DOI: 10.17117/na.2015.10.03.322

<http://ucom.ru/doc/na.2015.10.03.322.pdf>

Поступила (Received): 30.10.2015

Долбин Д.А., Хайруллин Р.З. Анализ эффективности использования нового способа обнаружения обсемененности почвы яйцами геогельминтов

Dolbin D.A., Khayrullin R.Z.
**Analysis of the effectiveness of a new method of detecting
contamination of soil eggs geohelminthes**

Проведен сравнительный анализ эффективности широко используемого метода определения геогельминтов в почве Н.А. Романенко и предлагаемого авторами способа. Показаны преимущества использования усовершенствованного метода, предлагаемого авторами

Ключевые слова: геогельминты, токсокароз, метод определения

A comparative analysis of the effectiveness of a widely used method for determining geohelminthes in soil N.A. Romanenko and the authors of the proposed method. The advantages of the improved method proposed by the authors

Key words: geohelminthes, toxocariasis, method of determining

Долбин Дмитрий Александрович

*Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора
г. Казань, ул. Большая Красная, 67*

Dolbin Dmitry Aleksandrovich

*Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Kazan scientific research institute of epidemiology and microbiology
Kazan, Bolshaya Krasnaya st., 67*

Хайруллин Руслан Зуфарович

*Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора
г. Казань, ул. Большая Красная, 67*

Khayrullin Ruslan Zupharovich

*Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher
Kazan scientific research institute of epidemiology and microbiology
Kazan, Bolshaya Krasnaya st., 67*

Эпидемические данные о распространённости токсокароза среди жителей городской и сельской местности в РФ достаточно противоречивы. С 1996 по 2004 годы зараженность людей токсокарозом по Республике Татарстан составила 0,0005% (1996), 0,0002% (1997), 0,0002% (1998), 0,0004% (1999), 0,002% (2000), 0,002% (2001), 0,003% (2002), 0,003% (2003), 0,003% (2004) на 100 тысяч человек [1].

Начиная с 2000 г число больных токсокарозом увеличилось в среднем в 7 раз, что, по-видимому, обусловлено внедрением в повседневную практику более эффективных лабораторно-диагностических методов. Удельный вес токсо-

короза населения Республики Татарстан составлял 4% [1]. По данным зарубежных источников загрязненность почвы яйцами *Toxocara canis* почвы достигает 10% [2].

На сегодняшний день наиболее актуальной является оценка загрязненности почвы городов яйцами геогельминтов (*Toxocara canis*, *Toxocara cati* и *Ascaris lumbricoides*), которые наиболее часто встречаются в песке на детских площадках, а также в детских песочницах.

Для планирования и организации мероприятий по искоренению гельминтозов необходимо выявление новых случаев заболевания с целью контроля эпидемиологической ситуации, а также совершенствование методов обследования и сбора эпидемиологического анамнеза. С этой целью, на основании подхода уже примененного нами для совершенствования методов гельминтоовоскопии подхода [3, 4], предлагается новый метод выявления яиц гельминтов и простейших в пробах почвы.

Для улучшения выявления яиц гельминтов в пробах почвы, а также количественной оценки степени загрязненности почвы яйцами паразитических червей проведен сравнительный анализ методов исследования почвы. В пробу песка искусственно вносились яйца *Ascaris suum*, *Toxocara canis* и *Ascaris lumbricoides* в количестве 100 яиц на 1 г песка. Яйца получены из матки самки аскариды.

Для исследования по методу Н.А. Романенко из общей пробы отбирали 25 г почвы, помещали в пробирку вместимостью 250 мл и заливали 150 мл воды. Смесь тщательно размешивали стеклянной палочкой в течение 5 мин. Основным недостатком данного метода является низкая удельная плотность флотационного раствора. Кроме того, насыщенный раствор нитрата натрия, а так же альтернативные растворы, предлагаемые в литературе (тиосульфата натрия и натриевой селитры) достаточно быстро кристаллизуются, что затрудняет просмотр проб и приводит к снижению эффективности выявления яиц гельминтов. Всплывшие крупные частицы сразу же удаляли. После центрифугирования в течение 3 мин при скорости вращения барабана центрифуги 800-1000 об/мин, воду сливали, а в пробирки добавляли 150 мл насыщенного раствора нитрата натрия. Перемешивали раствор палочкой и вновь центрифугировали в течение 3 мин. Затем пробирки устанавливали в штатив, доливали тем же раствором до образования выпуклого мениска, накрывали обезжиренным стеклом так, чтобы оно касалось слоя жидкости. Через 15 мин стекло снимали, на влажную поверхность добавляли несколько капель 50% водного раствора глицерина и просматривали пробу под микроскопом. С целью повышения эффективности выявления яиц снятие препарата повторяли 2-3 раза. В очагах тениидозов и эхинококкоза обнаружение яиц затруднено тем, что они обладают определенной липкостью и, склеиваясь с частицами почвы, плохо всплывают во флотационном растворе.

Выявление яиц гельминтов в пробах почвы новым авторским способом проводится по следующей схеме: вначале готовят комбинированную флотационную смесь из трех ингредиентов: 1. насыщенный раствор цинка хлорида (2 кг $ZnCl_2$ на 1 л воды); 2. насыщенный раствор натрия хлорида (0,42 кг $NaCl$ на 1

л воды); 3. глицерин (Ч). Далее эти три компонента смешивают в соотношении 1:1:1. Всплывшие крупные частицы сразу же удаляют. После центрифугирования в течение 3 мин при скорости вращения барабана центрифуги 800-1000 об/мин воду сливают, а в пробирки добавляют 150 мл трехкомпонентной флотационной системы. Перемешивают палочкой и вновь центрифугируют в течение 3 мин. Затем пробирки устанавливают в штатив и доливают тем же раствором до образования выпуклого мениска, накрывают обезжиренным стеклом так, чтобы оно касалось слоя жидкости. Через 20-30 мин стекло снимают и микроскопируют. С целью повышения эффективности выявления яиц рекомендуется снятие препарата повторить 2-3 раза.

Результаты сравнительного анализа методов с использованием яиц *Ascaris suum* представлены в табл. 1.

Таблица 1. Сравнение эффективности определения яиц в пробах почвы

Проба почвы	Количество яиц <i>Ascaris suum</i> выявленных	
	методом Романенко	авторским методом
1	2	9
2	3	8
3	2	10
4	4	11
5	5	11
6	2	7
7	3	12
8	2	11
9	1	8
10	2	10
M+m	2,6 + 0,41	9,7+0,52

При искусственном внесении яиц пробу почвы в количестве 100 яиц на грамм песка не содержавшего яиц гельминтов или насекомых метод Романенко позволял выявить от 1 до 5 яйца аскариды, а предложенный авторский метод от 7 до 12 яиц. Эффективность выявления яиц в почве статистически достоверно отличается при оценке по критерию Стьюдента (уровень значимости 0,95) [5].

Таким образом, усовершенствованный метод позволил дополнительно выявить большее количество яиц аскарид, по сравнению с методом Н.А. Романенко, что обусловлено использованием флотации в многокомпонентной флотационной системе, использование которой было положено в основу данного метода. Компоненты предлагаемой флотационной системы не нарушают морфологию яиц паразитов и не создают затруднений с морфологической идентификацией возбудителя. Каждый из них выполняет определенную функцию: хлористый цинк повышает плотность раствора, глицерин снижает время кристаллизации, увеличивая качество исследования. Отметим, что применение такого рода смесей позволяет повысить выявление яиц, ооцист и цист простейших, но требует проведение оптимизации состава смеси к каждому конкретному случаю [2].

Заключение

Таким образом, предлагаемый способ определения яиц в пробах почвы позволяет значительно повысить эффективность выявления яиц в пробах почвы по сравнению с методом Н.А. Романенко. Кроме того, новый способ позволяет вдвое сократить время проведения анализа. Это делает оправданным использование предлагаемого нами метода определения яиц геогельминтов в пробах почвы на практике, а также проведения научных исследований.

Список используемых источников:

1. Соколова Ф.М., Белова А.А. Нематодозы населения республики Татарстан // Труды ВИГИС. М. 2006. Т. 43. С. 20-25.
2. Уркхарт Г., Эрмур Дж., Дункан Дж., Данн А., Дженнингс Ф. Ветеринарная паразитология. М.: Аквариум, 2000. С. 87-92.
3. Долбин Д.А., Лутфуллин М.Х., Латыпов Д.Г. Сравнительная эффективность различных гельминтоовоскопических методов для диагностики неоаскаридоза телят // Тр. ВИГИС. Т. 41. М. 2005. С. 154-160.
4. Долбин Д.А., Агафонова Е.В., Смирнова Л.Р., Хазиева С.М. Пути улучшения качества лабораторной диагностики гельминтозов // Казмед. ж. 2007. Т. LXXXVIII. №4. С. 398-402.
5. Савилов Е.Д., Мамонова Л.М., Астафьев В.А., Жданова С.Н. Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе. М.: МЕДпресс-информ, 2004. С. 21-26.

© 2015, Долбин Д.А., Хайруллин Р.З.

Анализ эффективности использования нового способа обнаружения обсемененности почвы яйцами геогельминтов

© 2015, Dolbin D.A., Khayrullin R.Z.

Analysis of the effectiveness of a new method of detecting contamination of soil eggs geohelminthes