

На правах рукописи

АНДРЕЯНОВ
Олег Николаевич

**ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ЦИРКУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТРИХИНЕЛЛЕЗА В
ЦЕНТРАЛЬНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ И
ОПТИМИЗАЦИЯ МЕР БОРЬБЫ**

Специальность: 03.02.11 – паразитология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора ветеринарных наук

Москва – 2014

Работа выполнена в ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина» Россельхозакадемии

Научный консультант:

- член-корреспондент Россельхозакадемии, доктор ветеринарных наук, профессор
УСПЕНСКИЙ Александр Витальевич

Официальные оппоненты:

- **Кротенков Владимир Павлович**, доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории ветеринарной медицины ГНУ «Смоленский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» РАСХН

- **Белозеров Сергей Николаевич**, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры эпизоотологии, паразитологии и патанатомии ФГБОУ ВПО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия»

- **Сивкова Татьяна Николаевна**, доктор биологических наук, доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВПО «Пермская государственная сельскохозяйственная академия им. академика Д.Н. Прянишникова»

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Дагестанский государственный аграрный университет имени М.М. Джамбулатова»

Защита диссертации состоится «11» июня 2014 г. в 10³⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук Д 006.011.01, созданного на базе ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии имени К.И. Скрябина» Россельхозакадемии

Адрес: 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ ВИГИС и на сайте:
<http://www.vniigis.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2014 г.

Учёный секретарь совета по защите диссертаций
на соискание учёной степени кандидата наук,
на соискание учёной степени доктора наук,
д.б.н., профессор

Бережко Вера Кузьминична

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Учение о природной очаговости трансмиссивных паразитарных болезней академика Е.Н. Павловского (1955) получило в настоящее время широкое развитие. При детальном изучении вопросов эпизоотологии и эпидемиологии многие паразитозы в настоящее время отнесены к болезням природной очаговости (малярия, лейшманиоз, альвеококкоз, дирофиляриоз и др.). Резервуаром и депонирующим звеном в распространении возбудителей этих заболеваний оказались дикие животные. В группу природноочаговых болезней домашних животных и человека входят также некоторые опасные гельминтозы.

Природным очагом гельминтоза следует считать только тот, где возбудитель болезни циркулирует среди диких животных – хозяев, без участия сельскохозяйственных и домашних млекопитающих. Другими словами, природный очаг – это те биотопы или ландшафтные зоны, где экологические и особенно биоценотические связи обуславливают передачу возбудителя от его источника к восприимчивому животному без участия сельскохозяйственных животных и человека (Н.А. Филиппова, М.П. Мухаммаддулов, 1984).

Типичным природноочаговым гельминтозом является трихинеллез. Несмотря на то, что данный гельминтозоноз известен с 60-х годов XIX века, а возбудитель трихинеллезной инвазии *Trichinella spiralis* был открыт более 175 лет тому назад, до сих пор не разработаны радикальные профилактические меры и методы борьбы, надежно предохраняющие население и домашних животных от этой инвазии.

В настоящее время приоритетными направлениями науки в изучении эпизоотологических аспектов трихинеллеза остаются уровень и территориальность распространения возбудителя, широта полигостальности, резервуарные хозяева возбудителя. Современные данные по экологии, биологии, таксономии, номенклатуре трихинелл, выделенных от разных популяций млекопитающих и птиц, предполагают под собой усовершенствование имеющихся или разработку новых методов и средств профилактики инвазии (А.М. Асатрян, 1987; Ю.А. Березанцев, 1972; А.С. Бессонов, 1972; С.Н. Боев, В.А. Бритов, 1978; А.А. Богуш, 1985; В.А. Бритов, 1982; Б.Л. Гаркави, 1996; Н.Е. Косминков, 1961; Р.А. Пенькова, З.А. Ошевская, 1988; А.Я. Сапунов, 1992; А.В. Успенский, 2000; В.А. Ромашов и др., 2000; M. J. Ribicich, et al., 2007; I.L. Owen et al., 2005; L. Oivanen, A. Oksanen, 2007).

О возрастающей роли диких промысловых животных в распространении этой инвазии у домашних животных и среди населения свидетельствует анализ эпизоотической и эпидемической обстановки по трихинеллезу в Российской Федерации (А.С. Бессонов, 1996; С.Н. Боев, В.А. Бритов, 1978; В.А. Бритов, 1982; Н.М. Городович, С.Н. Городович, 2009; Б.В. Ромашов и др., 2006; Н.В. Свеженец и др., 2009).

Согласно последним исследованиям, проведенным в теоретическом и практическом направлениях, выяснены некоторые ранее неизвестные биологические свойства и особенности трихинелл, циркулирующих в природных биотопах. Стало известно, что трихинеллез носит очаговый характер только в синантропном биоценозе, а в условиях природы эта инвазия распространена повсеместно, охватывая широкий круг хозяев: млекопитающих и птиц, в том числе

резервуарных (механических) переносчиков. В последние годы установлено, что возбудители – *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. murrelli*, *T. nelsoni*, *T. pseudospiralis* и другие систематизируются как изоляты, варианты и штаммы, которые морфологически и генетически разнородны между собой. Б.Л. Гаркави (2007), С.Н. Боев, В.А. Бритов (1978) возводят варианты в ранг самостоятельных видов. Результаты некоторых исследований в изучаемых разделах биологии и экологии трихинелл в системе «паразит – хозяин» остаются дискуссионными и неясными.

Современные данные по распространению трихинелл и уровню инвазированности их хозяев в природном и синантропном биоценозах свидетельствуют об актуальности комплексного исследования особенностей циркуляции возбудителя трихинеллеза в Центральном регионе России и усовершенствования профилактических мероприятий.

Цель и задачи исследований. Целью настоящей работы явилось выявление и определение биологических и экологических факторов, способствующих циркуляции возбудителя трихинеллеза среди промысловых животных в условиях природного биоценоза на территории Центрального региона России, оптимизация лабораторной диагностики на трихинеллез, усовершенствование системы профилактических противотрихинеллезных мероприятий. Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

- провести комплексное исследование и анализ эпизоотологической ситуации по трихинеллезу в Центральном регионе России;
- определить степень распространенности трихинеллеза среди промысловых животных на исследуемой территории;
- выявить наличие основных источников, путей и факторов, способствующих передаче и распространению трихинеллезной инвазии;
- исследовать резистентность циркулирующих изолятов трихинелл к температурным факторам;
- выявить биологические особенности циркулирующих видов трихинелл;
- изучить эффективность и перспективность применения методики послеубойной (посмертной) диагностики трихинеллеза диких животных в экспериментальных условиях;
- оптимизировать методы профилактических мероприятий при трихинеллезе.

Научная новизна. Мониторинг современной эпизоотической ситуации и уточнение географического распространения трихинеллезной инвазии в Центральном регионе России позволили выявить спектр животных, обитающих на территории охотхозяйств, заказников, вблизи сельских населенных пунктов, и аккумулирующих гельминтозную инвазию.

В условиях природного биоценоза экспериментально подтверждена циркуляция инвазии с участием насекомоядных животных. Лабораторными и полевыми исследованиями установлено заражение личинками капсулообразующих трихинелл микромаммалий с участием насекомых-трупоедов и их личинок.

Изучены особенности биологии и экологии возбудителя трихинеллеза с участием механических переносчиков инвазии в различных природных биоценозах Рязанской и Московской областей, оказывающих влияние на его распространение.

В условиях естественного биоценоза экспериментально выявлен и конкретизирован перечень насекомых, являющихся носителями инвазионных личинок трихинелл, изъятых с тушек естественно инвазированных животных. Установлены сроки пребывания личинок трихинелл в организме насекомых-падальщиков.

Получены новые данные по устойчивости возбудителя трихинеллеза в мышечной ткани тушек и шкурок естественно инвазированных животных при различных температурных режимах.

Впервые описано анатомо-топографическое распределение (расселение) личинок капсулообразующих трихинелл в мышечном слое подкожной клетчатки шкур пушных зверей, естественно инвазированных трихинеллами.

Определена эффективность ряда современных протеолитических препаратов при посмертном диагностическом исследовании на трихинеллез мышечной ткани методом искусственного переваривания в лабораторных условиях.

Предложены оптимизированные методы обезвреживания личинок трихинелл в тушках естественно инвазированных промысловых животных.

Практическая значимость работы. Научные разработки автора вошли в следующие нормативные документы:

1. «Методика определения жизнеспособности личинок *Trichinella spiralis* и *T. pseudospiralis*» (рассмотрены и одобрены секцией «Инвазионные болезни» РАСХН 22.05.2009 г.)

2. «Методические положения по обезвреживанию личинок трихинелл методом глубокого замораживания в тушках некоторых промысловых животных» (рассмотрены и одобрены секцией «Инвазионные болезни» РАСХН 04.03.2011 г.).

3. «Методические положения по профилактике трихинеллеза животных в охотничьих хозяйствах» (рассмотрены и одобрены секцией «Инвазионные болезни» РАСХН 28.02.2013 г.).

4. Патент № 2489026 на изобретение «Способ обезвреживания личинок трихинелл методом замораживания в тушках некоторых пушных зверей». Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 10.09.2013 г.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и одобрены на: Объединенных сессиях Координационного совещания по ветеринарной паразитологии, Центрального совета Общества гельминтологов РАН и секции «Инвазионные болезни» РАСХН (г. Москва, 2012-2013), Всероссийской научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» (г. Москва, 2007-2013), Международной научной конференции «Современные проблемы общей паразитологии» (г. Москва, 2012), на совещаниях ветеринарных специалистов областной, межрайонной станций по борьбе с болезнями животных и государственных ветеринарных лабораторий Государственной инспекции по ветеринарии (г. Рязань, г. Касимов, 2013), на отчетных научных конференциях ВИГИС (2007-2013 гг.), на Всероссийском вебинаре в ФГБУ Центре Ветеринарии (30 октября 2013 г., г. Москва) и представлены на Всероссийской научно-практической конференции «Научное обеспечение устойчивого развития отраслей животноводства Российской Федерации» (г. Новочеркасск, 2012), Международной юбилейной научно-практической конференции, посвященной 45-летию

ГНУ Прикаспийского зонального научно-исследовательского ветеринарного института «Проблемы ветеринарной медицины в условиях реформирования сельскохозяйственного производства» (г. Махачкала, 2012), 5 Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологии и медицины» (г. Ростов-на-Дону 3-5 октября 2013 г.), 2-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биоэкологическое краеведение: мировые, российские и региональные проблемы» (г. Самара, 14 октября 2013 г.).

Основные положения, выносимые на защиту:

- Современные географические и экологические аспекты эпизоотологии трихинеллеза в условиях Центрального региона России.
- Насекомые-трупоеды и их личинки – механические переносчики трихинеллезной инвазии.
- Насекомоядные животные как источник распространения трихинеллеза в природном биоценозе.
- Устойчивость мышечных личинок трихинелл к температурным факторам.
- Биологические особенности видов трихинелл, циркулирующих в природной биоценозе Центрального региона России.
- Дифференциальная диагностика трихинеллеза диких промысловых животных.
- Эффективность некоторых современных протеолитических препаратов при посмертной диагностики на трихинеллез.
- Оптимизирование системы профилактических противотрихинеллезных мероприятий.

Публикации. По материалам исследований опубликовано 34 научно-исследовательских работ, в том числе 14 в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ для докторских диссертаций, в которых изложены основные положения диссертации. Остальные 16 работ опубликованы в материалах научно-исследовательских конференций ветеринарных и биологических учреждений. Разработаны одна методика, два методических указания, получен патент на изобретение.

Личный вклад соискателя. Представленная диссертационная работа является результатом восьмилетних исследований автора, выполненных во Всероссийском научно-исследовательском институте гельминтологии им. К.И. Скрябина, в городах Рязань, Калуга, Касимов, Тверь, в сельских населенных пунктах, в государственных, муниципальных и частных ветеринарных учреждениях, в заказниках, охотхозяйствах Нижегородской, Московской, Рязанской и Владимирской областей. В диссертационный совет представлены справки от соавторов об отсутствии заимствования их данных в диссертации.

Выражаем искреннюю благодарность ветеринарным специалистам государственных, муниципальных и частных ветеринарных учреждений, специалистам охотхозяйств и охотникам-любителям Владимирской, Московской, Нижегородской, Рязанской и Тверской областей за оказанную помощь в сборе материала для исследований.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 280 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 46 таблицами и 52 рисунками.

Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований (2 главы), заключения, общих выводов, практических предложений и приложения. Список литературы включает 405 источников, из которых 269 отечественных и 136 иностранных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящая работа выполнена на базе ГНУ ВИГИС Россельхозакадемии в период с 2006 г. по 2013 г.

Материалом для исследования служили потенциальные хозяева трихинелл: млекопитающие, пресмыкающиеся, насекомые, добытые на территории Владимирской (Гусь-Хрустального района), Московской (Орехово-Зуевского, Павлово-Посадского, Дмитровского районов), Нижегородской (Выксунского района) и Рязанской областей из естественных и агроэкосистем. Основное количество материала собрано в Рязанской области в 13 административно-территориальных образованиях: Касимовском, Клепиковском, Кораблинском, Ухоловском, Сапожковском, Сараевском, Спасском, Пителинском, Путятинском, Ряжском, Чучковском, Шацком и Шиловском районах. Объектами исследования были:

1. Взрослые и личиночные формы развития гельминтов - трихинелл;
2. Потенциальные и транзитные хозяева личинок трихинелл – млекопитающие, беспозвоночные.

В ходе работы изучены различные группы хозяев трихинелл – млекопитающие (23 вида) и насекомые (13 видов). Из состава млекопитающих исследовались (соответственно на уровне отрядов и видов) – **грызуны**: ондатра (7 экз.), речной бобр (12 экз.), заяц-беляк (28 экз.), серая крыса (35 экз.), водяная полевка (12 экз.), рыжая полевка (3 экз.), лесная мышовка (5 экз.); **насекомоядные**: обыкновенная бурозубка (6 экз.), малая бурозубка (21 экз.), ушастый еж (8 экз.) кутора (3 экз.); **хищники**: обыкновенная лисица (283 экз.), волк (7 экз.), енотовидная собака (27 экз.), лесная куница (38 экз.), каменная куница (21 экз.), барсук (4 экз.), горноста́й (7 экз.), черный хорь (3 экз.), хорь степной (1 экз.), домашняя собака (17 экз.), домашняя кошка (4 экз.); **парнокопытные**: кабан (27 экз.). Из состава насекомых исследовались непосредственно **падальщики**: личинки серой, синей и зеленой мясных мух (364 экз.), мертвоеды большие (106 экз.), жуки-могильщики (76 экз.), красногрудые мертвоеды (153 экз.), кожееды ветчинные и их личинки (59 экз.), катопсы (2 экз.) и троксы (1 экз.); **жуки-хищники**: точечник блестящий (34 экз.), жук - хищник неопределенного вида (13 экз.), хищник серый (26 экз.), хищник рыжий (53 экз.), карапузик одноцветный (23 экз.).

За указанный выше период было исследовано 579 экз. млекопитающих, в том числе насекомоядных – 38 экз., хищников – 412 экз., грызунов – 102 экз. и парнокопытных – 27 экз.; 807 экз. насекомых, в том числе падальщиков 661 экз. и хищников 146 экз., обитающих в Центральном регионе России.

Видовую принадлежность млекопитающих (хищников, парнокопытных, насекомоядных, грызунов и др.) устанавливали по биолого-зоологическим определителям (Е. В. Карасёва, А. Ю. Телицина, 1996; С.В. Крускоп, 2002;

А.Д. Нумеров и др., 2010). Гельминтологическое вскрытие животных и беспозвоночных проводили, по методикам, изложенным в трудах В.М. Ивашкина и др. (1971), Г.А. Котельникова (1984, 1991) и В.С. Аникановой и др. (2007).

Отлов микромаммалий осуществляли, руководствуясь методиками Е.В. Карасёвой и А.Ю. Телициной (1996). Мелких хищников добывали по разовым лицензиям в капканы, живоловки, ловушки, конусы и петли на территориях охотхозяйств (С.А. Корытин, 2013; Д.С. Одинцов и др., 2009). Полученный материал от крупных хищников и парнокопытных животных забирали частично или целиком после отстрела (отлова) у охотников, егерей в период сезона по добыче зверя из охотобществ и домов охотников и рыболовов.

Для исследования кабанов на трихинеллез и другие гельминтозы были заключены договоры о научном сотрудничестве с Государственным учреждением Национальный парк "Мещера" (Владимирская область) и Государственное опытное охотничье хозяйство «Мещера» (Рязанская область). От добытых животных отбирали внутренние органы, содержимое желудочно-кишечного тракта, упаковывали материал в пакеты и привозили для исследования в проблемную лабораторию.

Свежедобытые тушки после регуляционных мероприятий и учетных исследований забирали у охотинспекторов. Незначительную часть трупов животных подбирали во время падежа от эпизоотий или после автомобильных аварий.

Диагностику и выделение личинок возбудителя трихинеллеза из образцов мышечной ткани животных проводили методами компрессорной трихинеллоскопии и переваривания в искусственном желудочном соке (ИЖС), руководствуясь общепринятыми в ветсанэкспертизе методами МУК 4.2.2747 – 10 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы мяса и мясной продукции». Для пептолиза образцов применяли как классический метод, в котором переваривание проводили без активации среды в течение 16-18 часов, так и аппаратный метод – на приборе «Гельми» в течение 35 минут. Компрессориум и часовые стекла с выделенным осадком при первичном исследовании микроскопировали под микроскопом МБС-10 при увеличении $\times 16 - 32$.

Для определения количественных и качественных показателей инвазированности и накопления личинок трихинелл у естественно зараженных хозяев применяли индексы: ЭИ, ИИ, ИО (В.Н. Беклемишев, 1970):

Экстенсивность инвазии (ЭИ) – встречаемость трихинелл, определяли как соотношение количества зараженных хозяев к общему числу обследованных животных и исчисляли в процентах (%);

Интенсивность инвазии (ИИ) хозяина определяли по количеству обнаруженных личинок трихинелл в 1 грамме икроножной группы мышц (лич./г, экз./г). Также с помощью этой методики изучали места локализации личинок трихинелл в различных группах мышц у разных видов хозяев – млекопитающих. Для этого исследовали 25 основных скелетных мышц от четырех видов широко распространенных хозяев – хищников, принадлежащих к 2 семействам: псовым *Canidae* (обыкновенная лисица – 2 экз., енотовидная собака – 1 экз.) и куньим *Mustelidae* (каменная и лесная куницы – по 1 экз.);

Индекс обилия (ИО) – среднее количество трихинелл у всех особей определенного вида хозяина, включая незараженных.

Съем и первичную обработку шкурок пушных зверей, этапы технологии выделки, а также исследования мездры проводили, руководствуясь Наставлениями по технологии первичной обработки шкурок клеточных пушных зверей В.А. Берестова (2002).

Для постоянного поддержания инвазионного материала в качестве источника воспроизводства, накопления и сохранения изолятов трихинелл использовали белых беспородных крыс и мышей. Пассирование капсулообразующих изолятов трихинелл, полученных от естественно инвазированных хищников, и подсчет дозы задаваемых личинок проводили по Методике получения и наработки трихинеллезного антигена (Ф.К. Скворцова, 2006).

Изучение некоторых биологических свойств возбудителя трихинеллеза (приживаемости, плодовитости, резистентности к отрицательным температурам, трансплацентарной и лактогенной передачи инвазии) проводили на белых беспородных мышах и крысах, аутбредных крысах Wister, линейных (инбредных) мышах линий C57BL/6J и DBA/2J, кроликах породы Советская Шиншилла, свиньях породы Крупная белая.

Приживаемость трихинелл определяли как соотношение числа половозрелых нематод зарегистрированных в кишечнике на 7-10 сутки опыта, к числу введенных *per os* и исчисляли в процентах (%). Половозрелых трихинелл у крупных хозяев регистрировали с помощью аппарата Бермана. У мелких животных раскладывали кишечник на компрессориум и подсчитывали наличие взрослых нематод при микроскопировании под увеличением $\times 10-30$.

Интенсивность заражения трихинеллами (ИИ) устанавливали на 50-е сутки после инвазирования методом искусственного ферментирования.

Устойчивость мышечных личинок трихинелл к низким температурам была изучена при температуре минус $12\pm 2^\circ\text{C}$, минус $24\pm 2^\circ\text{C}$ и минус $70\pm 2^\circ\text{C}$ в бытовых холодильниках марки Liebherr (Comfort) и биомедицинском морозильнике модели MDF U-3086 S.

Трансплацентарную (вертикальную) и лактогенную передачу личинок трихинелл проводили на беременных самках лабораторных животных. В определенные сроки беременным животным вводили личинок трихинелл, а через 45 дней после экспонирования исследовали новорожденное потомство на наличие гельминта.

Физиологическое состояние личинок трихинелл изучали по Методике определения жизнеспособности и инвазионности личинок трихинелл (Ф.К. Скворцова, О.Н. Андреев, Л.А. Гребенкина, 2009), исследуя видимые морфологические показатели личинок возбудителя и биологическую пробу на лабораторных грызунах.

Видовую принадлежность насекомых и их личинок устанавливали по определителям насекомых Европейской части России (Г.Я. Бей-Биенко, 1969; Н.Н. Плавильщиков, 1994). Для определения транзитной передачи личинок трихинелл имаго насекомых и их личинок, собранных с трупов инвазированных животных, исследовали согласно методическому пособию Г.А. Котельникова

(1991, 1986). Практические методы сбора и учета насекомых в различных биотопах на протяжении теплого периода года проводили по учебно-полевому пособию Н.Г. Кременецкого (1959) с помощью энтомологических игл и пинцетов. Препарирование насекомых проводили после аутамназии хлороформом (Е.И. Лукин, 1981). Сезонную активность детритофагов изучали на протяжении всего теплого периода года (с апреля по ноябрь или до наступления первых морозов).

При исследовании методом искусственного пептолиза использовали пепсины отечественного и зарубежного производства. Эффективность методов определяли на охлажденной и после технологической обработки (горячее копчение) мышечной ткани экспериментально инвазированных лабораторных животных (беспородных белых крысах и свиньях крупной белой породы). Искусственный желудочный сок готовили по рецептуре согласно МУК 4.2.2747-10 и Методическим указаниям по лабораторной диагностике трихинеллеза животных.

С каждым из пепсинов указанных наименований отдельно готовили искусственный желудочный сок по методике, предложенной В.А. Владимировой (1965) и предусматривающей в весовом отношении 1% соляной кислоты (уд. вес. 1,175, «ЧДА» ГОСТ 3118-77, партия 12), 3% пепсина на 100 мл воды. Приготовленный ИЖС заливали в стеклянную колбу с фаршем, содержащим личинки трихинелл (мясо, пропущено через мясорубку с диаметром отверстий 3-4 мм). Соотношение сока к массе фарша брали 25:1 и выдерживали в термостате при температуре 37°C в термостате и 42°C в аппарате «Гельми». По истечении определенного времени проводили фильтрацию «перевара» и определяли массу непереваренного остатка мышечной ткани. Результаты пептолиза оценивали по разнице навески мясного фарша до постановки биохимической реакции и после, а также учитывали выход мышечных личинок трихинелл из мышечной ткани.

Обезвреживание трихинеллезного материала в лаборатории проводили с помощью метода глубокого замораживания в биомедицинском морозильнике модели MDF (SANYO): закладку трупов животных осуществляли при температуре минус 70°C на протяжении 24 часов. В полевых условиях инактивацию инвазионного материала проводили путем сжигания трупов и мездры шкур на ветеринарном участке (в Нарофоминском районе Московской области) в трупосжигательной печи (крематоре) типа УД50.

Микроморфометрические исследования трихинелл и измерения с микрофотографированием объектов в препаратах выполняли с помощью микроскопов модели Motic, цифрового стереоскопического микроскопа Nikon YS 100, микровизора Vizo-101 при увеличениях $\times 10 - 2000$.

Статистическую обработку собранных и собственно полученных данных проводили общепринятыми методами (Г.Ф. Лакин, 1990). Основные данные были подвергнуты математической и статистической обработке (В.П. Боровиков, 2001) с использованием персонального компьютера и программного обеспечения «Statistica», «MEDSTAR», OpenOffice.org. Для обработки экспериментальных данных использовали параметрический критерий t (Стьюдента).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ТРИХИНЕЛЛЕЗНОЙ ИНВАЗИИ В ЦЕНТРАЛЬНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

Современное состояние изученности природно-очаговых гельминтозоонозов Центрального региона России

Исследуя диких хищных млекопитающих семейства Псовых (*Canidae*) на территории Центрального региона нами зарегистрировано 24 вида паразитов, из которых 13 (54,7%) являются зоонозами (О.Н. Андреянов, Р.Т. Сафиуллин, В.В. Горохов, Е.Н. Крючкова, Б.Г. Абалихин, С.В. Буслаев, 2009; О.Н. Андреянов, 2013 в). Собаки городской популяции заражены 10 видами паразитов (у бродячих и беспородных собак обнаружено 9 видов, у декоративных – 4, служебных – 8, охотничьих – 10), среди которых 5 видов зоонозы.

Что касается трематодозов промысловых хищников, то на исследуемой территории зарегистрировано 3 вида возбудителя гельминтозооноза семейства *Opisthorchidae*: *Opisthorchis felineus*, *Pseudamphistomum truncatum*, *Metorchis albidus*, имеющих эпидемическое и эпизоотическое значение.

Новые данные получены в отношении зоонозных цестодозов, обнаруженных на территории Московской и Рязанской областей. Биологический цикл, как известно, реализуется по диксенной схеме (двуххозяинный цикл развития).

При исследовании туш пушных зверей в течение 2002-2013 гг. был обнаружен возбудитель *Dirofilaria repens* в подкожной клетчатке обыкновенных лисиц.

Кроме того, на территории Рязанской области зарегистрированы гельминтозы, характерные для синантропного биоценоза, но циркулирующие как природно-очаговые в условиях природы. К подобным инвазиям можно отнести фасциолез (*Fasciola hepatica*), токсокароз (*Toxocara canis*, *T. mystax*) и другие. Возбудители перечисленных инвазий найдены у кабанов, волков, лисиц, куниц, горностаев.

Эколого-географический анализ циркуляции возбудителя трихинеллеза в природном биоценозе

При установлении видовой принадлежности капсулообразующих трихинелл методом ПЦР-диагностики были идентифицировано 2 вида (табл. 1): *Trichinella spiralis* у енотовидной собаки, лесной куницы (Рязанская область) и барсука (Нижегородская область), *T. nativa* у обыкновенной лисицы (Рязанская область) (А.В. Тулов, М.И. Звержановский, Т. Янагида, С.В. Коняев, О.Н. Андреянов, А.В. Малкина, В.А. Однокурцев, А.Я. Бондарев, И.В. Середкин, Н.В. Есаулова, М. Накау, Я. Сако, А. Ито, 2013).

В результате трихинеллоскопических исследований животных, обитающих в 3-х районах Московской области (Орехово-Зуевском, Павлово-Посадском, Дмитровском) инвазию обнаружили в Дмитровском районе у каменной куницы. Интенсивность инвазии составила 47 личинок капсулообразующего вида трихинелл в 1 грамме икроножной группы мышц.

В Нижегородской области выявлено наличие возбудителя *Trichinella spiralis* в мышечной ткани барсука, отстреленного в Выксунском районе охотниками. Интенсивность трихинеллезной инвазии составила 38 личинок в 1 грамме мышц.

На территории национального парка «Мещера», расположенного в Гусь-Хрустальном районе Владимирской области, были добыты лисица обыкновенная и волк, инвазированные капсулообразующим видом трихинелл. Интенсивность инвазии трихинеллами составила 3 и 12 личинок в 1 грамме икроножной группы мышц соответственно.

На примере Рязанской области можно проанализировать неблагоприятную ситуацию по трихинеллезной инвазии у охотничье-промысловых животных. Так, трихинеллез животных выявлен в 10 из 13 обследованных районов (76,9%). Исследуя административные единицы области по данному зоонозу, наибольшее неблагоприятное было выявлено в Касимовском, Ухоловском и Шиловском районах, где установлено наибольшее разнообразие видов и количество инвазированных животных. ЭИ млекопитающих трихинеллами составила от 5,5 до 55,0%. Интенсивность инвазии у зверей была неодинаковой. У лисиц она колебалась от 2 до 44, у куниц от 1 до 63, у енотовидных собак от 4 до 39 личинок на 1 грамме икроножной группы мышц.

Таблица 1

Трихинеллезная инвазия промысловых животных в
Центральном регионе России

Район проведения исследований	Хозяева трихинелл	Вид возбудителя инвазии
Владимирская область	Млекопитающие семейства Псовые (<i>Canidae</i>)	род <i>Trichinella</i> , неидентифицированный капсулообразующий вид
Московская область	Млекопитающие семейства Куны (<i>Mustellidae</i>)	род <i>Trichinella</i> , неидентифицированный капсулообразующий вид
Нижегородская область	Млекопитающие семейства Куны (<i>Mustellidae</i>)	<i>Trichinella spiralis</i>
Рязанская область	Млекопитающие отряда Хищных (<i>Carnivora</i>) семейства Псовые (<i>Canidae</i>), семейства Куны (<i>Mustellidae</i>)	<i>Trichinella spiralis</i> , <i>T. nativa</i> , неидентифицированные капсулообразующие виды возбудителя

Видовой состав млекопитающих – потенциальных хозяев трихинелл

Трихинеллоскопическому исследованию было подвергнуто 23 вида животных, являющихся представителями дикой фауны, в количестве 583 голов. Из всего обследованного поголовья животных у 79 млекопитающих были обнаружены личинки трихинелл, что составило 13,6% от общего числа животных.

Из 102 обследованных грызунов, принадлежащих к 7 видам, не выявлено ни одного животного, инвазированного личинками трихинелл. Пробы мышечной

ткани, полученные от 38 насекомоядных животных, принадлежащих к 4 видам, также оказались свободными от личинок трихинелл.

Из отряда хищных мы исследовали 3 семейства, 2 из которых включали в себя виды животных, зараженных капсулообразующими видами трихинелл. Так, из 4 видов млекопитающих семейства псовые 3 вида (75,0%) были инвазированы трихинеллами. Из 283 обыкновенных лисиц личинками гельминта было заражено 54 головы (19,1%). У одного волка из 7 обследованных (14,3%) пробы мышечной ткани содержали личинки трихинелл в капсулах. Из 27 енотовидных собак 4 головы (14,8%) оказались инвазированными зоонозом. 17 породистых собак, содержащихся в вольерах охотхозяйств и подсобных крестьянско-фермерских помещениях охотников, рыбаков, фермеров, были свободными от личинок трихинелл.

У животных семейства куньих 3 из 6 обследованных видов (50,0%) оказались носителями личинок капсулообразующих трихинелл. Трихинеллезная инвазия была обнаружена у 7 каменных (33,3%), 12 лесных (31,6%) куниц и одного барсука (12,5%).

Семейство кошачьих было представлено в одном виде – кошка домашняя, у которой не выявили личинок возбудителя трихинеллеза.

В ходе исследования 27 кабанов, отстреленных в Касимовском и Клепиковском районах Рязанской области (РООиР «Касимовское» и ГООХ «Мещера»), был получен отрицательный результат на трихинеллез. Основное поголовье парнокопытных, подвергнутое исследованию, составил молодняк возрастом 1-2 года. Так как животные были добыты в зимний период путем отстрела с вышек возле прикормовых площадок, в их желудках оказались растительные корма (шелуха культур овса, ячменя).

Согласно данным областной ветеринарной лаборатории, за 2013 г. в Рязанской области было выявлено 7 из 322 голов кабанов (2,17%), инвазированных капсулообразующим видом трихинелл (табл. 2).

Таблица 2

Инвазированность кабанов трихинеллезом в Рязанской области

Район области	Охотхозяйство	Исследовано, голов	Выявлено, голов	ЭИ, %	Пол и возраст животных	ИИ, л/г
Касимовский	Бойшевское	8	3	37,5	1 ♀, 2 ♂, 3-5 лет	8-42
	Головановское	2	1	50,0	♀, 4 года	12
	Часловское	3	1	33,3	♂, 5 лет	0,33
Клепиковский	Прудковская территориальная инспекция	1	1	100	♂, 5 лет	0,25
	Тумское	1	1	100	♀, 6 лет	5

Неблагополучие по гельминтозоозу выявлено в Касимовском и Клепиковском районах области. В Касимовском районе инвазированных животных добыли в Бойшевском (3 головы), Часловском (1 голова), Головановском (1 голова) охотхозяйствах. В Клепиковском районе было выявлено 2 животных (♀ и ♂, возрастом 3-5 лет) инвазированных трихинеллезом. Причем Прудковской охотинспекцией туша кабана, добытая из ГООХ «Мещера» Клепиковского района, была изъята у браконьеров. При исследовании проб мышечной ткани всеядных животных нами выявлена ИИ трихинеллами от 0,25 до 42 личинок на 1 грамм мышечной ткани. Пробы мышечных волокон были взяты из ножек диафрагмы животных.

Мониторинг трихинеллеза в условиях природного биоценоза

С 2006 по 2013 гг. нами был проведен мониторинг трихинеллезной инвазии у обыкновенной лисицы на примере Рязанской области (О.Н. Андреев, 2012 в). Неблагополучие по зоонозу было выявлено в 10 из 13 исследуемых районов области (рис. 1).

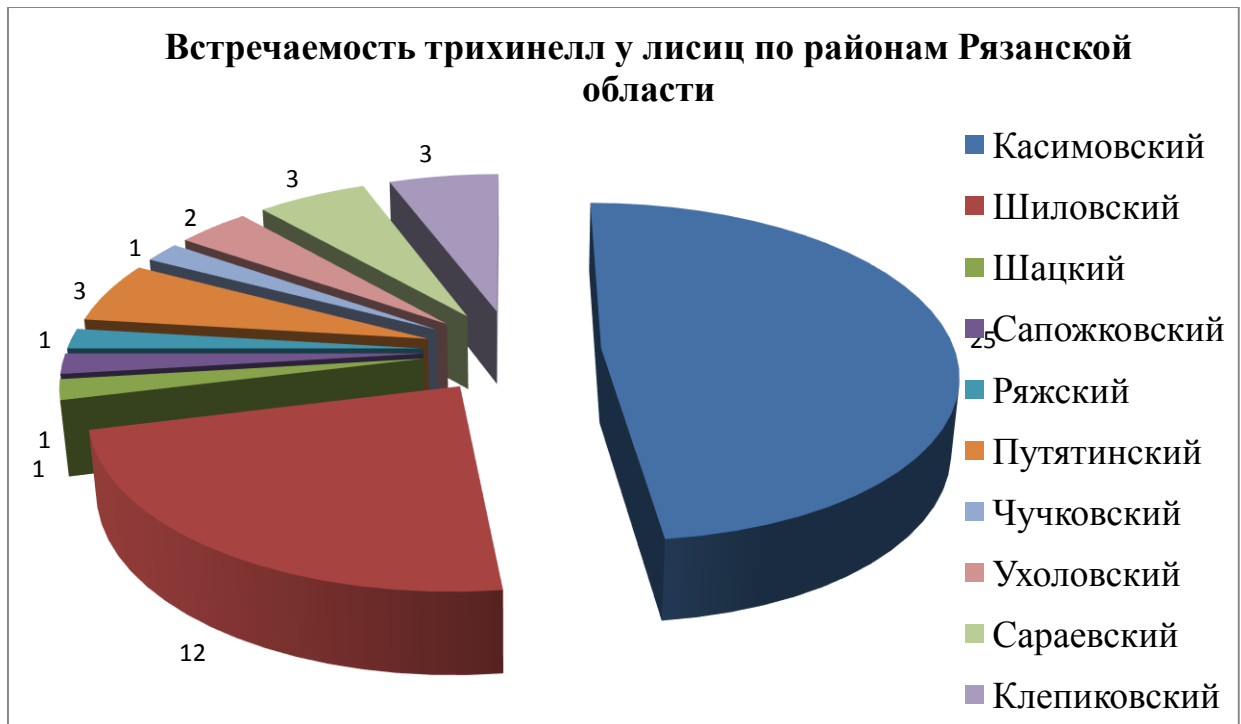


Рисунок 1. Встречаемость трихинеллезной инвазии у обыкновенной лисицы по районам Рязанской области (результат мониторинга)

Так, ежегодно капсулообразующие виды трихинелл регистрировались у лисиц, добытых в Касимовском районе. Из всех обследуемых районов Рязанской области вышеуказанный оказался наиболее неблагополучным по трихинеллезу плотоядных, на его территории за период с 2006 по 2013 гг. было выявлено 25 инвазированных лисиц (ЭИ=48,1%). Больше всего зараженных животных было выявлено в 2006-2007, 2009-2010 и 2011-2012 гг. охотничьих сезонов по добычи пушных зверей местными охотниками по разовым бесплатным лицензиям. В Шилловском районе было выявлено 12 зараженных зоонозом животных

(ЭИ=23,1%). Инвазия лисиц регистрировалась в 2006-2008 и 2010-2012 гг. В остальных районах регистрировали от 1 до 3 голов (ЭИ=1,9-5,8%). Экстенсивность трихинеллезной инвазии животных была различной. Наивысший ее показатель был отмечен в период 2009-2010 гг. – 42,3%, наименьший в 2007-2008 гг. – 9,7%. Интенсивность трихинеллезной инвазии в 1 грамме мышечной ткани икроножной группы мышц колебалась от $3,7 \pm 1,4$ до $11,7 \pm 2,5$ личинок трихинелл.

Учитывая полученные результаты на основе многолетнего мониторинга, можно утверждать, что трихинеллезная инвазия у обыкновенной лисицы стационарно регистрируется в 10 районах Рязанской области. Наибольшее неблагополучие по распространению зооноза отмечается в Шиловском (ЭИ=23,1%) и Касимовском районах (ЭИ=48,1%). Наибольший пик зараженности животных был отмечен в сезон охоты 2009-2010 гг., он составил – 42,3%. Интенсивность трихинеллезной инвазии не сильно отличалась от среднего показателя, который был отмечен на уровне 6,6 личинок в 1 грамме мышечной ткани икроножной группы мышц тушки животного.

РОЛЬ ДИКИХ ЖИВОТНЫХ И ТРАНЗИТНЫХ ПЕРЕНОСЧИКОВ В ЭПИЗООТОЛОГИИ ТРИХИНЕЛЛЕЗНОЙ ИНВАЗИИ

Хищные животные и их роль в аккумуляции трихинелл

В ходе работы было изучено содержимое желудочно-кишечного тракта тушек – обыкновенной лисицы (63 головы), волка (5 голов), енотовидной собаки (13 голов), лесной куницы (18 голов), каменной куницы (14 голов), барсука (3 головы), горностая (7 голов), черного хоря (3 головы), хоря степного (1 голова), бродячих собак (11 голов) и домашней кошки (4 головы). По фрагментам остатков корма определяли принадлежность животного, входящего в рацион питания хищника (когти, кости, шерсть, иглы, перья, раковины и т.д.).

В результате исследований было идентифицировано 227 фрагментов корма у 142 хищных плотоядных. Основную долю корма промысловых хищников занимали мышевидные грызуны (полевки, мыши) – 51,98%. Насекомоядные животные (ежи, буроzubки), птицы и корма растительного происхождения (коренья, листья злаковых растений) занимали значительно меньшую долю – от 11,89% до 12,33%. Среди беспозвоночных встречались раковины моллюсков (большого прудовика, перловицы) – 3,52% и насекомые (жужелицы) – 1,76%. Неопознанный корм зарегистрирован в 6,17% случаев.

Среди животных семейства псовых значительную долю в питании занимали полевые грызуны (54,6-65,4%). В меньшей степени встречались фрагменты насекомоядных животных (19,4%). Корма растительного происхождения были выделены из желудочного содержимого практически у всех животных (11,1-37,5%), кроме енотовидной собаки. Незначительное число фрагментов моллюсков (3,7-15,4%) и насекомых (1,8-7,7%) было обнаружено у лисиц и енотовидных собак. В содержимом желудка и кишечника бродячих собак, отстреленных на территории охотхозяйств, было идентифицировано до 50% остатков фрагментов птиц (коготки, чешуйки лап, перья), 30% кормов растительного происхождения и 20% мышевидных грызунов (полевки, мыши).

Животные семейства кунных, так же, как и животные семейства псовых, чаще употребляли микромаммалий (23,1-75,0%) и птиц (2,0-60,0%). Значительную долю в их питании занимали корма растительного происхождения (6,7-50,0%) и насекомоядные животные (3,6-30,7%).

У кошек, охотившихся в природном биоценозе, в содержимом желудка обнаружены остатки фрагментов птиц (28,6%) и корма растительного происхождения (14,3%).

Судя по весу тушек хищников, кроме животных семейства кунных, они имеют значительную роль в передачи трихинеллезной инвазии, как в летний, так и в зимний период времени года. На примере 3 обыкновенных лисиц, добытых в Рязанской области, нами выявлен средний вес тушки, среднее число личинок возбудителя трихинеллеза, выделенных из мышечной ткани, и интенсивность инвазии лисиц (табл. 3). Среднее значение количества личинок возбудителя трихинеллеза в тушке лисицы весом 3,7 кг составляет 8006 экз. Средняя интенсивность инвазии животного – 2,17 личинок трихинелл в 1 грамме мышц. При этом индекс обилия (ИО) трихинелл у этого вида плотоядных в Рязанской области составил 28,3 личинки нематод в тушке плотоядного.

Таблица 3

Интенсивность инвазии личинок *Trichinella* spp.
в тушках обыкновенных лисиц

Масса тушки животного (мышечной и костной ткани), г	Выделено личинок трихинелл, экз.	ИИ, количество личинок в 1 г мышечной ткани	
		в икроножной группе мышц	в мышцах животного
3771	9874	6	2,62
3203	7162	3	2,24
4194	6981	2	1,66
Среднее значение			
3723±497,3	8005,6±1620,5	3,7±2,1	2,17±0,48
ИО = 28,3			

Значение насекомых-трупоедов и их личинок как резервуара трихинеллезной инвазии

Тушки хищников и грызунов, естественно и экспериментально инвазированных трихинеллами, заложили в различные биотопы на территории охотничьих угодий Рязанской и Московской областей. Для контроля в полевых опытах использовали трупный материал лабораторных животных, неинвазированных трихинеллами. На протяжении теплого периода года, каждые 2 недели после закладки инвазированных тушек животных, вели учет обнаруженных беспозвоночных, питающихся мышечной тканью, проводили ревизию пищеварительной трубки насекомых на наличие мышечных личинок трихинелл.

Во время полевых опытов было исследовано содержимое пищеварительных трубок 807 насекомых на наличие личинок трихинелл, в том числе 661 экз. насекомых-падальщиков и 146 экз. насекомых хищников. Фактическая численность насекомых-некрофагов на инвазированных тушках хищных млекопитающих была значительно высокой. Во избежание нарушения естественного процесса утилизации нами изымалось до 5% некрофагов от их общего числа каждый раз (при каждом заборе).

В первой серии опытов транзитную передачу личинок трихинелл от естественно инвазированных хищных млекопитающих мы обнаружили у 2 из 92 (2,17%) личинок серой мясной мухи, 2 из 75 (2,67%) личинок синей мясной мухи и 4 из 48 (8,33%) жуков - красногрудых мертвоедов (О.Н. Андрянов, 2012 г). Количество личинок возбудителя трихинеллеза в пищеварительной трубке насекомых колебалось от 1 до 4 экземпляров.

В условиях лесного биотопа было выявлено 10 видов беспозвоночных, собранных с трупов животных, экспериментально инвазированных трихинеллами. Личинки трихинелл *T. spiralis* и *T. nativa* обнаружили у 8 транзитных хозяев в разных количествах. Высокий процент зараженности насекомых-детритофагов личинками трихинелл зарегистрировано у мертвоеда большого (87,0%), жука-могильщика (81,4%), хищника рыжего (100%), личинок серой (80,0%) и синей (100%) мясных мух. Наименьшее число личинок возбудителя трихинеллеза отмечено у мертвоеда красногрудого (40,0%), точечника блестящего (31,8%), хищника серого (20,0%). Жизнеспособность личинок трихинелл составила от 12,6% до 38,1%. У катопсов и трокса не обнаружили личинок гельминта.

В условиях биотопа луга в опытных и контрольных контейнерах было собрано 5 видов насекомых-детритофагов. Личинки возбудителя гельминтозоноза регистрировали в пищеварительной трубке насекомых от 41,7% до 100%. У кожееда ветчинного личинок трихинелл не обнаружили. Жизнеспособность личинок у дессиминаторов этого биоценоза была сравнительно ниже, ее показатель составил от 0 до 25,0%.

В околородном биотопе обнаружили 4 вида насекомых-некрофагов. Инвазированность насекомых трихинеллами составила от 53,3% до 100%. Жизнеспособность личинок была от 25,0% до 55,1%.

В контрольных контейнерах, где были заложены трупы неинвазированных лабораторных животных, трихинеллы в пищеварительной трубке насекомых и их личинок не регистрировались. С этой целью было исследовано 14 черных трупоедов, 5 жуков-могильщиков, 17 личинок серых мясных мух.

Далее, в опытах с насекомыми, утилизирующими трупы животных, были исследованы некоторые биологические свойства личинок трихинелл, локализованных в пищеварительной трубке беспозвоночных (табл. 4). Жизнеспособность личинок возбудителя этого гельминтозоноза, выделенных из содержимого кишки насекомых, определили прогреванием на столике Морозова. Характерные движения личинок трихинелл (скручивание, раскручивание) были заметны во всех пробах, взятых от насекомых (О.Н. Андрянов, 2012 д). Значительная часть личинок гельминта, локализованных в пищеварительной трубке насекомых, была нежизнеспособной. Биологическую пробу на

инвазионность личинок проводили на белых беспородных мышах. Ежедневное вскрытие пищеварительной трубки насекомых помогло установить срок, до которого личинки гельминта могут регистрироваться в пищеварительной системе организма беспозвоночного. Так, экспериментально установлено, что у жука-могильщика и большого мертвоеда личинки трихинелл могут находиться до 10 – 12 суток, а у личинок мясных мух до 6 суток.

Таблица 4

Биологические свойства личинок *Trichinella spp.*, выделенных из пищеварительной трубки насекомых

Вид насекомого	Биологические свойства личинок трихинелл		
	Жизнеспособность	Инвазионность	Время локализации, сут.
Мертвояд большой	+	+	12
Жук – могильщик	+	+	10
Точечник блестящий	+	-	-
Хищник (вид неопределен)	+	-	-
Жук – хищник серый	+	-	-
Личинки серой мясной мухи	+	+	6
Личинки синей мясной мухи	+	+	6

Было отмечено, что при помещении пробирки с жуками большого трупоеда и могильщика в условия бытового холодильника при температуре $8\pm 1^{\circ}\text{C}$, сохранение трихинелл в кишке насекомых увеличивается до 18 суток. При созданных условиях только единичные личинки трихинелл оставались жизнеспособными.

Нами проведена работа по экспериментальному заражению имаго и личиночных форм кожееда ветчинного (*Dermestee lardarius*). В результате поставленного опыта личинок трихинелл обнаружили в средней кишке у 46 насекомых и в фекалиях насекомых, оставшихся на стенке пробирки. Жизнеспособность личинок трихинелл была от 12,5% до 25,0%. Локализация личинок возбудителя трихинеллеза в пищеварительной трубке насекомых составила 6 суток. Биологическая проба, проведенная на 2-х мышах с заданной дозой не менее 50 личинок трихинелл, выделенных из кожеедов, оказалась положительной.

Мышевидные грызуны и насекомоядные животные как распространители трихинеллеза в условиях природных экосистем

Изучая природную очаговость инвазии, нами поставлены лабораторные опыты на насекомоядных животных с целью подтвердить передачу возбудителя трихинеллеза животным в природном биоценозе посредством личинок мясных мух (О.Н Анреянов, 2012 б).

Через 7-21 день после закладки тушек крыс, инвазированных трихинеллами, провели сбор личинок серой мясной мухи (*Sarcophaga carnaiifa*) в период, когда в пищеварительном тракте личинок мух содержались жизнеспособные личинки трихинелл. Отловленным 2 малым бурозубкам (*Sorex minutus*) скормили собранных

личинок мясных мух в количестве 6 и 12 особей насекомого. Через 45 суток животных усыпили. В результате экспериментального заражения малых бурозубок возбудителем трихинеллеза посредством личинок серой мясной мухи (транзитных хозяев) животные оказались инвазированы трихинеллами.

Далее в работе использовали восточноевропейских ежей. Как только животным исполнилось 3 месяца, им скормили личинок мух, в дозе более 50 экземпляров, инвазированных личинками трихинелл. Для контроля лабораторным линейным мышам также периодически скармливали личинок мух с трихинеллами. В опытах использовали возбудителей *T. spiralis* и *T. nativa*. Через 45 суток у ежей и контрольной группы лабораторных животных обнаружили личинки трихинелл в мышцах. Интенсивность инвазии возбудителя трихинеллеза *T. spiralis* у насекомоядных животных составила $15 \pm 2,3$ л/г икроножной группы мышц, а *T. nativa* – $2 \pm 1,1$ л/г.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ ТРИХИНЕЛЛ К ТЕМПЕРАТУРНЫМ ФАКТОРАМ

Изучение устойчивости личинок трихинелл в тушках промысловых животных при отрицательных температурах

Образцы мышечной ткани лисицы размером 15 грамм заложили на хранение в бытовой холодильник при температуре минус $16 \pm 2^\circ\text{C}$ и минус $23 \pm 2^\circ\text{C}$, через определенный промежуток времени исследовали личинок трихинелл на жизнеспособность и инвазионность (Ф.К. Скворцова, О.Н. Анреянов, 2009). Для контроля эксперимента при тех же условиях заморозили тушки лабораторных мышей, инвазированных тем же изолятом трихинелл 45-ти дневного возраста первого и второго пассажа.

В результате проведенного опыта личинки трихинелл в мышечной ткани лисицы при температуре минус $16 \pm 2^\circ\text{C}$ сохранили жизнеспособность 90% на 78-е сутки, к 134 дню она незначительно снизилась до 80%. На 157-е и 192-е сутки опыта жизнеспособность личинок была 75% и 70% соответственно. Биологическая проба, проведенная на белых лабораторных мышах, оказалась положительной на 107-е сутки. При температуре минус $23 \pm 2^\circ\text{C}$ личинки трихинелл в мышечной ткани лисицы сохраняли жизнеспособность 90% на 8-е сутки, к 42 дню она снизилась до 80%. Далее, на 78-е, 134-е, 157-е и 192-е сутки наблюдения жизнеспособность трихинелл была 70%, 65%, 55% и 50% соответственно. Инвазионная активность личинок трихинелл, исследуемая на лабораторных мышах, была также положительной на 107-е сутки опыта.

При контрольном измерении, проведенном при температуре минус $23 \pm 2^\circ\text{C}$ на тушках лабораторных мышей первого и второго пассажа изолята личинок трихинелл от лисицы, жизнеспособность личинок резко снизилась на 8-е сутки опыта (до 30-35%). На 19-е сутки опыта жизнеспособность личинок трихинелл была 5%. Биопроба на лабораторных животных оказалась отрицательной.

Следующим этапом работы было сравнительное изучение резистентности мышечных личинок трихинелл изолята, полученного от естественно инвазированной лисицы, в условиях охотхозяйства Рязанской области в зимний период года. Работа была проведена с ноября 2008 г. по апрель 2009 г. в условиях

Шиловского охотхозяйства. Рубленые куски тушки лисицы размером 400-500 грамм и цельные тушки лабораторных мышей, инвазированных этим же изолятом 45-дневного возраста, заложили на хранение в ловчую яму для грызунов. Инвазионный материал закрыли полиэтиленовыми пакетами и металлической сеткой от крупных хищников и птиц. Во время отбора проб ежемесячно измеряли температуру окружающего воздуха, где лежали пробы, и толщину снежного покрова.

В результате опыта установлено, что личинки трихинелл в мышечной ткани лисицы сохранялись на протяжении 5 месяцев (с ноября по март). Жизнеспособность трихинелл в начале опыта (в ноябре) была 100%, а через 5 месяцев (в марте) 80% (О.Н. Андреянов, 2010). После переваривания в ИЖС капсулообразующие трихинеллы оставались подвижными, при микроскопии у личинок были хорошо различимы внутренние органы. В апреле мышечная ткань трупа лисицы практически высохла. При переваривании мышечных проб личинки трихинелл в осадок не выпали.

В тушках инвазированных белых мышей жизнеспособность трихинелл была иной. Через месяц показатель жизнеспособности снизился до 80%, а через 2 месяца до 25-30%. В этот период было отмечено, что тушки мышей пропитались трупным соком, шкурки легко отделялись от тушек животных. В феврале жизнеспособные личинки регистрировали только в 5% случаев. У единично выпавших личинок трихинелл было отмечено отслоение кутикулы, вакуализация, нарушение целостности кишечной трубки.

Устойчивость личинок трихинелл в мездре шкур промысловых животных при различных температурах

Жизнеспособность и инвазионность личинок капсульных трихинелл в поперечнополосатой мускулатуре шкур естественно зараженных плотоядных животных изучали на примере тушек 11 обыкновенных лисиц, добытых охотниками в Шиловском районе Рязанской области.

На основании проведенных опытов установлено, что при положительных температурах устойчивость личинок трихинелл оказалась незначительной (О.Н. Андреянов, 2013 б). При температуре $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ личинки трихинелл в мездре сохраняли жизнеспособность и инвазионность до 2 суток, а при $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ до 4 дней. При температуре минус $12\pm 2^{\circ}\text{C}$ и минус $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ личинки трихинелл, находящиеся в мездре, сохранили жизнеспособность и инвазионность в течение 14 месяцев.

Кроме того, в не отрезанных свежеснятых шкурах лисицы личинки трихинелл сохранили жизнеспособность и инвазионность при 7-кратном замораживании и оттаивании

Выдельщики шкур, скорняки, охотники иногда используют технологию выделки свежеснятых шкур зверей без первичной обработки пушного сырья. Было определено, что личинки трихинелл в этом случае сохранили жизнеспособность на этапе отмоки шкуры (состав среды погружения шкурки – водопроводная вода при температуре $20\pm 2^{\circ}\text{C}$) и частично на этапе пикелевания в течение 2 суток (среда – 1%-ный раствор NaCl, 0,5%-ный раствор соляной кислоты HCl в воде, при температуре $20\pm 2^{\circ}\text{C}$).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТРИХИНЕЛЛ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЖИВОТНЫХ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО РЕГИОНА РОССИИ

Изучение биологических свойств трихинелл на лабораторных грызунах

Для изучения биологических свойств трихинелл проведено пассирование их изолятов на лабораторных животных по методике Ф.К. Скворцовой (2006). Отработка биологических свойств гельминтов была проведена на белых беспородных мышах (19 головах), инбредных мышах линии DBA и C57BL6 (по 20 голов каждая), песчанках (18 головах) и белых крысах линии *Wistar* (18 головах). Приживаемость гельминтов изучили после заражения 100 ± 2 личинками *per os* лабораторных грызунов на 7-й день опыта. Подсчет половозрелых нематод провели компрессорно с помощью стереоскопического микроскопа Motis при увеличении $\times 10 - 40$ или после выделения гельминтов из вскрытого кишечника в аппарате Бермана (Г.А. Котельников, 1991). Величину приживаемости выразили в процентах. Интенсивность заражения устанавливали на 60-й день по числу выделенных мышечных личинок трихинелл. Подсчет выделенных личинок провели в камере Л.Д. Мигачевой, Г.А. Котельникова (1987). Изучение устойчивости личинок трихинелл к глубокому замораживанию провели при температуре минус $70 \pm 2^\circ\text{C}$ на 45 тушках белых беспородных крыс, массой 450 ± 30 грамм, в камере биомедицинского морозильника. Для подсчета выживаемости трихинелл пастеровской пипеткой отобрали пробу личинок, выпавших в осадок, после переваривания тушки животного. Данный показатель определили как отношение жизнеспособных личинок трихинелл к общему числу выделенных личинок гельминтов, выраженных в процентах.

Приживаемость личинок трихинелл на лабораторных грызунах оказалась различной (О.Н. Андреянов, 2014). Так, вид трихинелл *T. nativa* обладал приживаемостью 9,7% (средний показатель). Наибольшая приживаемость отмечена у монгольской песчанки – 17,2%, наименьшая у белых беспородных мышей – 1,2%. Одна из обследованных белых мышей не заразилась. От 6,7% до 12,4% прижившихся нематод зарегистрировали у линейных мышей и белых крыс. Природный изолят возбудителя *T. spiralis* показал немного бóльшую приживаемость – 16,2%. Высокий показатель прижившихся нематод отмечен у песчанок – 20,7%, белых мышей – 19,7% и крыс – 18,0%, низкий у мышей линий DBA и C57BL6 по 14,0% и 8,7% соответственно. Лабораторный изолят трихинелл, выделенный из мышечной ткани свиньи (Белоруссия), показал высокую приживаемость – 31,5%, что в 2 и более раза выше по сравнению с дикими изолятами – 31,5%. Высокий процент приживаемости отмечен у белых крыс – 40,1%, наименьший у песчанок – 25,6%. Средний показатель приживаемости лабораторного изолята трихинелл отмечен у беспородных и линейных мышей (28,3-32,6%).

Интенсивность заражения лабораторных грызунов природными изолятами, была почти в 2 раза меньше по сравнению с лабораторным изолятом. Наиболее высокий показатель плодовитости *T. nativa* отмечен только у песчанок – 158 300 личинок на голову, наименьший у белых мышей – 9 300 личинок на голову. Средний показатель по интенсивности заражения личинками трихинелл отмечен у

инбредных мышей и крыс (12 400 – 19 500 выделенных мышечных личинок трихинелл из тушки животного). Высокая интенсивность заражения *T. spiralis* отмечена у белых крыс – 100 800 и песчанок – 62 000 личинок на голову. У мышей плодовитость трихинелл была приблизительно на одном уровне (18 500-24 700 личинок на голову). Лабораторный изолят *T. spiralis* интенсивно заражал белых крыс и песчанок – 189 000 экз. и 104 000 экз., на животное соответственно. Значительно меньшая плодовитость нематод отмечена у беспородных и линейных мышей (27 800-38 400 личинок на голову).

Резистентность к отрицательным температурам у разных видов трихинелл также не совпала. Наиболее устойчивым к глубокому замораживанию оказался вид трихинелл *T. nativa*. Жизнеспособность мышечных личинок была на уровне 95,8-97,5% в течение первых двух часов экспозиции. На 3-м часу выдержки в морозильной камере жизнеспособность личинок трихинелл снизилась до 32,9%, на 4-м часу она составила 0,29%. Через 5 часов жизнеспособных личинок *T. nativa* в мышечной ткани экспонированных крыс не обнаружено.

Возбудитель *T. spiralis*, циркулирующий в природном биоценозе, был также устойчив к отрицательной температуре в течение первых двух часов (1-й час – 70,3%, 2-й час – 28,4%), на 3-м часу экспозиции мышечные инкапсулированные личинки трихинелл погибли. Личинки *T. spiralis* лабораторного изолята были устойчивы к глубокому замораживанию только в течение первого часа выдержки (38,6%). Через 2 часа замораживания мышечные личинки трихинелл погибли.

Особенности локализации личинок трихинелл в мышечной ткани естественно инвазированных животных

Нами исследовались животные семейств *Canidae* и *Mustellidae* (2 рыжие лисицы, 1 енотовидная собака, куницы каменная и лесная), добытые в Касимовском и Шиловском районах Рязанской области. Анализу подвергли 6 групп мышц тушек животных, а именно: головы, шеи, плечевого пояса, туловища (включая диафрагму и ее ножки), таза и задней конечности, хвоста. Далее изучили мышечный слой мездры шкур пушных зверей. С учетом топографии по отношению к различным частям тела подкожные поперечнополосатые мышцы кожи были объединены в 3 группы: мышцы головы, подкожные мышцы шеи, подкожные мышцы туловища.

Из каждой препарированной мышцы брали навеску и подвергли искусственному ферментированию. Полученные данные статистически обработали путем определения среднего количества личинок в 1 грамме каждой мышцы. Доверительные интервалы ИИ мышц личинками трихинелл для 95% исследованного материала соответствовали уровню $p < 0,05$.

В результате исследований поперечнополосатой мускулатуры тушек зверей, естественно инвазированных трихинеллами, установлено, что личинки гельминта неравномерно распределены по группам мышц.

У семейства псовых максимальное количество личинок трихинелл зарегистрировано в мышцах плечевого пояса и передних конечностей (лисица - 23,1 лич./г, енотовидная собака – 37,8 лич./г) и мышцах таза и тазовых конечностей (лисица – 24,3 лич./г, енотовидная собака – 39,4 лич./г). К тому же у енотовидной собаки интенсивная инвазия личинками отмечена в мышцах головы (39,7 лич./г).

Среди животных семейства куньих большое количество личинок было выделено из мышц плечевого пояса, передних конечностей, таза и тазовых конечностей (лесная куница – 14,5 и 16,6 лич./г, каменная куница – 59,7 и 50,0 лич./г). Также у каменной куницы обилие личинок гельминта отмечено в мышцах шеи и головы (53,4 и 50,5 лич./г).

У лисиц максимальная концентрация личинок трихинелл обнаружена в заостном мускуле – 26,9 экз./г, двуглавом мускуле плеча – 27,5 экз./г и бедра – 27,0 экз./г, четырехглавом мускуле бедра – 29,7 экз./г. Наибольшее количество личинок выделено у енотовидной собаки из большой жевательной мышцы (массетера) – 56 лич./г, трехглавой мышцы плеча – 54 лич./г, двуглавой мышцы бедра – 51 лич./г. В мышечной ткани лесной куницы высокая концентрация личинок была отмечена в двуглавой мышце бедра и плеча – 24 и 21 лич./г и четырехглавой мышце бедра – 23 лич./г. У каменной куницы максимальное количество личинок обнаружено в двуглавом мускуле плеча – 75 лич./г и большом жевательном мускуле – 68 лич./г.

После искусственного пептолиза мясного фарша в ИЖС наименьшее число личинок трихинелл выделилось из мышц головы и шеи у лисиц (по 12,2 лич./г в каждой группе), мышц шеи и туловища у енотовидной собаки (по 21,8 и 24,0 лич./г), мышц шеи и туловища у лесной куницы (по 6,0 и 5,2 лич./г) и мышц туловища у каменной куницы (17,3 лич./г). У всех тушек исследуемых животных абсолютное минимальное количество личинок гельминта выпало в осадок после пептолиза из мышечной ткани хвоста (от 0 до 11 лич./г).

Особенности распределения личинок капсулообразующих трихинелл в поперечнополосатой мускулатуре шкур (прирези) естественно зараженных плотоядных животных изучены нами на примере 6 обыкновенных лисиц и 1 лесной куницы (О.Н. Андреев, 2013 а).

На основании исследования поперечнополосатой мускулатуры подкожной клетчатки шкур зверей, естественно инвазированных трихинеллами, установлено, что личинки неравномерно распределяются в различных группах мышц. Максимальная доля личинок трихинелл сосредоточена в подкожных мышцах головы и составляет 60% у лисиц и 52,3% у куницы. Далее следуют мышцы туловища – 20% и 33,3% соответственно. Минимальное количество личинок трихинелл отмечено в подкожных мышцах шеи и плечевого пояса, относительный показатель интенсивности их инвазии составил 20% и 14,3% соответственно.

Для сравнения интенсивности инвазии мышц тушек и мышц мездры мы определили количество личинок трихинелл в общей массе мездры шкур и в наиболее поражаемых мышцах тушек животных – мышцах задней конечности (икроножная группа мышц). В результате исследований выяснили, что ИИ личинками трихинелл мышц задней конечности тушки лисицы немного ниже ИИ подкожных мышц мездры шкурки: 3,7 личинки против 4,2 личинок в 1 грамме мышечной ткани. У лесной куницы показатель ИИ подкожных мышц был иной – в 7 раз меньшей по сравнению с ИИ задней конечности тушки животного.

Среднее количество личинок трихинелл в общем объеме мышечной ткани мездры шкур лисиц при расчете составляло $207,5 \pm 190$ лич./г, а куницы – 72 лич./г.

Изучение возможности интраутеринного (внутриутробного) и лактогенного путей передачи инвазии

Отработка возможных путей передачи личинок гельминта была проведена на белых беспородных и инбредных мышах линий DBA (масть – серая) и C57BL6 (масть – черная), белых крысах линии *Wistar* и кроликах породы Советская Шиншилла.

В начале исследований провели проверку лактогенного пути передачи трихинелл. Для этого взяли самок вышеперечисленных грызунов на последних днях беременности (за 1-3 суток до появления потомства). Личинок трихинелл обоих видов (*T. spiralis*, *T. nativa*) ввели через рот с помощью молочного катетера с оливой на конце и многоразового шприца в следующих дозах: мышам 100±2 личинок на голову (лич./гол.), крысам – 5 личинок на 1 грамм веса животного, кроликам – 4050-4210 лич./гол. Для контроля инвазирования использовали небеременных самок животных.

Потомство, полученное от мышей, в количестве 83 голов усыпили эфирным наркозом в 45-дневном возрасте. Тушки мышат подвергли компрессорному трихинеллоскопическому исследованию (для диагностики брали только диафрагму и 1-2 среза массетера) и перевариванию в ИЖС (полностью тушка новорожденного). При трихинеллоскопическом исследовании новорожденных мышат не регистрировали личинок трихинелл. У самок, инвазированных возбудителями *T. spiralis* и *T. nativa*, компрессорно обнаружены от 1 до 12 трихинелл в срезе мышц. Методом искусственного переваривания из тушек самок белых беспородных мышей было выделено 18 800 личинок возбудителя *T. spiralis* и 10 700 личинок *T. nativa*. Из тушек мышей линии DBA выделено 26 100 и 14 700 личинок, а из тушек мышей линии C57BL6 – 21 400 и 19 700 личинок соответственно.

Потомство белых крыс было также усыплено эфирным наркозом на 47-ые сутки опыта. Тушки крысят после снятия шкур исследовали методом компрессорной трихинеллоскопии и биохимическим методом. При исследовании новорожденных крысят личинок трихинелл не обнаружили. В тушках самок, инвазированных возбудителями трихинеллеза *T. spiralis* и *T. nativa*, личинок трихинелл регистрировали от 3 до 21 личинки в одном срезе мышечной ткани методом компрессорной трихинеллоскопии. Методом искусственного переваривания из тушек крыс выделилось 124 300 личинок трихинелл вида *T. spiralis* и 21 000 личинок *T. nativa*.

В эксперименте с кроликами была аналогичная картина. Тушки крольчат, полученных от самок инвазированных *T. spiralis* и *T. nativa*, оказались свободными от личинок трихинелл. А мышечная ткань самок содержала 158000 личинок возбудителя *T. spiralis* и 11 730 личинок *T. nativa*.

Нами отмечено, что в контрольной группе животных у всех видов грызунов, которые были холостыми, потенциал инвазированности трихинелл обоих видов немного меньше, чем у опытных самок. Возможно, это связано со снижением иммунитета у лактирующих самок.

С целью изучения вопроса интраутеринного (внутриутробного) заражения эмбрионов животных трихинеллами через плаценту матери были проведены опыты

на самках лабораторных мышей, крыс и кроликов на разных стадиях беременности. Для этого исследовали самок первой и второй трети беременности. Всем подопытным животным с помощью катетера и шприца через рот ввели личинок трихинелл: *T. spiralis* и *T. nativa* (мышам – 100 ± 2 , крысам – 1100 ± 60 , кроликам – 4150 и 4010 экз.). На 2-ой недели после инвазирования трихинеллами *T. spiralis* был отмечен падеж 2 самок белых крыс.

Затем, через 45 суток после рождения потомства, 35 мышат, 19 крысят и 14 крольчат усыпили и подвергли исследованию методом компрессорной трихинеллоскопии и переваривания. Личинки гельминта в пробах мышц не были выявлены, а все взрослые самки оказались интенсивно инвазированы личинками трихинелл.

Экспериментальные исследования на свиньях

В экспериментальной работе было использовано 5 поросят крупной белой породы возрастом 1,5 месяца весом 9,5-10,5 кг. Возбудителями трихинеллеза *T. spiralis* и *T. nativa* было инвазировано по 2 поросенка в дозах 200 и 2000 личинок на голову соответственно. Заражение животных проводилось посредством введения взвеси выделенных и отмытых в физиологическом растворе личинок трихинелл в объеме 10 мл многократным шприцом через металлический катетер с канюлей в пищевод. Одно неинвазированное животное служило контролем, которому был задан рег ос физиологический раствор в объеме 10 мл. Помимо клинических наблюдений ежемесячно проводили взвешивание поросят на напольных весах, еженедельно изучали лейкоцитарную формулу крови и измеряли температуру прямой кишки. Экспериментальные исследования продолжались 97 суток.

В результате наблюдения за инвазированными животными была отмечена незначительная потеря аппетита с 7-й по 31-е сутки опыта у 3 поросят (с заданными дозами 200 и 2000 личинок *T. spiralis*; 2000 *T. nativa*). Гипертермию наблюдали у одного поросенка на 14-е сутки опыта при заданной дозе 2000 личинок трихинелл *T. spiralis*. У этого животного температура на предельной границе держалась с 7-х по 31-е сутки. Эозинофилия в пределах от 8,7% до 15,7% в лейкоцитарной формуле крови была отмечена у тех же 3-х опытных поросят на 14-е сутки и позже. У контрольного поросенка и опытного животного, с заданной дозой 200 личинок *T. nativa* не отмечено повышения уровня эозинофилов в крови. Привес живой массы у животных опытной группы заметно отставал от контроля. Поросята при заданных дозах 200 и 2000 личинок трихинелл весили на 97-е сутки опыта 37,2; 29,6; 39,8 и 36,5 кг против 43,7 кг контрольного животного.

После уоя животных на 97-е сутки и трихинеллоскопического исследования наиболее поражаемых личинками трихинелл групп мышц (ножек диафрагмы, язык, массетер, межреберные мышцы) было установлено, что трихинеллезом заразилось 3 поросенка с заданными дозами 200 и 2000 личинок возбудителя *T. spiralis* и 2000 личинок возбудителя *T. nativa*. Животное с заданной дозой 200 личинок возбудителя *T. nativa* было свободно от инвазии.

Далее были проведены исследования по распределению личинок трихинелл в мышцах экспериментально инвазированных поросят. Данные по рассеиванию трихинелл в организме опытных животных представлены на 97 сутки после

инвазирования. Анализируя полученные сведения, можно заключить, что личинки трихинелл видов *T. spiralis* и *T. nativa* в наибольшей степени распределены в мышцах головы и грудных стенок.

При экспериментальном заражении поросят наименее инвазированы мышцы плечевого пояса, позвоночного столба и брюшных стенок. Промежуточное положение занимают мышцы грудной и тазовой конечностей.

Нами проведены исследования по устойчивости разных видов личинок трихинелл в полутушах свиней к технологическому процессу горячего копчения. Для этого провели сухой посол охлажденных полутуш свинины в течение 5 суток при температуре окружающей среды и копчение в течение 1 суток. Вес полутуш свиней до технологической обработки составил 8,5 кг с наличием личинок возбудителя *T. spiralis* и 11,5 кг с личинками *T. nativa*. Сухой посол осуществляли крупной каменной (пищевой) солью натиранием, полутуши свиней выдержали при температуре $18 \pm 4^\circ\text{C}$. Максимальная толщина свинины в области лопаток и тазобедренного сустава до копчения составила $6,3 \pm 0,8$ см. После сухого посола цвет мяса изменился до бледно-серого оттенка. Затем, свинина была помещена в емкость для копчения объемом 200 литров и находилась там при температуре $62 \pm 7,5^\circ\text{C}$ в течение 22 часов. В процессе обработки наблюдали небольшое усыхание и таяние шпика, цвет полутуш стал интенсивно коричневым со всех сторон. После завершения процесса копчения вес полутуш свиней составил 7,2 и 9,9 кг, а толщина мяса - $5,9 \pm 0,3$ см в области лопаток.

При исследовании жизнеспособности и инвазионности личинок трихинелл на лабораторных животных мы получили следующие результаты. Жизнеспособность личинок возбудителя трихинеллеза *T. spiralis* после технологической обработки составила 31%, а *T. nativa* – 24%. После хранения четвертин свинины в холодильнике, при постоянной температуре $6 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 1 месяца, жизнеспособность личинок несколько снизилась: у возбудителя *T. spiralis* она составила 18%, а у *T. nativa* – 11%. На 2-й месяц хранения жизнеспособность личинок трихинелл составила: *T. spiralis* – 19%, а у *T. nativa* – 10%. Инвазионность личинок возбудителей трихинеллеза обоих видов на лабораторных мышках сохранялась сразу после технологической обработки (копчения), на 30-е и 60-е сутки после хранения в бытовом холодильнике.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ТРИХИНЕЛЛЕЗА И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРОТИВОТРИХИНЕЛЛЕЗНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

Изучение ферментной активности пепсинов при диагностических исследованиях на трихинеллез

В результате исследований установлено, что при классическом способе переваривания охлажденной и копченой мышечной ткани наиболее высокой протеолитической активностью обладал пепсин фирмы Акрос – от 86,6% до 93,4%, а наименьшей – медицинский препарат Ацидин-Пепсин – от 10,5% до 14,6%. Промежуточное место по ферментативной активности заняли пепсины Сигма и Шако. Значительное количество жизнеспособных личинок трихинелл выделилось при использовании пепсинов фирмы Акрос и Сигма, наименьшее – при

использовании препарата Ацидин-Пепсина. При приготовлении ИЖС на основе пепсина фирмы Акрос отмечена недостаточно быстрая растворимость порошка в теплом растворе кислоты.

При постановке опыта при аппаратном способе выделения личинок трихинелл дополнительно использовали биохимический препарат фирмы Мерк с активностью $\geq 0,7$ Ph.Eur.U/mg, как у пепсина фирмы Акрос. При проведении автоматизированного пептолиза в 2 циклах (по 35 минут каждый) с использованием разных видов пепсинов были получены иные результаты. После первого цикла переваривания охлажденного мяса на аппарате «Гельми» наилучшей протеолитической способностью обладал ИЖС, приготовленный из пепсина фирмы Акрос, – 48,1%, далее в порядке убывания из препаратов фирм Сигма – 36,0%, Мерк – 28,3% и Шако – 17,0%. При исследовании копченой свинины эффективность пепсинов, растворенных в кислой среде, не удалось выявить, так как произошло насыщение технологически обработанного мяса желудочным соком. Навески мясного фарша (50 грамм) стали весить от 56,5 до 59,0 грамм после отключения прибора. Только навеска, которую поместили в ИЖС с препаратом фирмы Акрос, осталась на прежнем уровне – 50,0 грамм. Наибольшее количество личинок трихинелл из копченой свинины выделилось в ИЖС с пепсином фирмы Акрос, в 4-5 раз меньше – в ИЖС с пепсинами Сигма и Мерк, наименьшее количество отмечено в пробе с использованием препарата Шако.

После проведения второго цикла активного переваривания охлажденной мышечной ткани была отмечена высокая ферментная активность ИЖС с использованием препарата фирмы Акрос – 78,0%, несколько хуже – у препаратов фирмы Сигма – 69,4% и Мерк – 57,7%. Наименьшая активность отмечена у пепсина фирмы Шако – 40,0%. Однако выделение личинок трихинелл из мышечной ткани было другим. Больше всего личинок выпало в ИЖС, приготовленный с препаратом фирмы Шако, меньше всего личинок оказалось в осадке с пепсином фирмы Мерк. Средний показатель выделения личинок трихинелл отмечен у ИЖС на основе пепсинов фирм Акрос и Сигма. При искусственном пептолизе копченой свинины высокой ферментной активностью обладал препарат фирмы Акрос, несколько меньшая активность отмечена у пепсинов фирм Сигма и Мерк. В 5 и более раз хуже лизировал мышечную ткань препарат фирмы Шако. Активное выделение жизнеспособных и мертвых личинок трихинелл, а также личинок в капсулах отмечено в рецептурах всех препаратов. Несколько меньше их выпало в ИЖС с использованием ферментного препарата фирмы Мерк.

Дифференциальная диагностика трихинеллеза

В ходе наших исследований у плотоядных животных были выявлены личинки *Trichinella* spp. – в 20,9% случаев. Личинками трихинелл были заражены лисицы (ЭИ – 19,1%), волки (ЭИ – 14,3%), енотовидные собаки (ЭИ – 14,8%), лесные (ЭИ – 31,6%) и каменные куницы (ЭИ – 33,3%), барсуки (ЭИ – 12,5%). Интенсивность инвазии колебалась от 2 до 63 личинок в 1 грамме мышечной массы.

В мышечной ткани 2 кабанов и 1 горностаея обнаружили личинки трематоды *Alaria* spp. (ЭИ соответственно 7,4% и 14,2% при ИИ в 1 грамме 1-8 лич.). У кабанов возрастом 3-4 лет они локализовались в диафрагме, массетере, межреберных и икроножных мышцах, а у молодого горностаея – только в диафрагме и межреберных

мышцах (О.Н. Андреев, 2013 е). Проведение биологической пробы на 2 беспородных щенках, возрастом 1 месяц, подтвердило пероральное инвазирование аляриями. При копроовоскопии фекалий методом последовательных промываний и на вскрытии тонкого отдела кишечника животного через 60 суток после скармливания мяса кабана у 1 животного были выявлены яйца трематодного типа и обнаружены 3 половозрелые трематоды *Alaria* spp.

У 3 кабанов в межмышечной ткани диафрагмы и межреберных мышцах зарегистрировали личинок нематод аскаридного типа, ЭИ – 11,1%, ИИ – 1-5 лич. в 1 грамме мышечной ткани. Биологическую пробу провели на белых беспородных крысятах массой 42 и 47 грамм возрастом 1 месяц. Выделенных после переваривания и многократного отмывания личинок ввели per os животным в дозе 5 и 12 личинок на голову. Через 45 суток после заражения животных усыпили, а внутренние органы и тушки исследовали в аппарате Бермана на наличие личинок нематод. В результате опыта личинок нематод не выявили.

Капсулы с трихинеллами необходимо отличать от капсул с личинками алярий (мезоцеркарий) и других нематод, которые также встречаются в образцах мышц диких животных (табл. 5). Дифференциация личинок основывается на морфологии возбудителей. При компрессорной диагностике в срезах мышц были отчетливо видны слоистые капсулы с трихинеллами, расположенные внутри мышечного волокна. В стенке капсулы хорошо видны внутренний гиалиновый и внешний утолщенный соединительнотканый слой. Капсулы имеют различную форму (лимоновидную, овальную, круглую) и размеры с хорошо различимой свернутой личинкой (или несколькими личинками) в виде объемной спирали.

Таблица 5

Дифференцированные признаки гельминтов, обнаруженных в образцах мышечной ткани животных (компрессорная трихинеллоскопия)

Показатель (признаки)	Класс гельминтов		
	нематода	трематода	нематода
Вид гельминта	<i>Trichinella</i> spp. (изолят от лисицы)	<i>Alaria</i> spp. (изолят от кабана)	Larva migrans (изолят от кабана)
Наличие капсулы	+	+	–
Локализация	В мышечном волокне	Между мышечными волокнами	Между мышечными волокнами
Форма капсулы	Овальная, округлая	Овальная	–
Размер капсулы, мкм (n=25)	346±7,7-387±5,89	648,2±25,5	–
Размер гельминта, мкм (n=25)	1128±18,2 – 38,6±0,79	662,4±20,1 – 208,0±16,59	1454±38,2 – 89,7±0,76
Наличие присосок	–	+	–

Примечание: n – количество измерений.

Личинки нематод аскаридного типа (*larva migrans*) свободно лежат в межмышечной ткани диафрагмы и межреберных мышцах кабанов, они не образуют капсул, не имеют хитиновых выростов вокруг ротового отверстия, не вооружены шипиками на хвостовом конце в отличие от личинок нематод спирурид *Physocephalus sexalatus* и *Spirocerca lupi* (Б.В. Ромашов и др., 2006). На срезе они неподвижны и расположены в виде полураскрытой запятой, латинской буквы S, скрепки или полукруга. Линейный размер личинок *larva migrans* в 1,5 раза больше, чем размер личинок трихинелл. При микроскопии виден простой мышечный пищевод, в то время как у спирурид он отчетливо разделен на железистую и мышечную части, а у трихинелл на переднем конце имеется хорошо выраженная стихосома, состоящая из стихоцитов.

При слабой интенсивности заражения животных паразитическими личинками эффективность компрессорной микроскопии значительно снижается. В этих случаях увеличивают число срезов мышц, исследуют другие группы мышц или используют метод переваривания в ИЖС. При пептолизе мышечных волокон на аппарате «Гельми» личинки трихинелл появляются в осадке в течение 15-20 минут. Они активно двигаются, сгибаются и разгибаются, сворачиваются в спираль. Активно двигающихся мезоцеркариев алярий мы обнаружили в осадке через 35 минут. Под микроскопом на плоском теле личинки были видны ротовая и брюшная присоски и U-образный кишечник. При использовании классического метода переваривания в ИЖС мезоцеркарии алярий погибли в осадке в течение 16-18 часов. Личинки неизвестных нематод после пептолиза выпали в осадок искусственного сока и были жизнеспособными и слабоподвижными до 24 часов. При этом в отличие от личинок трихинелл не скручивались в спираль.

Система противотрихинеллезных профилактических мероприятий.

Оптимизация профилактики трихинеллезной инвазии путем воздействия температурными режимами на туши животных и мясопродукты

Рекомендуемый нами способ обезвреживания инвазионного материала имеет следующий механизм действия. Под действием высоко отрицательной температуры происходит повреждение кристаллами льда клеточных мембран кутикулы личинок гельминта, деструкция внутренних органов и систем паразита. После воздействия отрицательной температуры личинки трихинелл становятся нежизнеспособны (О.Н. Андреев, 2011 а). В экспериментальных опытах использовали морозильные био-медицинские камеры типа MDF-U «Sanio».

Контроль качества обезвреживания инвазионного материала на жизнеспособность и инвазионность личинок возбудителя трихинеллеза в мышечной ткани диких хищников после оттаивания тушек провели согласно «Методике определения жизнеспособности и инвазионности личинок трихинелл» (Ф.К. Скворцова, О.Н. Андреев, Л.А. Гребенкина, 2009) по видимым морфологическим признакам личинок возбудителя и биологической пробе на лабораторных животных.

Отработанные режимы обезвреживания тушек некоторых диких животных, инвазированных капсулообразующими трихинеллами, методом глубокого замораживания при минус $70 \pm 2^\circ\text{C}$ указаны в таблице 6.

Обезвреживание личинок трихинелл в тушках диких хищников
при глубоком замораживании

Вид животного	Масса тушки, кг	Температура обезвреживания, °С	Время экспозиции, ч.
Лисица обыкновенная	3,5-8,0	минус 70±2	18
Енотовидная собака	2,5-9,0		18
Куница каменная, лесная	0,4-1,5		6
Крыса белая лабораторная <i>Wistar</i>	до 0,6		5
Мышь белая лабораторная	до 0,035		1

В системе противотрихинеллезных мероприятий важное место занимает использование устройств для утилизации трупов животных. Тушки животных помещают в камеру сгорания, после чего устанавливают необходимый уровень температуры. Затем горелку нагревают до заданной температуры, которая поддерживается до полного сжигания заложенного биологического материала. Такой способ уничтожения отходов является более приоритетным, чем захоронение, поскольку не загрязняет окружающую среду, идет обезвреживание патогенных групп микроорганизмов, объем отходов после сжигания уменьшается в сотни раз.

В связи с возможным распространением патогенных микроорганизмов (возбудителей птичьего гриппа, африканской чумы свиней, ящура и др.), необходимостью ограничения масштабов заболевания животных в регионах, прилегающих к очагу заболевания, предполагается полное уничтожение инфицированных животных, являющихся переносчиками заболевания.

Мы рекомендуем использовать крематоры для утилизации биоматериала, инвазированного трихинеллами. В нашем случае исследованные тушки диких животных, требующие обезвреживания, упаковали в полиэтиленовые пакеты и транспортировали на ветеринарный участок в Нарофоминском районе Московской области. В присутствии ветеринарных специалистов проводили утилизацию биологических отходов путем сжигания в печах (крематорах). Наблюдения, проведенные при инаktivации возбудителя трихинеллеза в печах, показали, что для обезвреживания инвазированных тушек животных требуется наименьший период времени, чем в режиме программного обеспечения аппарата. При сжигании трупов животных вначале сгорают конечности, затем обгорает все туловище и голова, в середине временного периода начинает сгорать головной мозг. В последнюю очередь уничтожаются легкие, печень и сердце из-за большого содержания жидкости в этих органах. В случае соблюдения режима уничтожения туш животных полностью на дне печи остаются их минеральные остатки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате комплексного исследования проблемы приведенного в разделе эпизоотология трихинеллеза Центрального региона России, на его территории выявлены природно-очаговые гельминтозоозы, тесный контакт с возбудителями которых может происходить у людей. Из возбудителей трихинеллезной инвазии зарегистрировано 2 вида трихинелл – *T. spiralis* у енотовидной собаки, лесной куницы (Рязанская область) и барсука (Нижегородская область) и *T. nativa* у обыкновенной лисицы (Рязанская область). Капсулообразующие виды трихинелл обнаружены в Московской, Рязанской, Нижегородской и Владимирской областях региона у диких хищников семейств Псовых и Куновых.

Формирование очагов трихинеллеза происходит возле пойм водоемов, в зонах лесостепей и смешанных лесов, территории которых оказывают влияние на биоценотические связи хозяев инвазии. Пересеченность рельефа, наличие холодного периода года и множество, труднодоступных для регулирования численности животных мест, играют важную роль в формировании оптимальных условий и циркуляции трихинеллезной инвазии. Определенные коррективы в показатели ЭИ, ИИ и ИО вносят суровые и многоснежные зимы, а также конкурентные взаимоотношения между животными. Неблагополучие по трихинеллезу диких плотоядных отмечается в местах понижения Среднерусской и Приволжской возвышенностей, на стыке подтаежной и лесостепной зон, на территории Мещерской низменности и Окско-Донской равнины в зонах смешанных лесов и лесостепной зоны, с наличием пойменных лугов р. Оки и больших Великих озер. Трихинеллезная инвазия, циркулируя среди хищников, локализуется в природном биоценозе и концентрируется чаще в условиях «зеленых и репродуктивных зон» охотхозяйств и особо охраняемых территорий.

В качестве потенциальных хозяев трихинелл на территории Центрального региона России зарегистрированы охотничье-промысловые млекопитающие отряда хищников. Основными накопителями, депонентами и распространителями личинок трихинелл являются обыкновенная лисица, енотовидная собака, волк, лесная и каменная куницы и барсук. В эпизоотическом процессе трихинеллеза выделяют первичный или природный очаг инвазии, который характеризуется интенсивной циркуляцией возбудителя инвазии среди диких плотоядных животных и является единственным источником природных видов трихинелл.

В качестве доминирующего хозяина трихинелл выступает обыкновенная лисица. Поскольку тушки этого вида животного не используются и не утилизируются промысловиками, то данный хищник может служить индикатором выявления природных очагов инвазии в ходе регулярных мониторинговых исследований.

Дикие грызуны, насекомоядные животные, насекомые-трупоеды и их личинки являются звеньями в циркуляции трихинелл в природном биоценозе. Даже при низкой ЭИ трихинеллами они в большом количестве потребляются хищниками, вследствие чего заражают последних трихинеллезом. В ходе настоящего исследования смоделирован эпизоотический процесс при трихинеллезе с участием транзитных переносчиков инвазии (насекомых и их личинок) и насекомоядных животных. В ходе опыта, проведенного в теплый период года, выявлены

дессиминация и механическая передача личинок трихинелл *T. spiralis* и *T. nativa* 11-ю видами насекомых, из которых 6 видов относятся непосредственно к детритофагам (некрофагам) и 5 видов к хищным жукам.

Экспериментально установлено, что личинки трихинелл в мышечной ткани тушки лисицы сохраняются на протяжении 5 месяцев в зимний период (с ноября по март). При положительной температуре личинки паразита в мездре шкуры обыкновенной лисицы сохраняют жизнеспособность и инвазионность несколько дней, а при отрицательной температуре - до 14 месяцев.

Приживаемость и интенсивность заражения природными видами трихинелл *T. nativa* и *T. spiralis* в 2 раза ниже по сравнению с лабораторным изолятом *T. spiralis*. Высокий показатель плодовитости *T. nativa* среди лабораторных грызунов отмечен у монгольской песчанки. Мышечные личинки трихинелл в белых беспородных крысах инактивируются через 3 (*T. spiralis*) и 5 (*T. nativa*) часов при глубоком замораживании в морозильной камере. Лабораторный изолят трихинелл *T. spiralis* успешно адаптировался к хозяевам – белой беспородной крысе и мыши, потерял некоторые свойственные для природных видов трихинелл биологические особенности и не может являться эталоном для лабораторных исследований.

У естественно инвазированных животных семейства псовых и куньих личинки гельминта в поперечнополосатой мускулатуре тушки распределены неравномерно. Максимальная доля личинок трихинелл сосредоточена в мышцах плечевого пояса, таза, передней и задней конечностей. В мышечном слое мездры их шкурки наиболее пораженными личинками трихинелл оказались мышцы головы: скуловая мышца, подкожная мышца губ и наружная щечная мышца, а наименее инвазированы мышцы туловища.

Беременные и лактирующие самки лабораторных грызунов интенсивно инвазируются трихинеллами *T. spiralis* и *T. nativa*. Тем не менее, передача их личинок новорожденному потомству через плаценту и молоко не происходит.

При диагностике трихинеллеза методом искусственного переваривания рекомендуется использовать пепсины для биохимических исследований фирм Акрос (Бельгия), Сигма, Мерк (Германия). Медицинский препарат Ацидин-Пепсин (Республика Беларусь) из-за слабой протеолитической активности не подходит для трихинеллоскопического исследования мяса.

Дифференциальная диагностика мышечных личинок трихинелл от других видов личинок гельминтозоонозов должна основываться на классических методах диагностики мяса и мясопродуктов. В современных условиях для этих целей следует проводить микроскопию как с помощью компрессориума, так и методом переваривания в ИЖС. Дифференциация паразитических организмов должна проводиться с учетом эпизоотической ситуации в регионе, интенсивности инвазии личинками, наличия или отсутствия капсул и присосок, а также их форм, особенностей локализации в мышечных волокнах туши животного, размера капсул, длины, ширины и конфигурации личинок.

Обезвреживание пораженных трихинеллами туш, трупов животных, мясных отходов, обрезки и мездры шкур является важным звеном в системе профилактических противотрихинеллезных мероприятий. Надежными методами

обезвреживания являются проварка, замораживание и сжигание. Замораживание под воздействием низкой температуры (минус 70°C) и использование трупосжигательных печей являются быстрыми и эффективными методами обезвреживания инвазионного материала.

ВЫВОДЫ

1. На территории Центрального региона России существует многочисленная группа природно-очаговых гельминтозоонозов. Неблагополучие по трихинеллезу отмечается в местах понижения Среднерусской, Приволжской возвышенностей, на территории Мещерской низменности и Окско-Донской равнины, особенно в поймах водоемов. Возбудитель трихинеллезной инвазии, циркулируя среди диких плотоядных, локализуется в природном биоценозе и концентрируется у животных чаще в условиях «зеленых и репродуктивных зон» охотхозяйств и особоохраняемых территорий.

2. В настоящее время в природном биоценозе Центрального региона России в качестве носителей личинок трихинелл выявлено 6 видов промысловых хищных млекопитающих 2 семейств. Из семейства псовых (*Canidae*) личинками трихинелл заражено 19,1% обыкновенных лисиц, 14,3% волков, 14,8% енотовидных собак. Из семейства куньих (*Mustelidae*) личинками трихинелл инвазировано 33,3% каменных, 31,6% лесных куниц, 12,5% барсуков. Из всеядных парнокопытных животных на территории региона зараженность трихинеллами встречается у 21,9% животных. Среди микромаммалий не выявлен возбудитель трихинеллеза.

3. Основным носителем и накопителем трихинелл является обыкновенная лисица, учитывая ее высокие показатели зараженности трихинеллами и самую высокую численность среди других видов хищников. Среднее значение выделенных личинок трихинелл из тушки лисицы составляет 8006 экземпляров, среднее значение ИИ мышечной ткани тушки животного – 2,17 личинок в 1 грамме мышечной массы, а ИО равен 28,3.

4. Транзитными переносчиками личинок трихинелл могут быть 12 видов насекомых и их личинок, питающихся трупами зараженных трихинеллами животных. Жизнеспособность личинок трихинелл в пищеварительной трубке насекомых детритофагов составляет от 0 до 55,1%. Сроки локализации личинок трихинелл в пищеварительной трубке жука-могильщика и черного трупоеда составляет 10 и 12 суток, а личинок серой и синей мясных мух до 6 дней.

В условиях полевых исследований была выявлена транзитная локализация мышечных личинок трихинелл в пищеварительной трубке личинок мясных мух и красногрудого мертвоеда, питающихся разлагающимися трупами естественно инвазированных хищников в теплый период года. ЭИ насекомых личинками трихинелл составила у личинок серых мясных – 2,17% и синих мясных мух – 2,67%, у красногрудых мертвоедов – 8,33%. Интенсивность инвазии составила от 1 до 4 личинки трихинелл в одном насекомом.

5. Экспериментальные исследования, проведенные с участием насекомоядных животных и личинок мясных мух, доказали существование трофической связи и возможную передачу возбудителя трихинеллеза микромаммалиям от инвазированных трупов животных через беспозвоночных или их личинок.

6. При воздействии отрицательных температур (минус $16\pm 2^{\circ}\text{C}$ и минус $23\pm 2^{\circ}\text{C}$) на тушку лисицы в условиях бытового холодильника жизнеспособность капсулообразующих мышечных личинок трихинелл сохраняется до 192 суток с показателем 70% и 50%. Личинки гельминта инвазионны для лабораторных мышей в течение 107 суток. Личинки трихинелл, находящиеся в мездре шкуры обыкновенной лисицы, сохраняют жизнеспособность и инвазионность от 2 до 4 суток при температуре $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ и $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ соответственно. При отрицательных температурах (минус $12\pm 2^{\circ}\text{C}$ и минус $24\pm 2^{\circ}\text{C}$) жизнеспособность и инвазионность личинок трихинелл, находящихся в подкожных мышцах шкур, сохраняются до 14 месяцев.

7. На протяжении 5 месяцев зимнего периода года (с ноября по март) личинки трихинелл, находящиеся в мышечной ткани тушки естественно инвазированной лисицы, во внешней среде сохраняют жизнеспособность от 100% до 80%.

8. При исследовании биологических особенностей природных видов трихинелл на лабораторных грызунах установили, что приживаемость и интенсивность заражения *T. nativa* в 2 и более раза ниже по сравнению *T. spiralis*, за исключением монгольской песчанки. Полная инактивация личинок трихинелл в тушках белых крыс наступает через 3 (*T. spiralis*) и 5 (*T. nativa*) часов при температуре минус $70\pm 2^{\circ}\text{C}$. Лабораторный изолят возбудителя трихинеллеза *T. spiralis* не является эталонной культурой для проведения практических опытов, так как его биологические свойства на порядок отличаются от природных изолятов.

9. На основании исследований поперечнополосатой мускулатуры у естественно инвазированных трихинеллами животных семейства псовых и кунных установлено, что личинки гельминта распределены неравномерно. В 1 грамме мышц тушек естественно инвазированных животных максимальная доля личинок трихинелл сосредоточена в мышцах плечевого пояса, плеча, таза и задней конечности (от 21,6% до 32,8%). К тому же, у енотовидной собаки и каменной куницы относительно большее число личинок локализуется в мышцах головы и шеи. К наиболее поражаемым трихинеллами мышцам тушек зверей относятся большой жевательный мускул, двух- и трехглавый мускулы плеча, межреберные мышцы, диафрагма, двух- и четырехглавый мускулы бедра.

10. В мышечном слое мездры шкур промысловых плотоядных, естественно заразившихся трихинеллезом, наиболее пораженными личинками трихинелл оказались подкожные мышцы головы. ИИ мездры шкурок обыкновенной лисицы составила 4,2 личинки, а лесной куницы – 9 личинок в 1 грамме мышц. Средний показатель количества личинок трихинелл в мышечном слое мездры шкур лисиц составляет 207,5, а куницы – 72 экземпляра.

11. Лактирующие самки лабораторных грызунов более интенсивно инвазируются личинками трихинелл *T. spiralis* и *T. nativa* по сравнению с контрольной группой самок. Возможность внутриутробной и лактогенной передачи личинок трихинелл новорожденному потомству от зараженных самок животных экспериментально не подтверждена.

12. Заражение поросят крупной белой породы возрастом 1,5 месяца в дозе 2000 личинок трихинелл *T. spiralis* на голову вызывает нехарактерные клинические признаки и лабораторные проявления инвазии. При дозах 200 личинок трихинелл

T. spiralis и 2000 личинок трихинелл *T. nativa* изменения клинической картины инвазии у поросят не наблюдаются. Наблюдения за расселением личинок трихинелл в мышцах искусственно инвазированных свиней показывают, что личинки трихинелл видов *T. spiralis* и *T. nativa* в наибольшей степени распределены в мышцах головы (массетере, языке) и грудных стенок (диафрагме). Наименее инвазированы личинками трихинелл мышцы плечевого пояса, позвоночного столба и брюшных стенок.

В результате технологической обработки мяса свиней (методом горячего копчения), инвазированного возбудителями *T. spiralis* и *T. nativa*, мышечные личинки трихинелл сохраняют жизнеспособность и инвазионность в условиях бытового холодильника при температуре $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение 2-х месяцев.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

В связи со сложившейся ситуацией по трихинеллезу в Центральном регионе России, а также учитывая многочисленные сообщения, касающиеся регистрации трихинеллезной инвазии у домашних и диких животных, в целях повышения уровня противотрихинеллезных профилактических мероприятий мы, основываясь на полученных результатах собственных экспериментальных исследований, считаем необходимым рекомендовать:

1. Для изучения современной ситуации по трихинеллезу в Центральном регионе России следует проводить регулярные мониторинговые исследования по данной инвазии общепринятыми методами среди различных видов животных природного и синантропного биоценозов, а также проводить видовое геномное типирование природных изолятов трихинелл методом ПЦР - диагностики.

2. В целях оздоровления территории от инвазии и сокращения уровня зараженности трихинеллами различных видов животных применять оптимизированную систему профилактики в охотохозяйствах включая методы обезвреживания возбудителя трихинеллеза глубоким замораживанием при температуре минус $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Методические положения рассмотрены и одобрены на заседаниях ученого Совета ВИГИС и секции «Инвазионные болезни» РАСХН, Протокол №3 от 04.03.2011 г. и Протокол №3 от 28.02.2013 г.) и сжиганием инвазионного материала в трупосжигательных печах – крематорах, инсенераторах. Шкуры добываемых на охоте пушных зверей обрабатывать и заготавливать согласно принятым методикам по первичной обработке пушного сырья.

3. Считаю целесообразным производить отбор проб для проведения исследований методами компрессорной трихинеллоскопии и ферментативного переваривания в ИЖС, учитывая особенности расселения личинок трихинелл у различных видов животных от следующих мышц:

- у свиней – языка, ножек диафрагмы и массетеров;
- у плотоядных – ножек диафрагмы, диафрагмы, мышцы конечностей.

4. В современных условиях для дифференциальной диагностики личинок разных видов гельминтов следует проводить микроскопию как в компрессориуме, так и после переваривания в искусственном желудочном соке при более чем $\times 40$ -ном увеличении на часовом стекле. Дифференциация должна осуществляться с учетом эпизоотической ситуации в регионе, интенсивности инвазии личинками,

систематического класса гельминтов, наличия или отсутствия капсул и присосок, а также их форм, локализации в мышечных волокнах и туши животного, размера капсул и личинок.

5. Для эффективного и оперативного выявления личинок трихинелл в ходе посмертной диагностики туш животных необходимо использовать метод ферментативного переваривания, в том числе в аппаратах выделения личинок трихинелл типа АВТ и «Гельми», используя для приготовления ИЖС пепсинов для биохимии фирм Акрос (Бельгия), Мерк и Сигма (Германия). При тестировании пепсинов в составе ИЖС на копченых мясных изделиях с использованием аппаратов типа АВТ и «Гельми» рекомендуем проводить исследования в 2 рабочих цикла по 35 минут каждый из-за набухания продуктов в первом цикле работы прибора.

6. Обезвреживание инвазионного материала методом замораживания рекомендуем проводить под действием глубоко отрицательной температуры (минус $70\pm 2^{\circ}\text{C}$), так как личинки гельминта повреждаются за счет быстрого образования кристаллов льда, которые разрушают клеточные мембраны, кутикулу, внутренние органы гельминта.

Использование трупосжигательных печей – крематоров и инснераторов является перспективным, простым и эффективным методом обезвреживания пораженных трихинеллами туш, трупов животных, мясных отходов, обрезки и мездры шкур, поскольку инвазированный материал утилизируется в течение нескольких часов, без остатка отходов, которые привлекают разносчиков инвазии (грызунов и насекомых).

7. Разработанные нами мероприятия вошли в следующие нормативные документы:

- Методика определения жизнеспособности личинок *Trichinella spiralis* и *T. pseudospiralis* (рассмотрены и ободрены секцией «Инвазионные болезни» РАСХН 22.05.09);

- Методические положения по профилактике трихинеллеза животных в охотничьих хозяйствах (рассмотрены и ободрены секцией «Инвазионные болезни» РАСХН 28.02.2013 г.).

- Патент № 2489026 на изобретение «Способ обезвреживания личинок трихинелл методом замораживания в тушках некоторых пушных зверей», зарегистрированный в Государственном реестре изобретений 10.09.2013 г.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Андреев О.Н. Нематодозы диких хищных в Центральном регионе России / Сафиуллин Р.Т., Андреев О.Н., Крючкова Е.Н., Абалихин Б.Г. // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2007 г. – В. 8. – С. 313-315.

2. Андреев О.Н. Паразитофауна хищников семейства псовых в центральном Нечерноземье России/ Андреев О.Н., Сафиуллин Р.Т., Горохов В.В., Крючкова Е.Н., Абалихин Б.Г., Буслаев С.В.// Ветеринария. – 2009. – №6. – С. 37-40.

3. Андреев О.Н. Резистентность к низким температурам трихинелл от лисицы обыкновенной / Скворцова Ф.К., Андреев О.Н. // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2009 г. – В. 10. – С. 377-380.

4. Андреев О.Н. Зараженность хищников семейства псовых в различных эколого-географических зонах Центрального Нечерноземья России / Андреев О.Н., Сафиуллин Р.Т., Горохов В.В., Абалихин Б.Г., Крючкова Е.Н., Буслаев С.В // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2009 г. – В. 10. – С. 17-20.

5. Андреев О.Н. Биологические свойства изолята *Trichinella spiralis* обыкновенной лисицы, пассированного на лабораторных животных // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2009 г. – В. 10. – С. 12-15.

6. Андреев О.Н. Альвеолярный эхинококкоз и трихинеллез диких плотоядных животных в Рязанской области. /Андреев О.Н., Горохов В.В., Сафиуллин Р.Т.// Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2009 г. – В. 10. – С. 15-17.

7. Андреев О.Н. Устойчивость личинок *Trichinella spiralis* в условиях охотхозяйства Рязанской области в зимний период // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2010 г. – В. 11. – С. 19-22.

8. Андреев О.Н. Транзитные хозяева возбудителя трихинеллеза в условиях Центрального региона России // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2011 г. – В. 12. – С. 20-22.

9. Андреев О.Н. Опыт по обезвреживанию возбудителя трихинеллеза в мышечной ткани животных методом глубокого замораживания // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2011 г. – В. 12. – С. 18-20.

10. Андреев О.Н. Обезвреживание личинок трихинелл в мышечной ткани животных методом глубокого замораживания // Российский паразитологический журнал. – №4. – 2011 г.а. – С. 47-51.

11. Андреев О.Н. Механические хозяева возбудителя *Trichinella spiralis* в условиях Рязанской области // Ветеринарная медицина. – № 3-4. – 2011 г.б. – С. 57-58.

12. Андреев О.Н. Заражение малой бурозубки личинками *Trichinella spiralis* посредством личинок мясных мух // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2012 г. – В. 13. – С. 7-9.

13. Андреев О.Н. Экспериментальное заражение транзитных хозяев личинками *Trichinella spiralis* // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2012 г. – В. 13. – С. 9-12.

14. Андреев О.Н. Транзитные переносчики возбудителя трихинеллеза в условиях Рязанской области / Андреев О.Н., Самойловская Н.А., Коняев С.В. // *Материалы Международной научной конференции «Современные проблемы общей паразитологии»*. – Москва. – 2012 г. – С. 16-18.

15. Андреев О.Н. Молекулярно-генетические исследования *Trichinella* spp. в России: первые результаты / Коняев С.В., Кривопапов А.В., Янагида Т., Накао М., Сако Я., Ито А., Малкина А.В., Андреев О.Н., Однокурцев В.А., Есаулова Н.В., Серёдкин И.В., Бондарев А.Я., Ткаченко Л.В. // *Материалы Международной научной конференции: «Современные проблемы общей паразитологии»*. – Москва. – 2012. – С.171-174.

16. Андреев О.Н. Экспериментальный трихинеллез беспозвоночных // *Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Научное обеспечение устойчивого развития отраслей животноводства Российской Федерации»*. – Новочеркасск. – 2012 г. – С. 80-84.

17. Андреев О.Н. Механические переносчики возбудителя *Trichinella spiralis* в условиях Центрального региона России // *Российский ветеринарный журнал*. – №2. – 2012 г.а. – С. 8-10.

18. Андреев О.Н. Заражение малой бурозубки *Trichinella spiralis* посредством личинок мясных мух // *Российский паразитологический журнал*. – №2. – 2012 г.б. – С. 6-7.

19. Андреев О.Н. Лисица обыкновенная – как основной носитель возбудителя трихинеллеза в Рязанской области // *Российский ветеринарный журнал*. – №4. – 2012 г.в. – С. 20-22.

20. Андреев О.Н. Естественное заражение транзитных хозяев *Trichinella spiralis* в природном биоценозе // *Российский паразитологический журнал*. – №3. - 2012 г.г. – С. 7-10.

21. Андреев О.Н. Экспериментальное заражение транзитных хозяев личинками *TRICHINELLA SPIRALIS* // *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. – № 4. – 2012 г. д. – С. 24-27.

22. Андреев О.Н. Экспериментальный трихинеллез беспозвоночных // Тезисы докладов Международной юбилейной научно-практической конференции, посвященной 45-летию ГНУ Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт. «Проблемы ветеринарной медицины в условиях реформирования сельскохозяйственного производства». – Махачкала. – 2012 г. – С. 131-136.

23. Андреев О.Н. Видовое и генетическое разнообразие трихинелл у представителей семейства Псовых (*Canidae*) в России / Тулов А.В., Звержановский М.И., Янагида Т., Коняев С.В., Андреев О.Н., Малкина А.В., Однокурцев В.А., Бондарев А.Я., Серёдкин И.В., Есаулова Н.В., Накао М., Сако Я., Ито А. // *Журнал: Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. – №1. – 2013 г. – С. 35-41.

24. Андреев О.Н. Распределение личинок трихинелл в мездре шкур промысловых плотоядных // *Российский ветеринарный журнал*. – №1. – 2013 г.а. – С. 20-21.

25. Андреев О.Н. Устойчивость личинок трихинелл в подкожной клетчатке шкур пушных зверей / Андреев О.Н., Скворцова Ф.К // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2013 г. – В. 14. – С. 19-21.

26. Андреев О.Н. Выживаемость и инвазионность личинок капсульных трихинелл в мездре шкур рыжей лисицы // Ветеринария. – 2013 г.б. – №5. – С. 31-32.

27. Андреев О.Н. К дифференциальной диагностике возбудителя трихинеллеза / Андреев О.Н., Скворцова Ф.К.// Ветеринария. – 2013. – №8. – С. 32-36.

28. Андреев О.Н. Систематический анализ гельминтофауны хищных млекопитающих Центрального региона России // Российский ветеринарный журнал. – №3. – 2013 г.в. – С. 20-21.

29. Андреев О.Н., Сафиуллин Р.Т. Патент № 2489026 на изобретение «Способ обезвреживания личинок трихинелл методом замораживания в тушках некоторых пушных зверей». Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 10.09.2013 г.

30. Андреев О.Н. Лисица обыкновенная (*Vulpes vulpes*) – потенциальный источник трихинеллеза в Центральном регионе России // Российский паразитологический журнал. – №3. – 2013 г.г. – С. 6-10.

31. Андреев О.Н. Гельминтофауна семейства куньих Рязанской области // Материалы 2-ой Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биоэкологическое краеведение: мировые, российские и региональные проблемы». – Самара. – 14 октября 2013 г. – С. 33-37.

32. Андреев О.Н. Гельминтофауна кабана в Рязанской области // Российский паразитологический журнал. – №4. – 2013 г.д. – С. 7-10.

33. Андреев О.Н. К дифференциальной диагностике трихинеллеза // Российский ветеринарный журнал. – 2013 г.е. – №8. – С. 31-33.

34. Андреев О.Н. Биологические свойства трихинелл, циркулирующих в Центральном регионе России // Ветеринария. – 2014. – №1. – С. 31-33.