

ОБСЛЕДОВАНИЯ ПОЧВЫ НА ЯЙЦА ГЕЛЬМИНТОВ

Д.А. ДОЛБИН¹

кандидат биологических наук

М.Х. ЛУТФУЛЛИН²

доктор ветеринарных наук

Ф.М. СОКОЛИНА³

доктор биологических наук

¹ Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, 420015, Казань, Большая красная, 67,
e-mail: dda_sns@mail.ru

² Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, 420029, Казань, Сибирский тракт, 35,
e-mail: parasitology-kazan@mail.ru

³ Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 42008, Казань, ул. Кремлевская, 18, e-mail: fsokolin@kpfu.ru

Предложен метод исследования проб почвы на яйца гельминтов, который превосходит по своей эффективности предложенный ранее метод Романенко и может быть использован на практике и при проведении научных исследований. Данный метод был применен для обследования объектов внешней среды города Казани и позволил выявить большую загрязненность яйцами геогельминтов. Разработанный метод позволил дополнительно выявить приблизительно 36 % яиц аскарид, чем по методу Романенко, что обусловлено применением нескольких компонентов в флотационной жидкости: растворов хлорида цинка, хлорида натрия и глицерина. Компоненты предлагаемой флотационной системы не нарушают морфологию яиц паразитов и не создают затруднений с морфологической идентификацией возбудителя.

Ключевые слова: яйца, гельминты, почва, контаминация, Республика Татарстан.

При изучении эпидемиологии и эпизоотологии токсокароза слабо уделяется внимание обследованию резервуарных хозяев токсокар: свиней, грызунов и птицы, которые могут заглатывать инвазионные яйца [5].

Освободившиеся личинки второй стадии паразитируют в организме резервуарного хозяина до тех пор, пока его не съест окончательный, в пищеварительном тракте которого происходит дальнейшее развитие личинки. Имеются данные о роли тараканов и мух как механических переносчиков яиц токсокар [7].

Согласно последним данным, у сук в поздний период щенности и во время лактации может происходить реинвазия, которая приводит к трансмиссивному заражению щенков-сосунков, а при клиническом проявлении заболевания – к контаминации окружающей среды яйцами гельминтов. Минимальный инкубационный срок составляет: при прямом заражении 4–5 нед, а при пренатальном – 3 нед [10].

Данные о зараженности токсокарами населения довольно противоречивы. Пораженность сельского населения значительно выше, чем городского,

также как и обсемененность почвы яйцами токсокар. Например, в Еврейской автономной области обсемененность почвы яйцами токсокар в городских условиях была в четыре раза выше. Причем, наибольший процент обсемененных проб приходится на почву теплиц [11].

Однако, в Тульской области корреляционной связи между заболеваемостью, благоустройством жилья и наличием собак не выявлено [4].

Высокую зараженность детей токсокарами отмечают большинство авторов [11].

При обследовании населения в Свердловской области доля инвазированных взрослых по результатам серологических исследований была в два раза выше, чем детей [8].

В 1996–2004 гг. зараженность людей токсокарами по Республике Татарстан составила 0,0005–0,003 % на 100 тыс. человек [9]. С 2000 г. число больных токсокорозом увеличилось, в среднем, в 7 раз, что, вероятно, обусловлено внедрением более эффективных лабораторно-диагностических методов. Токсокороз зарегистрирован у 4 % населения республики [9]. Загрязненность почвы яйцами *Toxosara spp.* почвы достигает 10 % [10].

Загрязненность почвы и пораженность людей токсокарами зависят от климатических, гидрологических и гигиенических условий в конкретной местности.

Из других факторов окружающей среды в передаче яиц токсокар можно назвать воду, овощи, зелень, волосяной покров собак.

В Хабаровском крае установлено, что 8,6 % проб воды в г. Николаевск-на-Амуре и 15,4 % проб воды в г. Хабаровске содержат яйца токсокар. Наиболее часто положительные пробы регистрировали в водах акватории речного порта р. Амур, в местах стока ливневых и паводковых вод, районах неорганизованных пляжей, т. е. в местах скопления населения, бродячих собак и выгула домашних животных. В питьевой воде яйца гельминтов не обнаружены. На шерсти 16,4 % собак найдены яйца нематод. Наиболее интенсивные показатели обсемененности характерны у щенков в области ануса – 30–40 %, крупа – 18–20 и живота – 10–12 %. Обсемененность яйцами токсокар столовой зелени из индивидуальных огородов, рынков городов составила 6,4 % овощей. Яйца паразита находили также на моркови, свекле, луке, картофеле [1].

Анализ результатов гельминтооовоскопических исследований показал высокую зараженность щенков. Инвазированность взрослых собак составила 19,2 %, щенков 47,8 %. На контаминацию окружающей среды яйцами токсокар влияет численность бродячих животных. Собаки в сельской местности более поражены токсокарами, чем в городских условиях [1].

Наиболее актуальна оценка загрязненности почвы детских площадок яйцами *Toxocara canis*, *T. cati* и *Ascaris lumbricoides*.

Наиболее часто используемым методом исследования почвы с целью выявления яиц гельминтов является комбинированный метод Романенко. Для этого в качестве флотационной жидкости используют насыщенный раствор нитрата натрия [3].

При планировании и организации мероприятий по искоренению гельминтозов необходимо выявление новых случаев заболевания с целью контроля эпидемиологической ситуации, совершенствование методов обследования.

С этой целью нами усовершенствован метод гельминтооовоскопии и был разработан новый метод выявления яиц гельминтов и цист простейших в пробах почвы [12, 13].

Материалы и методы

Пробы почвы берут с поверхности и на глубине 10–20 см. На однотипном участке собирают в 5–10 различных местах по 10–20 г, объединяя пробы в одну, общей массой не менее 100–200 г.

На территории одного объекта (усадебная, детская площадка и т. д.) берут 10 проб. Пробу помещают в закрытую стеклянную посуду или полиэтилено-

вый пакет. Внутри вкладывают этикетку с указанием места и условий отбора пробы. Пробы, доставленные в лабораторию, желательно исследовать немедленно, так как яйца ряда гельминтов или личинки могут погибнуть и разрушиться. Хранить пробы рекомендуется в холодильнике (5 °С) не более месяца.

Для исследования по методу Романенко [3] из общей пробы отбирают 25 г почвы, помещают в центрифужную пробирку вместимостью 250 мл и заливают 150 мл воды. Смесь тщательно размешивают стеклянной палочкой в течение 5 мин или с помощью электромешалки 1 мин.

Всплывшие крупные частицы сразу же удаляют. После центрифугирования в течение 3 мин при 800–1000 об./мин воду сливают, а в пробирки добавляют 150 мл насыщенного раствора нитрата натрия. Перемешивают и вновь центрифугируют 3 мин.

Пробирки устанавливают в штатив, доливают тем же раствором до образования выпуклого мениска, накрывают обезжиренным стеклом (размер 6 × 12 см) так, чтобы оно касалось слоя жидкости. Через 15 мин стекло снимают, на влажную поверхность добавляют несколько капель 50%-ного водного раствора глицерина и микроскопируют.

Выявление яиц гельминтов в пробах почвы авторским способом проводят по следующей схеме. Вначале готовят комбинированную флотационную смесь из трех ингредиентов: насыщенный раствор хлорида цинка (2 кг $ZnCl_2$ на 1 л воды); насыщенный раствор хлорида натрия (0,42 кг NaCl на 1 л воды); глицерин. Компоненты смешивают в равном соотношении. Всплывшие крупные частицы сразу же удаляют. После центрифугирования в течение 3 мин при 800–1000 об./мин воду сливают, а в пробирки добавляют 150 мл трехкомпонентной флотационной системы. Перемешивают и вновь центрифугируют 3 мин.

Пробирки устанавливают в штатив, доливают тот же раствор до образования выпуклого мениска, накрывают обезжиренным стеклом (размер 6 × 12 см) так, чтобы оно касалось слоя жидкости. Через 20–30 мин стекло снимают и микроскопируют. С целью повышения эффективности выявления яиц рекомендуется снятие препарата повторить 2–3 раза.

Результаты и обсуждение

При использовании разработанной методики был проведен сравнительный анализ методов исследования почвы: Романенко и разработанного метода выявления яиц гельминтов. В пробу песка искусственно вносили яйца *Ascaris suum*, *Toxocara canis* и *Ascaris lumbricoides* в количестве 100 яиц на 1 г песка. Яйца были получены из матки самок аскарид. Результаты сравнительного анализа с использованием яиц *A. suum* и *T. canis* приведены в таблицах 1 и 2.

1. Сравнение эффективности метода выявления яиц в пробах почвы с искусственным внесением яиц *A. suum* по Романенко и авторского способа

№ пробы	Выявлено яиц <i>A. suum</i>	
	методом Романенко	авторским методом
1	2	9
2	3	8
3	2	10
4	4	11
5	5	11
6	2	7
7	3	12
8	2	11
9	1	8
10	2	10
M±m	2,6±0,41	9,7±0,52

2. Сравнение эффективности метода выявления яиц в пробах почвы с искусственным внесением яиц *T. canis* по Романенко и авторского способа

№ пробы	Выявлено яиц <i>T. canis</i>	
	методом Романенко	авторским методом
1	2	13
2	3	14
3	2	10
4	4	12
5	5	12
6	2	11
7	3	13
8	2	11
9	1	12
10	2	9
M±m	2,6±0,41	11,7±0,41

Аналогичные результаты получены с использованием яиц аскарид, паразитирующих в кишечнике человека – *A. lumbricoides* (табл. 3).

3. Сравнение эффективности метода выявления яиц в пробах почвы с искусственным внесением яиц *A. lumbricoides* по Романенко и авторского способа

№ пробы	Выявлено яиц <i>A. lumbricoides</i>	
	методом Романенко	авторским методом
1	2	11
2	3	12
3	2	10
4	4	13
5	5	11
6	2	12
7	3	12
8	2	12
9	1	11
10	2	15
M±m	2,6±0,41	11,6±0,52

Эффективность методов выявления яиц в почве статистически достоверно отличается при оценке по критерию Стьюдента (уровне значимости 0,95) [6].

Разработанный нами метод позволил дополнительно выявить приблизительно 36 % яиц аскарид, чем по методу Романенко, что обусловлено применением флотации в многокомпонентной флотационной системе, использование которой положено в основу данного метода. Компоненты предлагаемой нами флотационной системы не нарушают морфологию яиц паразитов и не создают затруднений с морфологической идентификацией возбудителя. Каждый из них выполняет определенную функцию: хлористый цинк повышает плотность раствора; глицерин снижает время кристаллизации, увеличивая качество исследования; хлорид цинка снижает себестоимость анализа. Как правило, применение такого рода смесей позволяет повысить выявляемость яиц, ооцист и цист простейших, но требуется проведение оптимизации состава смеси к каждому конкретному случаю [2].

Таким образом, предлагаемый способ позволяет значительно повысить эффективность выявления яиц в пробах почвы по сравнению с методом Романенко и может быть использован на практике и при проведении научных исследований.

Авторский способ позволяет значительно повысить процент выявляемых в почве яиц аскарид и токсокар приблизительно в 4–5 раз по сравнению с ре-

комендованным в литературе способом. Кроме того, предлагаемый нами способ позволяет вдвое сократить время проведения анализа. Это делает оправданным использование предлагаемого нами метода на практике и при проведении научных исследований.

Работу по оценке комбинированного метода выявления яиц гельминтов проводили с мая по октябрь 2010 г. в районах города Казани. Результаты исследований приведены в таблице 4.

4. Результаты сравнительного исследования проб почвы комбинированным методом

Район	Место сбора	Комбинированный метод
Московский	ДП	Тохосара spp. – 3 яйца
	ДС «Энже»	Тохосара spp. – 1 яйцо
	ДС комбинированного вида 314	Тохосара spp. – 3 яйца
	ДС 291 (Жилплощадка)	Тохосара spp. – 1 яйцо
	ДП Парк моторостроителей	–
Кировский	ДС 313	2 яйца стронгилят
	ДС 169	Споры грибов
	ДС 356	Тохосара spp. – 1 яйцо
	ДС комбинированного вида 417	–
Авиастроительный	ДС 36	Свободноживущая нематода
	ДС 172	–
	ДС 392	–
Вахитовский	ДС 255	–
	ДС 312	Свободноживущая нематода
	ДС 34	Свободноживущая нематода
Приволжский	ДС 373	Циста простейших Тохосара spp. – 1 яйцо Trichocephalus spp. – 1 яйцо
	ДС 27	–
	ДС комбинированного вида 42	–
	ДП	1 яйцо стронгилят
Новосавиновский	ДС 122	1 яйцо стронгилят
	ДС 93	–
	ДС комбинированного вида 337	Свободноживущая нематода
Советский	ДС 305	1 яйцо стронгилят
	ДС 352	–
	ДС 290	–

Примечание. ДС – детский сад; ДП – детская площадка.

Из таблицы 4 следует, что процент выявления яиц гельминтов составляет почти треть от всех исследованных проб. Детские площадки Казани являются потенциальным источником заражения токсокарами, трихоцефалами и аскаридами. Кроме того, нами при исследовании проб почвы территории официальных пляжей «Локомотив», «Изумрудный», «Глубокое озеро» выявлены яйца токсокар.

В последнее время токсокароз занимает все более серьезное место в эпидемиологии тканевых гельминтозов человека и является важной причиной потери зрения. Вместе с тем, диагностика этой болезни у человека при жизни очень затруднена. В связи с этим, особенно важна профилактика болезни и борьба с токсокарозом плотоядных.

Разработанный нами способ диагностики гельминтозов плотоядных обладает гораздо более выраженной диагностической эффективностью по сравнению с используемыми аналогами (методы Фюллеборна и нативного мазка).

Известно, что собаки часто поражаются токсокарами и интенсивность заражения может быть у них очень высокой. Нами отмечена смешанная инвазия, вызванная *T. canis* и *Toxascaris leonina*.

Установлено, что детские площадки г. Казани являются потенциальным источником заражения людей такими паразитами как токсокароз, трихоцефалез и аскаридоз.

Литература

1. Kozyreva T.G., Semenova T.A. Problema toksokaroza na Dal'nem Vostoke i puti ee reshenija // Med. parazit. i parazit. bol. – 2002. – № 3. – S. 16–18.
2. Lutfullin M.H., Latypov D.G., Kornishina M.D. Gel'minto-koproskopicheskie issledovaniya zhivotnyh. – Kazan', 2002. – 24 s.
3. МУК 4. 2. 796-99. «Metody sanitarno-parazitologicheskikh issledovanij».
4. Oshevskaia Z.A., Derzhavina T.Ju., Terina G.P. i dr. Toksokaroz v Tull'skoj oblasti // Med. parazit. i parazit. bol. – 2003. – № 1. – S. 30–32.
5. Poljakov V.E., Lysenko A.Ja. Gel'mintozy u detej i podrostkov. – M.: Medicina, 2003. – S. 64–76.
6. Savilov E.D., Mamonova L.M., Astaf'ev V.A., Zhdanova S.N. Primenenie statisticheskikh metodov v jepidemiologicheskom analize. – M.: MED-pressinform, 2004. – S. 21–26.
7. Sergiev V.P., Lobzin Ju.V., Kozlova S.S. i dr. Parazitarnye bolezni cheloveka (protozoozy i gel'mintozy). – S.-Peterburg: Foliant, 2008. – S. 124–616.
8. Slobodenjuk A.V., Kosova, A.A., Rukoleeva S.I. Osobennosti rasprostraneniya toksokaroza na territorijah sel'skogo i gorodskogo tipov // Med. parazit. i parazit. bol. – 2005. – № 3. – S. 36–39.
9. Sokolina F.M., Belova A.A. Nematodozy naselenija Respubliki Tatarstan // Tr. Vseros. in-ta gel'mintol. – M., 2006. – T. 43. – S. 20–25.
10. Urkhart G., Jermur Dzh., Dunkan Dzh. i dr. Veterinarnaja parazitologija. – M.: Akvarium, 2000. – S. 87–92.
11. Janovich V.A., Brjunetkina N.M. Issledovanie pochvy na nalichie jaic toksokar v Evrejskoj avtonomnoj oblasti (EAO) // Med. parazit. i parazit. bol. – 1999. – № 3. – S. 29–30.
12. Dolbin D.A., Lutfullin M.H., Latypov D.G. Sravnitel'naja jeffektivnost' razlichnyh gel'mintoovoskopicheskikh metodov dlja diagnostiki neoaskaridoza teljat // Tr. Vseros. in-ta gel'mintol. – 2005. – T. 41. – S. 154–160.
13. Dolbin D.A., Agafonova E.V., Smirnova L.R., Hazieva S.M. Puti uluchsheniya kachestva laboratornoj diagnostiki gel'mintozov // Kazmed zh. – 2007. – T. LXXXVIII, № 4. – S. 398–402.

Examination of soil for the presence of helminths eggs

D.A. Dolbin

PhD in biological sciences

Kasan Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 420015,
Kasan, Bolshaya Krasnaya 67, email: dda_sns@mail.ru

M.H. Lutfullin

doctor of veterinary sciences

Kasan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman,

420029, Kasan, Sibirsky tract , 35, e-mail: parasitology-kazan@mail.ru

F.M. Sokolina

doctor of biological sciences,

academician of International Pedagogical Academy

Kasan (Privolzhsk) Federal University 42008, Kasan, ul. Kremlevskaya, 18,

e-mail: fsokolin@kpfu.ru

The method of research of tests of the soil on eggs of helminths which surpasses the method of Romanenko offered earlier in the efficiency is offered and can be used in practice and when carrying out scientific researches. This method was applied to inspection of objects of environment of Kazan city and allowed to reveal big impurity eggs of geohelminths. The developed method allowed to reveal in addition about 36 % of eggs of ascarids than on Romanenko's method that is caused by application of several components in flotation liquid: solutions of chloride of zinc and sodium chloride and glycerin. Components of the flotation liquid don't break morphology of eggs of parasites and don't create difficulties with morphological identification of the helminths.

Keywords: eggs, helminths, soil, contamination, Republic of Tatarstan.