

УДК 619:616.995.132

<https://doi.org/10.31016/978-5-6048555-6-0.2023.24.337-342>

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТОКСОПЛАЗМОЗА И ТОКСОКАРОЗА

Новак М. Д. ¹,доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры эпидемиологии,
peace100@mail.ru**Новак А. И. ¹,**доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры микробиологии,
marieta69@mail.ru**Канина И. В. ¹,**аспирант, ассистент кафедры микробиологии,
kanina.irina1987@yandex.ru

Аннотация

Проведены препаративные иммунологические и серологические исследования на токсоплазмоз и токсокароз. Разработаны антигенные и антительные иммунореагенты на основе пролиферативных форм *Toxoplasma gondii*, экскреторно-секреторных компонентов личиночных стадий *Toxocara canis* и специфических иммунных сывороток. При использовании полученных диагностических препаратов с помощью иммунохроматографического метода (ИХМ) исследованы сыворотки крови сельскохозяйственных, плотоядных животных и человека на антитела и антигены к токсоплазмам и токсокарам. Антитела IgG к *Toxoplasma gondii* в ИФА обнаружены у юношей до 17 лет. Исследование с помощью ИХМ экспресс-теста сывороток крови домохозяек и студентов из стран Северо-Западной Африки позволило выявить антигены токсоплазм соответственно в 1,2 и 9,0% случаев, антитела — 10,5 и 16,0%. Применение ИХМ в разных возрастных группах людей показало наиболее высокий уровень серопозитивности к *Toxocara canis* среди детей, подростков и молодых людей от 9–12 до 17–20 лет. Иммунохроматографический анализ относится к группе молекулярно-биологических методов и в варианте экспресс-теста позволяет надежно выявлять как антигены возбудителей, так и антитела к ним. Информативность ИХМ составляет 98% при высокой чувствительности. Применение вышеуказанного метода в варианте экспресс-те-

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (390026, Россия, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9)

ста дает возможность сероэпидемиологического и сероэпизоотологического мониторинга на острый и латентный токсоплазмоз, а также – на токсокароз (синдром «larva migrans»).

Ключевые слова: токсоплазмоз, токсокароз, антигенные и антительные иммунореагенты, ИФА, иммунохроматографический метод

APPLICATION OF THE IMMUNOCHROMATOGRAPHIC METHOD FOR THE DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS AND TOXOCARIASIS

Novak M. D.¹,

Doctor of Biological Sciences, Professor,
Professor of the Department of Epidemiology,
peace100@mail.ru

Novak A. I.¹,

Doctor of Biological Sciences, Associate Professor,
Professor of the Department of Microbiology,
marieta69@mail.ru

Kanina I. V.¹,

Postgraduate Student, Assistant of the Department of Microbiology,
kanina.irina1987@yandex.ru

Abstract

Preparative immunological and serological studies for toxoplasmosis and toxocariasis were carried out. Antigenic and antibody immunoreagents based on proliferative forms of *Toxoplasma gondii*, excretory and secretory components of larval stages of *Toxocara canis* and specific immune sera were developed. When using the obtained diagnostic preparations, the blood serum of livestock and carnivorous animals and humans was examined for Toxoplasma and Toxocara antibodies and antigens using the immunochromatographic assay (ICA). IgG to *Toxoplasma gondii* in an ELISA were found in young men under 17 years of age. A study using the ICA express test of blood serum of housewives and students from the Northwest African countries revealed Toxoplasma antigens in 1.2 and 9.0%, respectively, and antibodies in 10.5 and 16.0%. The ICA in different age groups of people showed the highest level of *Toxocara canis* seropositivity among children, adolescents and young people aged from 9–12 to 17–20 years. Immunochromatographic assay belongs to the group of molecular biological methods and allows reliable detection, in the express test

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "I. P. Pavlov Ryazan State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (9, Vysokovolt'naya st., Ryazan, 390026, Russia)

variant, of both pathogen antigens and antibodies. The ICA informativeness is 98% with high sensitivity. The above method in the express test variant makes it possible to seroepidemiological and seroepizootological monitoring for acute and latent toxoplasmosis, as well as for toxocariasis (larva migrans syndrome).

Keywords: toxoplasmosis, toxocariasis, antigenic and antibody immunoreagents, ELISA, immunochromatographic assay

Введение. Токсоплазмоз распространен среди животных и людей на разных континентах, во всех природно-географических зонах [4, 5]. В Российской Федерации на токсоплазмоз серопозитивны от 9 до 25% людей [1, 4]. По результатам исследований диагностируют преимущественно латентную и субклиническую формы заболевания. Острая форма токсоплазмоза иногда проявляется пневмонией, лимфаденитами, хориоретинитом и другой патологией органов зрения. При внутриутробном заражении у новорожденных токсоплазмоз протекает с симптомами менингоэнцефалита и гидроцефалии [1, 4].

Токсокароз регистрируется среди плотоядных животных во многих странах мира. В разных регионах России диагноз на токсокароз установлен у 8,5–75% собак. Щенки в возрасте от рождения до 30 дней заражены токсокарами на 90–100%. Широкое распространение токсокароза объясняется пожизненным носительством личинок *Toxocara canis* и их трансплацентарной передачей.

Инвазированные токсокарами щенки представляют эпидемическую опасность. Многообразная патология, обусловленная личинками токсокар у людей, известна как синдром «larva migrans».

Важным этапом в комплексе профилактических и оздоровительных мероприятий при токсоплазмозе и токсокарозе является диагностика.

Наиболее перспективны для выявления острой формы заболеваний такие высокоспецифичные, чувствительные тесты, как иммунохроматографический метод (ИХМ) и его экспресс-вариант. Для ретроспективной диагностики и выявления антител к токсоплазмам, личинкам токсокар при латентной, субклинической и хронической формах токсоплазмоза и при синдроме «larva migrans» *Toxocara canis* рекомендуется проводить скрининг в РНГА, НРИФ и ИФА [2, 3].

В качестве антигена для методов иммунодиагностики токсоплазмоза и ларвального токсокароза целесообразно использовать соответственно комплексный мембрано-цитоплазматический лизат трофозоитов *Toxoplasma gondii* и экскреторно-секреторные продукты личинок *Toxocara canis* [2].

При анализе эпизоотической и эпидемической ситуации по токсоплазмозу и токсокарозу следует учитывать реальный уровень ветеринарно-санитарных, санитарно-гигиенических и карантинно-ограничительных мероприятий [4].

Материалы и методы. Научно-производственная работа выполнена на кафедрах микробиологии и эпидемиологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Используются следующие общепринятые методы исследования: копроовоскопические, серологические (иммуоферментный анализ — ИФА), иммунохроматографический анализ (ИХМ) и микробиологические (микроскопия мазков-отпечатков из тканей).

В Центральном районе Российской Федерации людей, сельскохозяйственных животных и плотоядных исследовали на токсоплазмоз и токсокароз с помощью ИФА и ИХМ на антитела и антигены, используя в качестве позитивного контроля иммунные сыворотки кроликов, токсоплазменный и токсокаровый антигены. Мазки-отпечатки из тканей после фиксации 96% этиловым спиртом окрашивали азур-эозином по Романовскому и микроскопировали с использованием иммерсионной системы (ок. 10 × об. 90).

Имунохроматографический метод в экспресс-варианте выполняли с использованием сывороток крови кроликов, иммунизированных комплексным (мембрано-цитоплазмным) антигеном трофозоитов *Toxoplasma gondii* и экскреторно-секреторным антигеном личинок второй стадии *Toxocara canis*.

Основные компоненты ИХМ: блоттинг — мембрана Bio-Rad с высоким показателем плотности нитроцеллюлозы, раствор метиленового синего на ФСБ (рН=7,2-7,4) — 1:500, гипериммунная токсоплазменная кроличья сыворотка с титром антител в ИФА 1:1600, негативные кроличьи сыворотки, исследуемые сыворотки крови крупного рогатого скота и свиней, суспензия из селезенки и лимфатических узлов свиней. Оценку (визуализацию) экспресс-теста ИХМ осуществляли через 3—5 минут с момента точечного нанесения последнего компонента. Положительным результатом считали образование поперечных параллельно расположенных линий темно-синего цвета. В контрольной зоне, а также при исследовании отрицательных на токсоплазмоз сывороток крови человека, животных и образцов тканей свиней — равномерный светло-голубой фон.

Результаты исследований. Проведены серологические исследования людей, крупного рогатого скота, свиней на антигены *Toxoplasma gondii* и антитела к ним. Антитела IgG в ИФА (латентная форма токсоплаз-

моза) обнаружены у юношей до 17 лет. При исследовании с помощью ИХМ экспресс-теста сывороток крови домохозяек и студентов из стран Северо-Западной Африки антигены токсоплазм установлены соответственно в 1,2 и 9,0%, антитела – в 10,5 и 16,0% случаев.

Применение иммунохроматографического метода (ИХМ) в варианте экспресс-теста для выявления циркулирующих антигенов и антител *Toxoplasma gondii* в сыворотках крови животных показало следующие результаты: свиньи – 9,5–37,0%, крупный рогатый скот – 5,5–18,5%. В мазках-отпечатках из головного мозга, сердца, селезенки и лимфатических узлов свиней, положительных на токсоплазмоз в ИХМ, трофозоиты токсоплазм обнаружены в 98,0% случаев.

В неблагополучных хозяйствах у свиноматок отмечены аборт в первой половине беременности, а у поросят из приплода от серопозитивных животных – случаи гермафродитизма.

Исследования на антигены токсоплазм с помощью ИХМ образцов тканей мышевидных грызунов показали положительные результаты в 30,0% случаев и корреляцию с данными микроскопии окрашенных мазков-отпечатков в 97,0%. Более чем у 20,0% мышей, отловленных в лесостепной зоне, выявлены признаки гермафродитизма, что свойственно патологии токсоплазмозной этиологии.

При сопоставлении результатов исследований спонтанно зараженных токсокарами щенков при помощи ИХМ и флотационных копроовоскопических методов выявлена полная корреляция. У взрослых собак данные серологического скрининга на токсокароз не соответствуют копроовоскопическому анализу, так как нематоды до половозрелых форм не развиваются. Достаточно редкие случаи обнаружения яиц токсокар в фекалиях кормящих плотоядных объясняются заражением от щенков в возрасте старше одного месяца, формированием напряженного нестерильного иммунитета и, как следствие, транзиторным распространением возбудителя токсокароза.

Применение диагностических препаратов на основе антигенов *Toxocara canis* и антител к ним при исследовании с помощью ИХМ в разных возрастных группах людей позволило установить наиболее высокий уровень серопозитивности среди детей, подростков и молодых людей от 9–12 до 17–20 лет. В большинстве случаев (18–20%) выявлены антитела к личинкам токсокар, что соответствует латентной форме «larva migrans» и только в 4 из 250 (1,6%) случаев – циркулирующие антигены, подтверждающие острую форму заболевания.

Заключение. Проведенный мониторинг по токсоплазмозу и токсокарозу позволил установить широкое распространение этих зоонозов. Заболевания протекают преимущественно в латентной, субклинической форме, но при снижении популяционного иммунитета, при иммунодефицитных состояниях различной этиологии может наблюдаться тяжелое течение с чередованием рецидивов и ремиссий.

Иммунохроматографический метод следует использовать для выявления антигенов токсоплазм и токсокар, антител к ним при исследовании сывороток крови людей в клинко-диагностических центрах и подразделениях центров планирования брака и семьи, а животных – в животноводческих хозяйствах и мясоперерабатывающих предприятиях, в кинологических центрах и питомниках служебного собаководства, на зверофермах. Большое значение имеет мониторинг вышеуказанных зоонозов в природных очагах на основании результатов исследований мышевидных грызунов. ИХМ экспресс-тест – информативный и эффективный метод диагностики токсоплазмоза и токсокароза.

Список источников

1. Доронин-Доргелинский Е. А., Сивкова Т. Н. Распространение токсоплазмоза и саркоцистоза у человека и животных, правовое регулирование организации борьбы с ними // Российский паразитологический журнал. 2017. Т. 39. № 1. С. 35-41.
2. Новак М. Д., Енгашев С. В. Паразитарные болезни животных: учебное пособие. М.: ИНФРА-М, 2013. 191 с.
3. Сивкова Т. И., Катаева Н. Н. Сероэпизоотологические исследования при токсоплазмозе собак г. Перми // Российский паразитологический журнал. 2008. № 3. С. 60-62.
4. Степанова Н. И., Смайкина М. Г. Токсоплазмоз животных и человека. М.: Россельхозиздат, 1970. С. 6-11.
5. Dubey J. P. Toxoplasmosis of Animals and Humans. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2010. 313 p.

References

1. Doronin-Dorgelinsky E. A., Sivkova T. N. The spread of toxoplasmosis and sarcocystosis in humans and animals, and legal regulation of their control organization. *Russian Journal of Parasitology*. 2017; 39(1): 35-41. (In Russ.)
2. Novak M. D., Engashev S. V. Parasitic diseases of animals: Study guide. Moscow, INFRA-M, 2013. 191 p. (In Russ.)
3. Sivkova T. I., Kataeva N. N. Seroepizootological studies in toxoplasmosis of dogs in Perm. *Russian Journal of Parasitology*. 2008; 3: 60-62. (In Russ.)
4. Stepanova N. I., Smaikina M. G. Toxoplasmosis of animals and humans. Moscow, Rosselkhozizdat, 1970: 6-11. (In Russ.)
5. Dubey J. P. Toxoplasmosis of Animals and Humans. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2010. 313 p.