РАСПРОСТРАНЕНИЕ ТОКСОПЛАЗМОЗА И ДИАГНОСТИКА С ПОМОЩЬЮ ЭКСПРЕСС-ТЕСТА

Новак М. Д.¹,

доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры биологии

Новак А. И.¹,

доктор биологических наук, доцент,
профессор кафедры микробиологии

Назарова С. А.²,

ветеринарный врач Рязанского филиала

Аннотация

Изучение статистической информации по Центральному району Российской Федерации и результатов исследований с помощью иммунохроматографического метода (ИХМ) свиней и мышевидных грызунов показали широкое распространение токсоплазмоза. Предусмотренные ветеринарным законодательством и положениями СанПиН профилактические и санитарно-гигиенические мероприятия при токсоплазмозе реально в достаточной степени не выполняются, вследствие чего происходит распространение заболевания. Разработанные для иммунохроматографического метода токсоплазменные иммунореагенты изучены в соответствии со стандартными требованиями (активность, специфичность), а ИХМ экспресс-тест проверен на информативность (диагностическую эффективность).

Экспресс-тест ИХМ позволяет с высокой точностью обнаруживать в крови и тканях животных антигены *Toxoplasma gondii* и в комплексе с другими методами диагностики (НРИФ, ПЦР) определять стадию и форму течения заболевания.

Использование ИХМ экспресс-теста в медицинской и ветеринарной практике позволит подробно изучать эпидемическую и эпизоотическую ситуацию по токсоплазмозу в России и по результатам скрининга осуществлять комплексные мероприятия.

¹ ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (390026, г. Рязань, ул. Высоковольная, д. 9), gzgtmu@rgzgtmu.ru

² ФГБУ Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория (390044, г. Рязань, ул. Костычева, д. 17), fil-rzn-62@mail.ru

Ключевые слова: токсоплазмоз, *Toxoplasma gondii*, диагностика, сероэпизоотологический мониторинг, иммунохроматографический метод (ИХМ), антигены, иммунореагенты.

SPREAD OF TOXOPLASMOSIS AND RAPID DIAGNOSTIC TESTING

Novak M. D.¹,

Doctor of Biological Sciences, Professor,
Professor of the Department of Biology

Novak A. I.¹,

Doctor of Biological Sciences, Associate Professor,
Professor of the Department of Microbiology

Nazarova S. A.²,

Veterinarian of the Ryazan Branch

Abstract

The study of statistical information on the Central Region of the Russian Federation and the results of studies of pigs and mouse-like rodents using the immunochromatographic method (IHM) showed a wide spread of toxoplasmosis. The preventive and sanitary-hygienic measures prescribed by the veterinary legislation and the health and hygiene rules and standards for toxoplasmosis are not sufficiently implemented, which results in the disease spread.

Toxoplasma immunoreagents developed for the immunochromatographic method were studied in accordance with the standard requirements (activity, specificity), and an IHM rapid test was checked for information content (diagnostic effectiveness).

The IHM rapid test allows us to detect *Toxoplasma gondii* antigens in the blood and tissues of animals with high accuracy and, in combination with other diagnostic methods (IIT, PCR), to determine the stage and form of the course of the disease.

The use of the IHM rapid test in medical and veterinary practice will allow a detailed study of the epidemic and epizootic situation on toxoplasmosis in Russia, and carrying out comprehensive measures based on the results of screening.

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov" (9, Visokovoltynaya st., Ryazan, 390044, Russia), university@rgatu.ru

² Federal State Budgetary Institution "Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory", Ryazan branch (17, Kostycheva st., Ryazan, 390044, Russia), fil-rzn-62@mail.ru

Keywords: toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, diagnosis, seroepizootology monitoring, immunochromatographic method (ИМ), antigens, immunoreagents.

Введение. Токсоплазмоз — один из широко распространенных зоонозов, проявляющихся в клинически выраженной форме как оппортунистическая инвазия при многих хронических инфекционных болезнях и генетически обусловленных иммунодефицитных состояниях. Зараженность токсоплазмами людей на разных континентах планеты составляет от 1,5 до 65–70%, в Российской Федерации — 15–30% [3]. Результаты получены на основании сероэпидемиологического мониторинга и паразитологических исследований.

Преимущественно латентная форма, субклиническое течение затрудняют диагностику и контроль заболевания, что способствует дальнейшему увеличению напряженности эпизоотического и эпидемического процесса. Для токсоплазмоза свойственна природная очаговость, так как возбудитель относится к факультативно-гетероксенным кокцидиям (тип Apicomplexa, класс Sporozoa, отряд Coccidia) и может передаваться в пролиферативной стадии от одного промежуточного хозяина к другому при хищничестве, каннибализме и некрофагии. Большое значение в циркуляции токсоплазм имеют грызуны. Благодаря их сезонным миграциям происходит взаимодействие автохтонного и антропоургического очагов. Вирулентность штаммов *Toxoplasma gondii* (RH, VCN, WN, RC-30, FDN-1, CDN), кроме их антигенной структуры, определяется частотой участия в эпизоотическом, эпидемическом процессе дефинитивного хозяина (домашней кошки или диких представителей семейства Felidae), а также напряженностью иммунитета популяций промежуточных хозяев.

Результаты сероэпизоотологических и паразитологических исследований в разных регионах России и в странах ближнего зарубежья показывают широкое распространение токсоплазмоза среди овец — 79%, свиней — 42%, крупного рогатого скота — 25% и плотоядных — 15–37%, что коррелирует со статистическими эпидемиологическими данными [1, 3].

Большинство серологических и молекулярно-биологических методов диагностики токсоплазмоза высоко эффективны и позволяют обеспечить достоверный анализ эпизоотической и эпидемической ситуации [2].

Причиной ложноположительного и ложноотрицательного скрининга (2–5%) являются относительно невысокая специфичность и чув-

ствительность тестов, качество используемых антигенов или антител, родственные антигенные связи с таксономически близкими паразитическими организмами. Для диагностики токсоплазмоза максимально эффективны не прямая реакция иммунофлуоресценции (НРИФ), иммунохроматографический метод (ИХМ), полимеразно-цепная реакция (ПЦР). Вышеуказанные тесты можно применять для обнаружения токсоплазменных антител (НРИФ), антигенов (ИХМ и ПЦР), для подтверждения стадии заболевания, формы течения и обоснования тактики лечения.

Материалы и методы. Научно-производственные опыты выполняли в животноводческих хозяйствах, на мясоперерабатывающих предприятиях Рязанской области и в Окском государственном биосферном заповеднике. Для исследований на токсоплазмоз применяли иммунохроматографический метод (ИХМ). На антигены к *Toxoplasma gondii* тестировали сыворотки крови и тканевую жидкость, полученную из гомогенатов головного мозга, селезенки, лимфатических узлов 60 свиней и 130 мышевидных грызунов.

Из внутренних органов и головного мозга свиней, желтогорлой мыши, малой лесной мыши и рыжей полевки приготавливали мазки — отпечатки по общепринятой методике. Окрашенные препараты микроскопировали с помощью иммерсионной системы с целью выявления свободных трофозоитов, псевдоцист и цист токсоплазм. Образцы тканевой жидкости из вышеуказанных органов животных после фильтрации тестировали в ИХМ.

Иммунореагенты для иммунохроматографического метода (ИХМ) в экспресс варианте получали на основе токсоплазменных иммунных сывороток кроликов. В качестве носителя использовали нитроцеллюлозную мембрану Bio-Rad. Оптимальную концентрацию красителя, приготовленного на фосфатно-солевом буферном растворе, устанавливали в предварительном опыте, применяя разные разведения. Четкие результаты ИХМ в эксперименте при использовании иммунной кроличьей сыворотки (1:400) и токсоплазменного антигена получены с концентрацией красителя 1:5 — 1:10.

Скрининг в ИХМ проводили на основании выявления двух вертикально расположенных линий темно-синего цвета (положительный результат на антигены токсоплазм) или одной, соответствующей глобулиновой фракции белка нормальной сыворотки крови (отрицательный результат), в течение 5 минут после нанесения исследуемого материала на тест-полоски.

Результаты исследований. Статистический анализ сероэпидемиологических исследований с 2013 по 2018 гг. в клинических больницах г. Рязани показал единичные случаи латентного токсоплазмоза среди людей. Субклинические и латентные формы заболевания отмечены преимущественно у детей до 12 лет, молодых людей 17–25 лет, а также у женщин детородного возраста (при обязательном скрининге в первом триместре беременности).

При исследовании в ИХМ экспресс-тесте на антигены *Toxoplasma gondii* сывороток крови свиней положительные результаты получены в 34% случаев. Более высокие показатели зараженности отмечены среди свиноматок — 43%, поросята и подсинки инвазированы на 9,5%. Антигены токсоплазм установлены в головном мозге у 20%, в селезенке — у 10% выбракованных свиноматок.

У серопозитивных на токсоплазмоз свиноматок в приплоде часто наблюдаются случаи гермафродитизма.

В Окском государственном биосферном заповеднике с помощью иммунохроматографического метода антигены токсоплазм обнаружены у 31,5% мышевидных грызунов. По результатам исследований мышей с подтвержденным диагнозом «токсоплазмоз» признаки гермафродитизма выявлены у 23%, а в трех случаях у взрослых грызунов оказались недоразвиты половые органы.

При исследовании в ИХМ экспресс-тесте гомогенатов головного мозга, селезенки и лимфатических узлов мышей полевых антигены *Toxoplasma gondii* выявлены соответственно в 40 и 47% случаев.

При скрининге с помощью вышеуказанного теста гомогенатов головного мозга и селезенки мышей получены положительные результаты соответственно в 42 и 27% случаев.

Данные микроскопии мазков — отпечатков из головного мозга и селезенки — на трофозоиты и другие стадии токсоплазм соответствовали результатам ИХМ в 89–92% случаев. Выяснена более высокая диагностическая эффективность иммунохроматографического метода по сравнению с микроскопическими исследованиями.

Заключение. Токсоплазмоз следует рассматривать как потенциально опасный зооноз, протекающий в латентной и хронической форме и проявляющийся преимущественно спорадическими случаями острого заболевания у людей и животных при снижении популяционного иммунитета и генетически обусловленных иммунодефицитных состояниях.

Экспресс-тест ИХМ позволяет с высокой точностью обнаруживать в крови животных антигены *Toxoplasma gondii* и в комплексе с другими методами диагностики (НРИФ, ПЦР) определять стадию и форму течения заболевания. При использовании иммунохроматографического метода в варианте экспресс-теста достигается высокая производительность исследовательских работ в плановом эпизоотологическом мониторинге на животноводческих и мясоперерабатывающих предприятиях.

В условно благополучных по токсоплазмозу хозяйствах необходимо два раза в год проводить выборочный сероэпизоотологический мониторинг по токсоплазмозу с использованием ИХМ экспресс-теста, а на мясокомбинатах и бойнях исследовать ткани и органы от всех животных, поступивших с ферм, на которых зарегистрированы случаи клинически выраженного заболевания и положительные результаты серологического скрининга.

Литература

1. Беспалова Н.С. Сопоставление разных методов диагностики токсоплазмоза плотоядных / Н.С. Беспалова, С.С. Катков // Молодой ученый. 2016. № 6. С. 58–60.
2. Доронин-Доргелинский Е.А. Распространение токсоплазмоза и саркоцистоза у человека и животных, правовое регулирование организации и борьбы с ними / Е.А. Доронин-Доргелинский, Т.Н. Сивкова // Российский паразитологический журнал. 2017. Т. 39. Вып. 1. С. 35–41.
3. Новак М.Д. Актуальные подходы в диагностике токсоплазмоза животных и человека / М.Д. Новак, А.И. Новак, С.А. Назарова // Материалы III Международного паразитологического симпозиума «Современные проблемы общей и частной паразитологии». СПб., 2019. С. 211–215.

References

1. Bespalova N.S., Katkov S.S. Comparison of different methods for diagnosis of toxoplasmosis in carnivores. *Young scientist*. 2016; (6):58–60. (In Russ.)
2. Doronin-Dorgelinsky E.A., Sivkova T.N. Distribution of toxoplasmosis and sarcocystosis in humans and animals, and legal regulation of the organization and control of them. *Russian Journal of Parasitology*. 2017; 39(1):35–41. (In Russ.)
3. Novak M.D., Novak A.I., Nazarova S.A. Relevant approaches in diagnosis of toxoplasmosis in animals and humans. In: Materials of the III International Parasitological Symposium "Modern Problems of General and Special Parasitology". St. Petersburg, 2019. P. 211–215. (In Russ.)