]. Moscow, KMK, 2005. 336 p.
2. Bulanova K. Ya., Solov'eva N. G., Lobanok L. M. Biological and medical aspects of the effect of electromagnetic fields. *Izvestiya NAN Belorusi. Ser. Biologiya* [Bulletin of National Academy of Sciences Belarus, Ser. Biology], 2003, no. 4, 108 p.

3. Glazkov G. A., Klimshin A. A., Krivenko A. I. Method of sanitary-helminthological examination of fish for the presence of larvae of opisthorchids and determining their viability. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and sanitation], 1979, no. 8, pp. 53-55.

4. Kondrat'ev V. N. Photochemical reactions and reactions in electrical discharge. *Kinetika khimicheskikh reaktsiy* [Kinetics of chemical reactions]. Moscow, Publ. of the USSR Academy of Sciences, 1958, pp. 79-127.

5. Pauling L. *Priroda khimicheskoy svyazi* [The nature of the chemical bond]. Moscow-Leningrad, 1947. 440 p.

6. Pel'gunov A. N., Ryabov I. N., Filippova A. Yu. The use of microwave ovens for the prevention of opisthorchiasis. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni* [Medical parasitology and parasitic diseases], 2005, no. 3, pp. 42-45.

7. *Profilaktika parazitarnykh boleznej na territorii Rossijskoj Federatsii (Sanitarnye pravila i normy SanPiN 3,2,569-96)* [Prevention of parasitic diseases on the territory of the Russian Federation (Sanitary rules and norms SanPiN 3,2,569-96)]. Moscow, Information and publishing centre of the Ministry of Health, 1997. 168 p.

8. Rogov I. A., Adamenko V. Ya. *Sovremennye metody i oborudovaniye dlya sverkhvysokochastotnoy obrabotki pishhevyykh produktov v promyshlennosti (obzor)* [Modern methods and the equipment for ultra-high-frequency processing of foodstuff in the industries (Review)]. Moscow, Central Food Technological Research Institute, 1971. 54 p.

Russian Journal of Parasitology

DOI:

Article history:

Received 02.06.2015

Accepted 02.09.2015

*Pelgunov A. N. Elaboration of new methods for decontamination of fish and fish products of *Opisthorchis felineus* Rivolta metacercariae, 1884. Russian Journal of Parasitology, 2015, V.3, P. .*

ELABORATION OF NEW METHODS FOR DECONTAMINATION OF FISH AND FISH PRODUCTS FROM METACERCARIAE OF *Opisthorchis felineus* Rivolta, 1884

Pelgunov A. N.

Center of Parasitology, Institute of Ecology and Evolution RAS,
119071, Moscow, Russia, 33 Leninsky prosp., e-mail: apelgunov@list.ru

Abstract

Objective of research: elaboration of effective and energy-efficiency methods for the decontamination of fishes of the larvae of *Opisthorchis* both in industrial and domestic environment.

Materials and methods: In the experiment we used orfes (nerflings) spontaneously infected with *Opisthorchis felineus* metacercariae. Vacuum treatment, electrodynamic shock vibration, ultrasonic irradiation, and microwave radiation were used for treatment of fish infected with opisthorchids. *O. felineus* metacercariae were identified by artificial digestion method. The viability of metacercariae was determined according to the preservation of morphological structure of metacercariae, their mobility, excystation of larvae using the trypsin-bile salt excystation method (experimental infestation of golden hamster and white outbreed mice).

Results and discussion: It was determined that *O. felineus* metacercariae are resistant to vacuum, electrodynamic shock vibration and ultrasound mostly due to the structure of their capsule.

Even when using the microwave we can observe the total decontamination of fish of *Opisthorchis* metacercariae.

Keywords: opisthorchiasis, microwave radiation, vacuum, electrodynamic shock vibration, ultrasonic irradiation, fish.

Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)