ПОЛУЧЕНИЕ ЛАРВАЛЬНОГО АЛЬВЕОКОККА *ECHINOCOCCUS MULTILOCULARIS* В УСЛОВИЯХ ЛАБОРАТОРИИ

Андреянов О.Н., Бережко В.К., Хайдарова А.А., Тимофеева О.Г.
ФГБНУ «Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина»
(1980oleg@mail.ru)

Введение. Для разработки серологических диагностикумов при гельминтозных заболеваниях, требуется наличие значительного объема биомассы личиночного антигена. Технология получения антигена возбудителя *Echinococcus multilocularis* требует сложного пути его наработки в условиях лаборатории [1, 2]. Она включает в себя усыпление и вскрытие животных – доноров ларвоцист, получение ларвоцист и их очистку от тканей хозяина, измельчение личинок, отжимание личиночной массы через нейлоновое сито, получение жидкой фракции, ее осаждение, смешивание осадка с антибиотиком, введение взвеси в полость животного, содержание экспонированных животных и другие мероприятия.

Нашей целью было получить из имагинальной формы гельминта возбудителя *E.multilocularis* (Азиатский генотип) [3, 4], циркулирующего в настоящее время у диких плотоядных животных Центрального региона России, ларвальную цисту и отработать технологию наработки инвазионного материала альвеолярного гидатидоза в условиях лаборатории.

Материалы и методы. Цепни альвеококка были выделены из тонкого отдела кишечника тушек обыкновенных лисиц (*Vulpes vulpes*), отстрелянных в условиях охотхозяйства Рязанской области Касимовского района в период проведения сезонной лицензионной охоты 2014 – 2015 гг. При полном гельминтологическом исследовании по К.И. Скрябину (1928) было получено около 60 тыс. половозрелых гельминтов со зрелыми онкосферами. Заражение лабораторных грызунов проводили перорально через металлический зонд с использованием многоразового шприца объемом 2,0 мл и антибиотика Байтрил [1].

Результаты. Воспроизведение зрелых ларвоцист возбудителя *E.multilocularis* из онкосфер цестоды осуществилось у лабораторных мышей и кроликов при заданных дозах 2500 и 8500 экз. на животное в течение 3 месяцев (табл.). В остальных вариантах инвазирования животных отмечена гибель хозяев или наличие личинок у хозяев без зрелых цист. Инвазионные дозы 1250 онкосфер альвеококка для лабораторных мышей и 2500 для белых крыс не воспроизвели полноценных личинок гельминта. Доза 17000 онкосфер альвеококка для кроликов оказалась летальной, гибель животных произошла на начальной стадии развития личинок (на 21 и 51 сутки).

При определении качества наработанного биологического материала альвеококка, полученного из онкосфер мультилокулярного эхинококка, оказалось, что ларвоцисты лабораторных мышей к 3-му месяцу после инвазирования имели среднюю массу 18,4±2,7 г, а ларвоциста кролика всего

11,3 г. Следовательно, для наработки антигена в виде личиночной биомассы возбудителя альвеококкоза (азиатского генотипа) рационально использовать онкосферы цепня при заражении лабораторных мышей.

Таблица

Результат инвазирования лабораторных животных путем перорального введения онкосфер возбудителя *E. multilocularis*

№ п/п	Вид животного	Доза онкосфер, экз.	Кол-во голов в опыте	Результат инвазирования
1	Мышь беспородная	1250	14	Через 3 месяца у трех мышей обнаружены единичные (10-24) ларвоцисты в печени диаметром 1-1,5 мм без инвазионных элементов.
		2500	17	Отмечена частичная гибель мышей с 28 по 51 сутки с наличием незрелых ларвоцист. У погибших животных на 71 сутки и далее этого срока многочисленные ларвоцисты 4,5-12 мм в диаметре зарегистрированы в печени с наличием жизнеспособных протосколексов.
2	Крысы белые *Vistar*	2500	8	Через 3 месяца выявлено, что крысы не инвазированы. Во внутренних органах и в брюшной полости ларвоцисты не обнаружены.
		5000	9	Заразилось 2 животных, обнаруженые у них ларвоцисты до 2 мм в диаметре, зародышевые элементы отсутствуют.
3	Кролики Советская шиншилла	8500	2	У одного кролика на 87 сутки регистрировали в брюшной полости и в печени многочисленные ларвоцисты альвекокка с зародышевыми элементами. Второе животное пало на 12 сутки без видимых развитых паразитарных узлов.
		17000	2	Животные пали на 21 и 51 сутки после инвазирования. В печени присутствуют лаврвоцисты 14 и 29 экз. диаметром 2 – 15 мм без зародышевых элементов.

Выводы. При исследовании некоторых биологических свойств альвеолярного эхинококка было выявлено, что лабораторные мыши, крысы и кролики восприимчивы к изоляту азиатского генотипа возбудителя *E.multilocularis* выделенного от обыкновенных лисиц. Полноценные ларвоцисты альвеолярного эхинококка с наличием жизнеспособных протосколексов, были получены у лабораторных мышей и кроликов при заданных дозах 2500 и 8500 онкосфер соответственно. Для наработки личиночного антигена альвеолярного эхинококка в экспериментах следует использовать лабораторных мышей при инвазировании их ооцистами цепня. Средняя масса ларвоцист одной головы хозяина, полученных от лабораторных мышей составляет 18,4±2,7 г через 3 и более месяца после заражения.

Литература: 1. Бережко В.К., Руднева О.В. // Сб.матер. докл. науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарн. болезнями». -2003. - Вып. 4. - С.76-78. 2.Гузеева Т.М. Актуальные проблемы малярии и других паразитозов человека (Роспотребнадзор РФ). Научный доклад на секции «Инвазионные болезни животных». - г. Москва. - 21 мая 2015 г. 3. Коваленко Ф.П., Перчун Н.И., Дарченкова Н.Н., Ястреб В.Б. и др. //Труды ВНИИ гельминтологии им. К.И. Скрябина. - Т. 41. – 2006. -С. 192 – 211. 4. Konyaev, S., Yanagida, T., Nakao, M., Ingovatova, G. M. et al/// Parasitology. –2013. - №140. – P. 1637–1647.

Preparation of E. multilocularis larvae in the laboratory conditions. Andreyanov O. N., Berezhko V. K., Haydarova A.A., Timofeeva O. All-Russian K.I. Skryabin Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant.

Summary. Laboratory mice, rats and rabbits are susceptible to the isolate of the E.multilocularis (Asian genotype) isolated from common foxes. E.multilocularis larval cysts with the presence of viable protoscolices have obtained on laboratory mice and rabbits given 2500 and 8500 oncospheres respectively. For experimental preparation of E.multilocularis larval antigen one should apply laboratory mice infected by tapeworm oocysts. Larval average weight derived from each laboratory mice is 18,4±2,7 g following 3 or more months post infection.