DOI: 10.17117/na.2016.04.03.311

Поступила (Received): 29.04.2016

<http://ucom.ru/doc/na.2016.04.03.311.pdf>

Долбин Д.А., Хайруллин Р.З.
Усовершенствованный способ обнаружения гельминтов
в почве

Dolbin D.A., Khayrullin R.Z.
An improved method of detection geohelminthes

Предлагается новый метод определения геогельминтов. В отличие от метода, предложенного Н.А. Романенко, данный метод позволяет при равных условиях выявить большее количество геогельминтов в исследуемых пробах

Ключевые слова: геогельминты, токсокароз, метод определения

A new method for determining geohelminthes. Unlike the method proposed by N. Romanenko, this method allows for equal conditions to reveal more of geohelminthes in the test samples

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 Zufarovich

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

Имеющиеся эпидемические данные о пораженности токсокарозом населения довольно противоречивы, хотя по очевидным причинам, все авторы сходятся в том, что пораженность сельского населения значительно выше, чем городского, так же как обсемененность почвы токсокарами [1-7].

Наиболее часто используемым методом исследования почвы, с целью выявления яиц гельминтов, является комбинированный метод И.А. Романенко, где в качестве флотационной жидкости используется насыщенный раствор нитрата натрия [8].

Однако метод, предложенный И.А. Романенко, имеет ряд недостатков, поэтому вопрос об усовершенствовании данного метода с целью расширения границ его применимости для диагностики паразитозов становится в наше время довольно актуальным [9]. Поэтому была поставлена задача разработать новый

усовершенствованный метод выявления яиц гельминтов и простейших в пробах почвы на основе.

Целью исследования было повышение эффективного выявления яиц гельминтов в пробах почвы, а также осуществление количественной оценки степени загрязненности почвы яйцами паразитических червей.

В ходе исследований был проведен сравнительный анализ методов исследования почвы: метода И.А. Романенко и разработанного нами метода выявления яиц гельминтов. В пробу песка искусственно вносили яйца *Ascaris suum*, *Toxocara canis* и *Ascaris lumbricoides* в количестве 100 яиц /1 г песка. Яйца были получены из матки самки аскарид.

Выявление яиц гельминтов в пробах почвы по предложенному авторами способу проводили следующим образом: вначале готовили комбинированную флотационную смесь из следующих 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 смешивали в соотношении 1:1:1, при этом всплывшие крупные частицы сразу же удаляли. После центрифугирования в течение 3 мин при скорости 800 – 1000 об/мин воду сливали, а в пробирки дополнительно добавляли 150 мл трехкомпонентной флотационной смеси и после перемешивания снова центрифугировали в течение 3 мин. Затем пробирки устанавливали в штатив, доливали тот же раствор до образования выпуклого мениска и накрывали обезжиренным стеклом так, чтобы оно касалось слоя жидкости. По истечении 20-30 мин стекло снимали и просматривали полученную смесь в микроскоп. Для повышения эффективности выявления яиц делали повторное снятие.

При искусственном внесении в пробу почвы, не содержащей изначально яиц гельминтов или насекомых, 100 яиц /1 грамм песка, было выявлено от 1 до 5 яиц по методу И.А. Романенко, а по авторскому методу удалось выявить от 7 до 12 яиц аскарид.

Однако предлагаемый метод имеет ряд недостатков, в частности флотационный раствор имеет низкую удельную плотность. Кроме того, насыщенный раствор нитрата натрия, а так же альтернативные растворы, предлагаемые в литературе (тиосульфата натрия и натриевой селитры) очень быстро кристаллизуются, что затрудняет просмотр проб и снижает выявление яиц гельминтов. Эффективность выявления яиц в почве статистически достоверно отличается при оценке по критерию Стьюдента при уровне значимости 0,95 [10].

Разработанный нами метод позволил дополнительно выявить большее количество яиц аскарид, по сравнению с методом И.А. Романенко, что обусловлено использованием многокомпонентной флотационной смеси. Компоненты предлагаемой флотационной системы не нарушали морфологию яиц паразитов и не создавали затруднений с морфологической идентификацией возбудителя. Каждый из них выполнял определенную функцию: $ZnCl_2$ повышал плотность раствора, глицерин снижал время кристаллизации, увеличивая качество исследования, $NaCl$ снижал себестоимость анализа.

Необходимо заметить, что применение такого рода смесей позволяет повысить выявление яиц, ооцист и цист простейших, но требует проведение

оптимизации состава смеси к каждому конкретному случаю [5, 8, 3, 4]. Однако, предлагаемый способ позволяет вдвое сократить время проведения анализа, что делает оправданным его применение на практике и для проведения научных исследований.

Для оценки эффективности предлагаемого метода он был апробирован для обследования песочниц в детских садах и на детских площадках различных районов г. Казани с целью выявления эпидемической и эпизоотологической картины загрязненности данных объектов яйцами геогельминтов, т.к. детские песочницы являются потенциальным источником заражения токсокарозом, трихоцефалезом и аскаридозом. В ходе исследования проб, взятых из песочниц, по предлагаемому методу были выявлены яйца токсокар, трихоцефал, яйца членистоногих, а так же обнаружен ряд свободноживущих червей. При исследовании данных проб почвы методом И.А.Романенко, яйца гельминтов были обнаружены лишь в одной из проб, взятой с детской дворовой площадки.

Заключение

Таким образом, можно сделать вывод, что предлагаемый нами усовершенствованный способ обнаружения гельминтов в почве способ позволяет значительно повысить эффективность выявления яиц в пробах почвы по сравнению методом Н. А. Романенко и может использоваться на практике и при проведении научных исследований.

Список используемых источников:

1. Долбин Д.А., Хайруллин Р.З. Изучение влияние ряда химических, физических и биологических факторов окружающей среды на эффективность дезинвазии помещений // Вестник Казанского технологического университета. 2015. Т. 18. №15. С. 261-264.
2. Долбин Д.А., Хайруллин Р.З. Анализ эффективности использования современных средств для дезинвазии // Вестник Казанского технологического университета. 2015. Т. 18. №16. С. 314-315.
3. Долбин Д.А., Тюрин Ю.А., Хайруллин Р.З. Получение и иммунохимические свойства комплексного аскаридозного антигена // Вестник Казанского технологического университета. 2014. Т. 17. №13. С. 266-269.
4. Ошевская З.А., Державина Т.Ю., Терица Г.П. и др. Токсокароз в Тульской области // Мед. паразит. и паразит. бол. 2003. № 1. С. 30-32.
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.
6. Слободенюк А.В., Косова А.А., Руколеева С.И. Особенности распространения токсокароза на территориях сельского и городского типов // Мед. паразитол. 2005. № 3. С. 36-39.
7. Козырева Т.Г., Семенова Т.А. Проблема токсокароза на Дальнем Востоке и пути ее решения // Мед. паразит. и паразит. бол. 2002. № 3. С. 16-18.
8. МУК 4. 2. 796 – 99. «Методы санитарно-паразитологических исследований».
9. 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.
10. Долбин Д.А., Агафонова Е.В., Смирнова Л.Р., Хазиева С.М. Пути улучшения качества лабораторной диагностики гельминтозов // Казанский медицинский журнал. 2007. Т. LXXXVIII. № 4. С. 398-402.