

УДК 576.895.1

<https://doi.org/10.31016/978-5-6048555-6-0.2023.24.146-150>

## ПОЛУЧЕНИЕ СТАНДАРТНЫХ КУЛЬТУР ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ОВИЦИДНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

**Герасимов В. Н.<sup>1</sup>,**

доктор биологических наук, заведующий отделом дезинфектологии

**Асланян Е. М.<sup>1</sup>,**научный сотрудник отдела дезинфектологии,  
askanas@yandex.ru**Тырышкина А. И.<sup>1</sup>,**

лаборант-исследователь отдела дезинфектологии

**Леонтьева Н. А.<sup>1</sup>,**

лаборант-исследователь отдела дезинфектологии

### Аннотация

В профилактике паразитарных болезней важное место занимает поиск новых высокоэффективных химических препаратов для дезинвазии объектов окружающей среды. При отборе дезинфектантов в качестве тест-объектов часто используют яйца гельминтов. Наличие качественного и стандартного тест-материала во многом способствует успешному проведению исследований. Однако публикаций, посвященных методической стороне этой проблемы, явно недостаточно. Наиболее устойчивы к воздействию химических веществ яйца аскаридат (*Ascaris suum*, *Toxocara canis* и др.), поэтому тестирование на них позволяет выявить наиболее эффективные средства для целей дезинвазии. Отдельного внимания заслуживает такой объект, как *Enterobius vermicularis* – возбудитель энтеробиоза, самого распространенного из гельминтозов человека. В настоящей работе описаны методы получения стандартных культур яиц таких тест-объектов, как *A. suum* и *E. vermicularis*. Получению более стандартной культуры яиц *A. suum* способствует сбор материала только от самок с высокой жизнеспособностью яиц, а также разрушение конгломератов яиц в суспензии при помощи гипохлорита натрия. Стандартизация культуры яиц *E. vermicularis* достигается тем, что после пред-

---

<sup>1</sup> Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (142279, Россия, г. о. Серпухов, р. п. Оболенск, Территория «Квартал А», д. 24)

варительного просмотра отбирают только пробы, содержащие здоровые жизнеспособные яйца.

**Ключевые слова:** методы, получение яиц гельминтов, тест-культура

## OBTAINING STANDARD HELMINTH EGG CULTURES FOR STUDYING THE OVICIDAL EFFICACY OF CHEMICALS

Gerasimov V. N. <sup>1</sup>,

Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Disinfectology

Aslanyan E. M. <sup>1</sup>,

Researcher of the Department of Disinfectology,  
askanas@yandex.ru

Tyryshkina A. I. <sup>1</sup>,

Laboratory Assistant Researcher of the Department of Disinfectology

Leontyeva N. A. <sup>1</sup>,

Laboratory Assistant Researcher of the Department of Disinfectology

### Abstract

In the prevention of parasitic diseases, an important place is occupied by the search for new highly effective chemicals for the disinfection of environmental objects. When selecting disinfectants, helminth eggs are often used as test objects. The availability of high-quality and standard test material contributes greatly to successful research. However, publications devoted to the methodological side of this problem are clearly not enough. Ascaridata eggs (*Ascaris suum*, *Toxocara canis*, etc.) are the most resistant to chemicals, so testing on them allows us to identify the most effective means for the purposes of disinfection. Special attention should be paid to such an object as *Enterobius vermicularis*, the causative agent of enterobiasis, the most common of helminth infections in humans. This paper describes methods for obtaining standard egg cultures of such test objects as *A. suum* and *E. vermicularis*. A more standard *A. suum* egg culture is facilitated by material collected only from females with high egg viability, as well as the destruction of egg conglomerates in a suspension using sodium hypochlorite. Standardization of the *E. vermicularis* egg culture is only achieved by taking samples containing healthy viable eggs after the preview.

**Keywords:** methods, obtaining helminth eggs, test culture

---

<sup>1</sup> Federal Budget Institution of Science "State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology" (24, "Quarter A" Territory, work settlement Obolensk, City District Serpukhov, 142279, Russia)

**Введение.** При отборе дезинфектантов для дезинвазии часто используют яйца гельминтов в качестве тест-объектов. Наиболее устойчивы к воздействию химических веществ яйца аскаридат (*Ascaris suum*, *Toxocara canis* и др.), и тестирование на них позволяет выявить наиболее эффективные средства. Отдельного внимания заслуживает такой объект, как *Enterobius vermicularis*, возбудитель энтеробиоза – самого распространенного из гельминтозов человека. Яйца этих нематод также весьма устойчивы к действию препаратов и являются целевым объектом поиска средств для профилактики энтеробиоза. В публикациях, посвященных исследованию овицидной эффективности, на наш взгляд, недостаточно внимания уделяется методической стороне получения стандартных культур яиц тест-объектов.

**Материалы и методы.** В настоящей работе описаны методы получения стандартных культур яиц *A. suum* и *E. vermicularis*.

**Результаты исследований.** Для получения яиц свиной аскариды (*A. suum*) ищут взрослых нематод в тонком кишечнике поросят. Обнаруженных гельминтов промывают, отбирают наиболее крупных (не менее 20 см) и сортируют по полу. Самцов, у которых, в отличие от самок, хвостовой конец закручен в сторону брюшка, уничтожают. Самок вскрывают, извлекают матку и выделяют яйца. Вскрытие производят под водой в кювете с восковым слоем на дне. Нематоду растягивают, закрепляя косо направленными булавками головной и хвостовой концы тела. Затем разрезают маленькими острыми инструментами (скальпелем и ножницами) покровы тела по средней линии спинной стороны, от центра к головной и хвостовой части. Края разреза фиксируют булавками. Парные половые органы аскариды заполняют большую часть тела. Два нитевидных яичника переходят в яйцеводы, последние завершаются трубчатыми матками – самыми широкими участками половых путей. В верхней трети тела матки соединяются в непарное короткое влагалище, которое открывается наружу половым отверстием на брюшной стороне. Для получения культуры стандартных яиц берут конечные отделы матки (примерно одну шестую часть длины всей половой системы, на расстоянии 1–1,5 см от влагалища) и измельчают их в небольшом объеме воды при помощи ножниц. К полученной суспензии прибавляют воду и дважды центрифугируют по 3 мин при скорости вращения 1500 об/мин, сливая каждый раз надосадочную жидкость (1). Если яйца легко выдавливаются из матки пинцетом, то их суспензию не центрифугируют. Яйца, выделенные от разных самок, собирают в отдельные пронумерованные пробирки и хранят в небольшом объеме физиологического раствора, со-

держашего 0,5% формалина при 5 °С. По 200–400 яиц каждой самки переносят в пробирки «Эппендорф» и культивируют в оптимальных условиях в течение 2–3 недель. За время культивирования в зрелых, жизнеспособных яйцах развиваются личинки и при подогревании заметно их шевеление. Яйца из пробирок, в которых оказалось более 50% жизнеспособных яиц, объединяют в общую культуру, присваивают ей коллекционный номер и используют для исследования овицидных свойств дезинфектантов. На контейнере, в котором она содержится, указывают вид гельминта, номер культуры, дату выделения яиц и число яиц в 1 см<sup>3</sup>. Яйца из остальных пробирок уничтожают. Яйца, выделенные из маточных канальцев самок, часто бывают склеены между собой белковым секретом, что делает невозможным их использование в качестве тест-объекта. Такие яйца подвергают специальной обработке – в течение 3–5 минут интенсивно перемешивают в 3% растворе гипохлорита натрия (2). Затем яйца переносят на мельничной газ, в форме воронки закрепленный на химическом стакане, и промывают дистиллированной водой. На контейнере с такой культурой, помимо прочего, указывают, что яйца обработаны гипохлоритом. Чувствительность обработанных яиц к воздействию химических веществ выше, чем необработанных. Полученные культуры яиц *A. suum* хранят в физиологическом растворе, содержащем 0,5% формалина при 5 °С. Срок хранения обычно составляет 2 года. Но если жизнеспособность яиц культуры превышает 50%, то возможно ее дальнейшее использование.

Доступным источником яиц *E. vermicularis* для исследований могут служить положительные пробы на энтеробиоз, собранные при помощи ватных палочек, смоченных в глицерине. Пробы, по договоренности с руководством, можно получить из клинико-диагностических лабораторий при учреждениях здравоохранения. Однако, существенным недостатком такого материала является его нестандартность. Часто в пробах, взятых после лечения, яиц бывает мало, большинство из них деформированы и содержат погибшую личинку. Из 10 полученных проб обычно только 1 или 2 содержат большое число здоровых жизнеспособных яиц. Это обстоятельство требует предварительного просмотра поступившего материала.

Культуру яиц для тестирования готовят следующим образом. В каждый контейнер с положительной пробой наливают по 1 мл физиологического раствора и обмывают в нем ватную палочку, несущую на себе яйца остриц. После перемешивания из полученной суспензии берут 3 капли по 10 мкл, наносят их на предметное стекло и про-

смаатривают в световом микроскопе при увеличении 100х. Считают число яиц в каждой капле и определяют их среднее число в 10 мкл. Обязательно оценивают состояние яиц. Пробы, в которых большинство яиц по виду нежизнеспособны, сразу выбрасывают. Суспензию с яйцами из остальных контейнеров собирают в коническую пробирку объемом 50 мл. Если предварительный подсчет яиц показал, что в 10 мкл суспензии более 10 яиц, то в такие контейнеры наливают еще по 1 мл физиологического раствора, снова обмывают в нем ватную палочку и подсчитывают число яиц. Так делают до тех пор, пока в 10 мкл суспензии окажется менее 10 яиц. Тогда, собрав суспензию, контейнер сбрасывают. Собранную суспензию яиц отстаивают не менее 30 минут, после чего удаляют надсадочную жидкость до уровня 2 см и переносят оставшуюся часть в пробирку «Эппендорф». Определяют плотность яиц в полученной культуре и используют ее в опытах по определению овицидной эффективности в течение 1–2 дней. Длительному хранению культура яиц *E. vermicularis* не подлежит.

**Заключение.** Получению более стандартной культуры яиц *A. suum* способствует сбор материала только от самок с высокой жизнеспособностью яиц, а также разрушение конгломератов яиц в суспензии при помощи гипохлорита натрия. Стандартизация культуры яиц *E. vermicularis* достигается тем, что после предварительного просмотра отбирают только пробы, содержащие здоровые жизнеспособные яйца.

#### Список источников

1. Алфеев Н. И., Брегетова Н. Г., Гнездилев В. Г. и др. Лабораторный практикум медицинской паразитологии. Ленинград: Медгиз. Ленингр. отд-ние, 1959. 487 с.
2. Oh K. S., Kim G. T., Ahn K. S., Shin S. S. Effects of disinfectants on larval development of *Ascaris suum* eggs // The Korean journal of parasitology. 2016; 54(1): 103-107.

#### References

1. Alfeev N. I., Bregetova N. G., Gnezdilov V. G. et al. Laboratory practicum in medical parasitology. Leningrad, Medgiz. Leningrad Department, 1959. 487 p. (In Russ.)
2. Oh K. S., Kim G. T., Ahn K. S., Shin S. S. Effects of disinfectants on larval development of *Ascaris suum* eggs. *The Korean journal of parasitology*. 2016; 54(1): 103-107.