УДК 619:616.995.132.6:1-07

DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-27-32

Определение роли личинок трихинелл на ранних стадиях развития в распространении трихинеллеза

Фаина Клавдиевна Скворцова [1], Александр Витальевич Успенский [2]

[1–2] Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал
117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail:

Поступила в редакцию: 18.06.2018; принята в печать: 25.09.2018

Аннотация

Цель исследования: *определение резистентности к низким температурам инвазионных неинкапсулированных личинок трихинелл Trichinella spiralis и T. nativa в мышечной ткани животных, а также выявление возможности развития или сохранения этих личинок в мышечной ткани при различных положительных температурных режимах.*

Материалы и методы. *Материалом для изучения и сравнения служили образцы мышечной ткани от экспериментально зараженных T. spiralis и T. nativa белых крыс. Всего было заражено 20 беспородных белых крыс массой 100–150 г в дозе 10 л/г. Убой животных проводили через 15, 16, 17, 24 и 30 сут после заражения. Для сравнительной диагностики и достоверности опытов для пептолиза брали только фарш от задних конечностей крыс массой 50 г на 1 л ИЖС. По окончании цикла работы аппарата при микроскопировании учитывали число выделенных личинок и их морфологию. Для микрофотографирования использовали микроскоп ZEISS Primo Star. Выполнены микрофотографии трихинелл, выделенных после переваривания на ранних сроках (16–24-е сутки) для уточнения изменений в морфологии развивающихся личинок.*

Результаты и обсуждение. *Установлено, что личинки трихинелл 17–18-дневного возраста этих видов неустойчивы к воздействию низких температур и погибают в течение суток при температуре -7°С. Инвазионные личинки неинкапсулированные или со слабовыраженной капсулой 24- и 30-дневного возраста неустойчивы к воздействию низких температур и, в основном, погибают при -7–15°С в течение 24 ч. Неинкапсулированные личинки T. spiralis и T. nativa 15, 16- и 17- суточного возраста при положительных температурах не развиваются морфологически в мышечной ткани убитого животного, но могут сохранять жизнеспособность и, возможно, инвазионность при гниении в течение некоторого времени, необходимое для смены хозяина и таким образом могут служить источником инвазии.*

Ключевые слова: *трихинеллез, личинки трихинелл, T. spiralis, T. nativa, пептолиз, трихинеллоскопия.*

Для цитирования: *Скворцова Ф. К., Успенский А. В. Определение роли личинок трихинелл на ранних стадиях развития в распространении трихинеллеза // Российский паразитологический журнал. 2018. Т. 12. № 3. С. 27–32.*

DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-27-32

© Скворцова Ф. К., Успенский А. В.

Determination Role of Trichinella larvae at Early Stages of Development in Spread of Trichinellosis

Faina K. Skvortsova [1], Aleksandr V. Uspensky [2]

[1–2] All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants - branch
28, B. Cheremushkinskaya Street, Moscow, 117218, e-mail:

Received on: 18.06.2018; accepted for printing on: 25.04.2018

Abstract

The purpose of the research *is the determination of resistance to low temperatures of invasioned nonencapsulated Trichinella spiralis and T. nativa Trichinella larvae in muscular tissue of animals as well as detection of opportunity to develop or keeping these larvae in muscular tissue under different positive temperature conditions.*

Materials and methods. *The material for study and comparison were samples of muscular tissue of white rats experimentally infected by T. spiralis and T. nativa. In total 20 outbred white rats with body weight of 100–150 g were infected in a dose of 10 l/g. Animals were slaughtered in 15th, 16th, 17th, 24th and 30th day after infection. For comparative diagnostics and confidence of experiments only forced meat from hind legs of rats with body weight of 50 g per 1 l of simulated gastric fluid have been taken for peptolysis. The quantity of separated larvae and their morphology have been taking into account during microscopic examination after completion of operation period. Microscope ZEISS Primo Star. was used for microphotographing. Photomicrography of Trichinella separated after digestion on early terms (16–24 days) were made for detailing changes in the morphology of the evaluative larvae.*

Results and discussion. *It has been established that Trichinella larvae of this spice at the age of 17–18 days are nonsustained to low-temperature exploration and died within 24 hours at a temperature -7 °C. Infective larvae nonencapsulated or with ill-defined capsule at the age of 24 and 30 days are nonsustained to low-temperature exploration and mainly died at -7–15°C within 24 hours. Nonencapsulated T. spiralis u T. nativa larvae aged 15, 16, and 17 days at positive temperature do not go on morphologically in muscular tissue of murdered animal but they can keep viability, and probably invasiveness in the process of decomposition during some period of time needed to rotation of host and as a result they can be the source of invasion.*

Keywords: *trichinellosis, Trichinella larvae, T. spiralis, T. nativa, peptolisis, trichinelloscopy.*

For citation: *Skvortsova F. K., Uspensky A. V. Determination Role of Trichinella larvae at Early Stages of Development in Spread of Trichinellosis. Rosiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology. 2018; 12(3):27–32. DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-27-32*

Введение

Заражение животных трихинеллами в естественных условиях и в условиях животноводческих хозяйств происходит при поедании мяса с инвазионными личинками трихинелл. Считается, что заражать людей и восприимчивых к трихинеллезу животных могут лишь инкапсулированные трихинеллы.

Развитие трихинелл от инвазионной личинки, попавшей в организм хозяина, до половозрелой стадии и отрождения юных личинок, их морфогенеза и вновь до инвазионной стадии, происходит очень быстро. По различным данным личинки трихинелл капсулообразующих видов достигают инвазионной стадии в зависимости от вида хозяина и интенсивности заражения на 17–18-е сутки после заражения, когда у большинства личинок заканчивается органогенез и начинается формирование начальной капсулы, которое обычно продолжается еще 10–12 сут [3, 5, 6]. По другим данным, неинкапсулированные трихинеллы могут инвазировать животных уже с 16,5 сут после кормления трихинеллезным мясом [2, 4].

Отсутствие четко различимой капсулы у инвазионных личинок в раннем возрасте (16–24-е сутки после заражения) затрудняет постановку диагноза. В этот период диагностика на трихинелеллез, основанная на обнаружении капсул с личинками, может быть недостоверной. Таким образом, часть инвазионных неинкапсулированных личинок или личинок с формирующейся капсулой на ранних стадиях развития могут оказаться невыявленными. Особенно это актуально при спонтанном заражении промысловых животных и обычной при этом невысокой интенсивности инвазии.

По нашим данным, при компрессорном исследовании инвазированного мяса в жидкости возле среза начиная с 6-х суток после заражения можно обнаружить неподвижные бесцветные личинки трихинелл. При пептолизе мышечной ткани выделяются единичные подвижные 16-дневные трихинеллы. Через сутки число выделившихся после пептолиза трихинелл значительно возрастает и увеличивается с каждым днем. Трихинеллы *T. spiralis* в возрасте 16 сут не вызывают инвазии у крыс, а в возрасте 17 сут уже способны вызывать инвазию у восприимчивых животных [7]. Личинки трихинелл устойчивы к перевариванию с 17-х суток после заражения и с этого возраста считаются инвазионными [8].

Имеются многочисленные сведения о резистентности к холоду (замораживанию) только инкапсулированных личинок в мышечной ткани животных [1]. Данных о воздействии низких температур на инвазионных, но еще неинкапсулированных (т.е. не образовавших капсул) личинок в возрасте от 17 до 24–30 сут после заражения нет. Имеющиеся сведения о развитии трихинелл свидетельствуют о том, что данный паразит на стадии роста и развития очень чувствителен к изменениям температуры.

Следовательно, реальная возможность заражения человека и животных трихинеллами из-за недостаточно верной диагностики весьма высока.

Целью исследования было определение резистентности к низким температурам инвазионных, но еще неинкапсулированных личинок трихинелл *T. spiralis* и *T. nativa* в мышечной ткани животных, а также выявление возможности дальнейшего сохранения или развития неинкапсулированных личинок *T. spiralis* и *T. nativa* 15, 16- и 17-суточного возраста в мышечной ткани убитого животного в течение разного времени хранения при различных положительных температурных режимах.

Материалы и методы

Материалом для изучения и сравнения служили образцы мышечной ткани от экспериментально зараженных *T. spiralis* и *T. nativa* белых крыс. Всего было заражено 20 беспородных белых крыс массой 100–150 г в дозе 10 л/г. Убой животных проводили через 15, 16, 17, 24 и 30 сут после заражения.

Для выявления личинок трихинелл вначале изучали срезы массетеров от каждой тушки крысы компрессорным методом. Для выделения личинок трихинелл использовали аппарат «Гастрос». Применяли стандартный метод переваривания мышечной ткани с использованием пепсина марки Акрос в дозе 3 г/л.

Определение резистентности к низким температурам инвазионных, но еще неинкапсулированных, трихинелл *T. spiralis* и *T. nativa* в мышечной ткани животных имеет большое значение для диагностики трихинеллеза. Определение устойчивости к низким температурам инвазионных, но еще неинкапсулированных личинок трихинелл проводили на 17, 18, 24- и 30-е сутки после заражения крыс трихинеллами. Тушки крыс выдерживали при температурных режимах -7, -15 и -23 °С в течение 24 ч. Трихинелл выделяли до и после замораживания методом пептолиза, изучение жизнеспособности – методом прогревания в термостате при 40 °С в течение 15–20 мин.

Для сравнительной диагностики и достоверности опытов для пептолиза брали только фарш от задних конечностей крыс массой 50 г на 1 л ИЖС.

Изучена возможность сохранения или дальнейшего развития неинкапсулированных личинок *T. spiralis* и *T. nativa* 15-, 16- и 17-дневного возраста в мышечной ткани убитого животного в течение разного времени хранения тушки (3–5 сут) при различных положительных температурных режимах. В контроле компрессорным методом выявляли наличие личинок трихинелл в массетере крыс через 15, 16 и 17 сут после заражения. Параллельно методом пептолиза устанавливали наличие инвазионных личинок в образцах мышечной ткани из одной половины тушки крыс.

По окончании цикла работы аппарата при микроскопировании учитывали число выделенных личинок и их морфологию. Для микрофотографирования использовали микроскоп ZEISS Primo Star. Выполнены микрофотографии трихинелл, выделенных после переваривания на ранних сроках (16–24-е сутки) для уточнения изменений в морфологии развивающихся личинок.

Результаты и обсуждение

Воздействие низких температур на неинкапсулированных личинок трихинелл. В контроле при компрессорном исследовании через 17 сут личинки разных размеров видны в жидкости возле среза. Наряду со светлыми и почти прозрачными юными личинками встречались единичные темные личинки с оформленной пищеварительной и половой системами длиной до 0,6–0,7 мм (рис. 1). Такие же личинки в небольшом количестве встречались в толще среза.

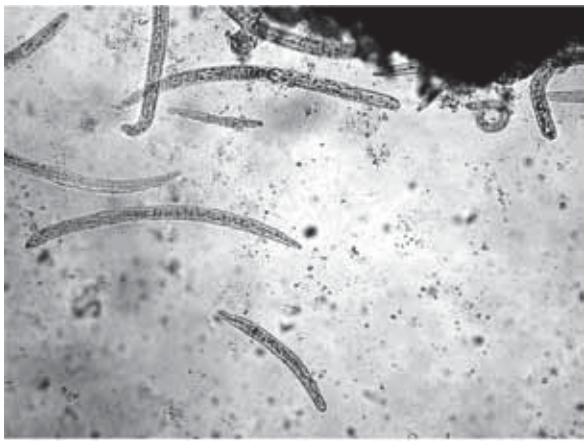

Рис. 1. Личинки *T. spiralis* в жидкости возле среза на 17-е сутки после заражения при компрессорном исследовании

Через 18 сут увеличилось число темных подвижных личинок длиной до 0,8 мм в жидкости возле среза. В мышечной ткани встречались личинки с изогнутыми концами, свернутые дугообразно, в виде овала или петли, редко – свернутые спиралью, которые были хорошо видны на тонких срезах при увеличении × 50 и 100.

После пептолиза на 17-е сутки после заражения обнаружили небольшое число темных подвижных личинок с полностью сформированной пищеварительной и половой системами размером не более 0,8 мм (рис. 2). На 18-е сутки число выделившихся личинок увеличилось вдвое.

Рис. 2. Жизнеспособные личинки *T. spiralis* после пептолиза на 17-е сутки после заражения

При изучении устойчивости личинок к замораживанию при температуре -7 °С в течение 24 ч установлено, что инвазионные, но еще неинкапсулированные трихинеллы *T. spiralis* и *T. nativa* 17- и 18-дневного возраста после пептолиза были неподвижны, раскручены, обесцвечены и не реагировали на нагревание (рис. 3).

Рис. 3. Нежизнеспособные 17-дневные личинки *T. spiralis* после пептолиза

В контроле при компрессорном исследовании через 24 сут в жидкости возле среза обнаружили единичные светлые личинки и большое число полностью сформированных подвижных трихинелл длиной до 1 мм.

На срезе в мышечной ткани вокруг некоторых личинок различали тонкие капсулы, которые видны при увеличениях × 50 и 100. Большинство личинок изогнуты дугообразно или скручены в спираль без заметных границ капсулы и хорошо видны при трихинеллоскопии (рис. 4).

Рис. 4. Личинки *T. spiralis* на срезе диафрагмы на 24-е сутки после заражения

При пептолизе выделили большое число полностью сформированных личинок длиной около 1 мм.

После замораживания при -7 °С в течение 24 ч небольшая часть 24-дневных *T. spiralis* и *T. nativa*, вероятно, имеющая сформированную капсулу, выживала, так как после пептолиза единичные выделившиеся личинки были подвижны. При -15 и -23 °С все личинки этого возраста погибали в течение суток. После пептолиза находили только неподвижные обесцвеченные личинки.

После выдерживания в холодильной камере при температуре -15 °С в течение суток единичные личинки трихинелл 30-дневного возраста после пептолиза сохраняли подвижность при нагревании.

При замораживании при температуре -23 °С в течение 24 ч подвижных трихинелл этого возраста после пептолиза не обнаружили.

Установлено, что инвазионные, но неинкапсулированные личинки трихинелл 17- и

18-дневного возраста этих видов неустойчивы к воздействию низких температур.

Инвазионные личинки неинкапсулированные или со слабовыраженной капсулой 24- и 30-дневного возраста неустойчивы к воздействию низких температур и в основной массе погибают при температуре от -7 до -15 °С в течение 24 ч. С образованием капсулы резистентность к низким температурам повышается. Тем не менее, они сохраняют жизнеспособность и инвазионность в течение времени, необходимое для смены хозяина.

Воздействие положительных температур на неинкапсулированных личинок трихинелл. Неинкапсулированные личинки, находящиеся в мышечной ткани убитого или павшего животного довольно долго сохраняют свою жизнеспособность и активность, и те изменения, которые происходят в мышечной ткани при этом, не приводят к их гибели. Вероятно, такие личинки в первое время после смерти животного могут не только сохранять свою жизнеспособность, но и какое-то время развиваться дальше [4].

Известно, что различные стадии развития трихинелл неодинаково реагируют на неблагоприятные для них факторы биохимического воздействия. Особенно актуален этот вопрос для личинок прединвазионного возраста: 15- и 16-дневных.

Таким образом, небольшой период времени (около 24 ч) играет значительную роль в приобретении инвазионных свойств молодыми личинками трихинелл.

После проведения пептолиза в осадке обнаружили единичные мелкие подвижные личинки *T. nativa* 16-дневного и личинки *T. spiralis* 17-дневного возраста из фарша от крыс, инвазированных этими видами трихинелл.

Остальные половинки тушек крыс заворачивали в шкурку и выдерживали при комнатной температуре 20 °С (1–5 сут), помещали в термостат при 39 °С (1–2 сут) или в холодильную камеру при 5 °С в течение 1–3 сут.

При выдерживании образцов с 15-дневными трихинеллами этих видов при комнатной температуре 20 °С через 1, 2, 3 и 5 сут никаких изменений в морфологии личинок не произошло. При компрессорном изучении возле срезов находили выделившиеся личинки без признаков деструкции. При пептолизе фарша из образцов личинок не выделили.

При выдерживании образцов с 16-дневными трихинеллами при 20 °С через 4 сут также никаких изменений в морфологии личинок при компрессорном изучении не произошло. При пептолизе фарша из образца с *T. nativa* выделили несколько подвижных личинок без признаков деструкции.

Из образцов с 17-дневными трихинеллами при 20 °С через 4 сут никаких изменений в морфологии юных личинок не наблюдали. При пептолизе фарша из образцов с *T. nativa* и *T. spiralis* выделили подвижных личинок, по числу и морфологии не отличающихся от контроля.

Таким образом, при температуре 20 °С личинки этих видов трихинелл сохранились в мышечной ткани при ее лизисе, но дальнейшее морфологическое развитие не происходило и личинки 15–16-дневного возраста не достигли инвазионной стадии в течение изученного периода.

При выдерживании всех образцов в термостате при 39 °С в течение суток начинался лизис мышечной ткани. При компрессорном исследовании возле срезов и на них плохо просматривались единичные темные личинки. После пептолиза образцов были обнаружены единичные трихинеллы *T. nativa* 16-дневного и личинки *T. spiralis* 17-дневного возрастов, которые были с признаками деструкции кутикулы и не реагировали на нагревание.

При выдерживании образцов с 15, 16- и 17-дневными трихинеллами этих видов при 5 °С в холодильной камере через 5 и 15 сут никаких изменений в морфологии юных личинок при компрессорном изучении не наблюдали. На срезах отмечали незначительный лизис мышечной ткани и микробное заражение (обсеменение). При пептолизе фарша из образцов трихинелл выделяли 17-суточных подвижных личинок, по числу и морфологии не отличающихся от контрольных соответствующего возраста.

Таким образом, неинкапсулированные личинки трихинелл *T. spiralis* и *T. nativa* 15, 16- и 17-дневного возраста при положительных температурах не развиваются в мышечной ткани убитого животного, но могут сохранять жизнеспособность и, возможно, инвазионность при гниении в течение некоторого времени, необходимое для смены хозяина и таким образом служить источником инвазии.

Заключение

Неинкапсулированные инвазионные личинки трихинелл в раннем возрасте неустойчивы к воздействию низких и высоких температур. С образованием капсулы резистентность к низким температурам повышается.

Диагностика трихинеллеза автоматизированным методом наиболее эффективна при достижении личинками инвазионности.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что метод автоматизированного пептолиза следует применять при диагностике трихинеллеза промысловых животных или свинины неизвестного происхождения, так как он самый результативный и достоверный.

Литература

1. *Боев С. Н., Бритов В. А.* Систематика, морфология и анатомия трихинелл. В кн. Трихинеллы и трихинеллез. Алма-Ата: Наука, 1978. С. 17–35.
2. *Лемишко П. М.* К исследованию мяса, пораженного неинкапсулированными личинками трихинелл // Ветеринария. 1947. № 5. С. 37.
3. *Лемишко П. М.* К определению возрастных стадий неинкапсулированных личинок трихинелл // Ветеринария. 1948. № 11. С. 36–37.
4. *Лемишко П. М.* О жизнеспособности неинкапсулированных трихинелл // Тр. Киевского вет. ин-та. 1949. Т. 9. С. 88–95.
5. *Силакова Л. Н.* Влияние диеты и некоторых атипичных условий на развитие трихинелл // Матер. докл. Всес. конф. по проблемам трихинеллеза человека и животных. Вильнюс, 1972. С. 63–66.
6. *Скворцова Ф. К.* Репродуктивная способность самок трихинелл у белых мышей // Матер. 8-й Всерос. научн. конф. по трихинеллезу. М., 2000. С. 146–150.
7. *Скворцова Ф. К., Успенский А. В.* Диагностика трихинеллеза на ранних стадиях развития личинок // Рос. паразитологический журнал. 2016. Т. 35. № 1. С. 58–66.
8. *Тимонов Е. В., Силакова Л. Н.* Обнаружение мигрирующих личинок трихинелл в крови, полостных жидкостях и гомогенатах внутренних органов // Матер. науч. конф. Всес. о-ва гельминтол. 1969. Ч. 2. С. 317–319.

References

1. Boev S. N., Britov V. A. Systematics, morphology and anatomy of Trichinella sp. In book: *Trichinella and trichinellosis*. Alma-Ata. Nauka Publ. 1978: 17–35.
2. Lemishko P. M. To the study of meat infected by non-encapsulated of Trichinella sp. larvae *Veterinariya = Veterinary*. 1947; (5):37 (In Russ.).
3. Lemishko P. M. To the determination of the age stages of non-encapsulated Trichinella sp. larvae *Veterinariya = Veterinary*. 1948; (11):36–37 (In Russ.).
4. Lemishko P. M. On the viability of non-encapsulated Trichinella sp. *Diss. of Kyiv Veterinary Institute*. 1949; 9:88–95 (In Russ.).
5. Silakova L.N. The influence of diet and some atypical conditions on the development of Trichinella sp. In: *Materials of All-Russian conference on the problems of human and animals trichinellosis.* Vilnus, 1972: 63-66 (In Russ.).
6. Skvortsova F.K. Reproductive ability of female Trichinella sp. in white mice. In: *Materials of the 8-th All-Russian scientific conference on trichinellosis*. Moscow, 2000: 146–150 (In Russ.).
7. Skvortsova F.K., Uspensky A.V. Diagnosis of trichinellosis in the early stages of larval development. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2016; 35(1):58–66 (In Russ.).
8. Timonov E.V., Silakova L.N. Detection of migrating Trichinella sp. larvae in blood, cavitary fluids and homogenates of internal organs. In: *Materials of scientific conference on helminthology*. 1969; 2:317–319 (In Russ.).