

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ЗАРАЖЕНИЕ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ *EISENIA FETIDA* ИНВАЗИОННЫМИ ЯЙЦАМИ *TOXOCARA CATI*

Масленникова О.В.,¹ Ерофеева В.В.²

¹ ФГБОУ ВО Вятская государственная сельскохозяйственная академия, 610017, Киров, Октябрьский просп., 133; e-mail: olgamaslen@yandex.ru

² ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, 113093, г. Москва, Подольское шоссе, д. 8/5; e-mail: erofeeva-viktori@mail.ru

Окружающая среда - главный источник заражения человека, в ней ежегодно происходит накопление большого количества инвазионного материала. Особенно опасны для человека яйца токсокар, которые распространяют кошки и собаки. Дождевые черви, обитающие в почве, могут выступать в качестве паратенических хозяев и накапливать в себе личинки токсокар. Впервые в России проведено экспериментальное заражение дождевых червей *Eisenia fetida* через почву, обсеменённую 10000 инвазионных яиц *Toxocara cati*. Впервые в мировой практике установлена миграция и время нахождения личинок *Toxocara cati* в тканях дождевых червей. Личинки *Toxocara cati*, вышедшие из яиц, регистрировались в кожно-мышечном мешке и в кишечнике. На протяжении 92 дней мы наблюдали личинок в дождевых червях. В кожно-мышечном мешке личинки *Toxocara cati* обнаружены не у всех червей, а только в 50 % случаев. В кишечнике личинки регистрировались в жизнеспособном состоянии на протяжении всего периода опыта. Находясь в зараженной почве, дождевые черви способны накапливать инвазионные личинки *T.cati* в кишечнике.

Ключевые слова: Токсокароз, *Toxocara cati*, *Eisenia fetida*, дождевые черви, инвазионные яйца, личинки, паратенизм.

EXPERIMENTALLY INFECTED EARTHWORMS *EISENIA FETIDA* INVASIVE EGGS *TOXOCARA CATI*

Maslennikova O.V.,¹ Erofeeva V.V.²

¹Vyatka State Agricultural Academy, 610017, Kirov, October Ave., 133, olgamaslen@yandex.ru

²Peoples' Friendship University of Russia, 113093, Moscow, Podolsk highway, 8/5; erofeeva-viktori@mail.ru

The environment is the main source of infections for humans; annually, accumulation of a lot of invasive material takes place in it. The most dangerous factor for humans is *Toxocara* eggs that are outspread by cats and dogs. Earthworms dwelling in the soil can act as paratenic hosts and accumulate *Toxocara* larvae in their bodies. For the first time ever in Russia, an experimental infestation was conducted of earthworms *Eisenia fetida* via a soil contaminated with 10000 invasive eggs of *Toxocara cati*. For the first time in the world practice, there was clarified a migration and residence time of the *Toxocara cati* larvae in tissues of the earthworms. The larvae of *Toxocara cati* exited from the eggs were registered in earthworm's skin-muscular sac and intestines. During 92 days, we observed the larvae inside of the earthworms. In skin-muscular sac, the *Toxocara cati* larvae were detected not at every worm but merely in 50% cases. In intestines, the larvae in a viable condition were being detected during the entire time period of the experiment. Residing in an infested soil, earthworms are able to accumulate the invasive larvae *T.cati* in their intestines.

Keywords: Toxocarosis, *Toxocara Cati*, *Eisenia Fetida*, earthworms, invasive eggs, larvae, paratenism.

В последние десятилетия на территории мегаполисов большой экологической проблемой становится биологическое загрязнение окружающей среды яйцами гельминтов домашних животных.

При паразитологической оценке 570 проб воды на урбанизированной территории Курской области в 151 пробе (26,5%) содержатся цисты лямблий, ооцисты криптоспоридий, яйца аскарид и токсокар. Количество обнаруженных возбудителей на пробу составило 6,2 экз. Яйца аскарид, токсокар и цисты лямблий обнаружены в питьевой воде (357 проб) - 2,9 экз. на пробу. Результаты паразитологических исследований 1258 проб почвы и песка показали

наличие возбудителей паразитозов в 511 (40,6%) случаях. В почвах обнаружены яйца токсокар, аскарид и власоглавок. Обсеменённость почв из зон отдыха составила 59,5%, а песка с детских площадок жилых домов – 49%. В среднем на пробу почвы фиксировалось от 3,5 до 8,6 возбудителей, песка от 1,6 до 8,6 экз. [1]. Обсеменённость почвы яйцами токсокар в Астраханской области увеличивается с каждым годом. В 2004 яйца токсокар обнаружены в 6,6% проб, в 2008 – 10,8% [2].

Попадая в организм человека, яйца и личинки некоторых нематод животных могут проходить в нём ранние стадии развития. К таким заболеваниям относится токсокароз.

Токсокароз – это паразитарное заболевание животных и человека. Возбудитель токсокароза – нематода семейства *Anisakidae* (Skryabin et Korokhin, 1945) рода *Toxocara* (Stiles, 1905). Одним из возбудителей этого заболевания является *Toxocara mystax* (Zeder, 1800) или *Toxocara cati* – гельминт семейства кошачьих.

Личинки токсокар могут локализоваться в различных органах и тканях человека: печени, почках, легких, щитовидной железе, головном мозге, глазах, мышцах и др. В этих органах личинки сохраняют жизнеспособность многие годы и периодически, под влиянием различных факторов, возобновляют миграцию, обуславливая рецидивы заболевания. В процессе миграции личинки гельминта травмируют ткани, вызывают геморрагии, воспалительные реакции, некрозы, аллергические реакции [3]. Роль *Toxocara canis* в патологии человека доказана, а роль *T. mystax* еще обсуждается.

Но уже на сегодняшний день есть данные о том, что инвазионные яйца *Toxocara cati* представляют опасность для человека. Ученые из Великобритании доказали участие личинок данного вида нематод в заражении человека глазным и висцеральным токсокарозом, кроме того, у одного больного личинки *Toxocara cati* обнаружены в печени [5, 11].

Главным источником инвазии для людей являются кошки, которые выделяют яйца *Toxocara cati* вместе с фекалиями, в результате чего происходит дальнейшее загрязнение окружающей среды. Однако, из-за того, что яйца токсокар очень стойки к воздействию неблагоприятных условий среды, в природе происходит накопление инвазионного материала.

Пораженность кошек токсокарами и их роль в распространении инвазии среди людей мало изучена. Процент заражения кошек *Toxocara cati* может быть очень высокий. Например, в Дании 79% бродячих кошек были заражены токсокарами, в Великобритании 91% бездомных кошек инфицированы [5]. Бездомные кошки представляют собой опасный источник яиц токсокар, потому что они закапывают экскременты в почву и тем самым инвазируют окружающую среду (песочницы, клумбы).

Таким образом, требуется дальнейшее изучение *Toxocara cati*, т.к. контроль над этим паразитом имеет большое значение для здоровья человека. Заражение человека может произойти естественным путём в результате проглатывания яиц паразита, существует так же возможность заражения через употребление в пищу паратеничного хозяина (жука, дождевого червя). Особую группу риска составляют дети, которые часто облизывают грязные руки, а также могут употреблять беспозвоночных (дождевых червей) в пищу.

Окружающая среда является главным источником заражения яйцами токсокар для человека, а также может быть главным накопителем инвазионных яиц *Toxocara cati*, кроме этого мелкие млекопитающие так же играют важную роль в распространении этих паразитов [4]. Паратеническим (резервуарным) хозяином *Toxocara sp.* могут быть грызуны, свиньи, овцы, птицы, земляные черви. Дальнейшее развитие возбудителя происходит при условии, если паратенический хозяин будет съеден кошкой или другим окончательным хозяином. Человек также выступает в роли паратенического хозяина, но не включается в цикл передачи инвазии, являясь для паразита биологическим тупиком.

Сведения о дождевых червях в роли паратенических хозяев *Toxocara cati* очень скудны. В мировой практике вопрос участия дождевых червей в жизненном цикле *Toxocara cati* остаётся малоизученным. Японские исследователи S. Okoshi и M. Usui [9], заражали дождевых червей *Eisenia fetida* инвазионными яйцами *Toxocara cati*, а затем скармливали их грызунам и курам, чтобы убедиться в возможности заражения следующего паратенического хозяина. Других исследований по заражению дождевых червей инвазионными яйцами *Toxocara cati* не проводилось, поэтому актуальность проведённых исследований не вызывает сомнения.

Цель исследования – определить места локализации личинок *Toxocara cati* в дождевых червях вида *Eisenia fetida*. Установить период нахождения личинок в кожно-мышечном мешке и кишечнике дождевых червей.

Материал и методы. Яйца *T.cati* были получены в результате вскрытия 15 половозрелых самок нематод. Полученную взвесь яиц поместили в чашки Петри с 0,1 нормальным раствором серной кислоты и поставили культивировать в термостат при температуре $28 \pm 1^\circ \text{C}$ в течение 4 недель. Для определения инвазионности яиц дважды была поставлена биопроба на лабораторных мышах. Для нахождения личинок в мышцах был использован метод компрессирования печени и переваривания мускулатуры в искусственном желудочном соке [6]. Личинки идентифицированы по методу R.L. Nichols [7] и J.F.A. Sprent [13].

Дождевых червей (*Eisenia fetida*) содержали в пластиковых цилиндрах, заполненных почвенным гумусом, глубиной 10 см при комнатной температуре. Перед началом эксперимента случайным образом были выбраны 10 дождевых червей и исследованы

методом трихинеллоскопии для обнаружения личинок токсокар, приобретённых червями в естественных условиях.

70 дождевых червей, приблизительно равных по размеру, были разделены на две группы: 50 (группа 1) и 20 (группа 2 – контрольная). Они были помещены в отдельные пластиковые цилиндры, заполненные 150 г почвы. Почву для заражения обсеменили 10000 инвазионных яиц *T.cati* и тщательно перемешали смесь. Дозу инвазионных личинок в яйцах рассчитывали в водной суспензии по методу Т. Oshima [10]. Дождевых червей из группы 1 содержали в этой почве 4 дня при комнатной температуре. Червей из группы 2 содержали в качестве контрольной группы с не обсемененной почвой.

После заражения естественным путём инвазионными яйцами через обсеменённую почву на 5-й день дождевых червей из группы 1 переместили в чистую почву (предварительно обмыв их, чтобы предотвратить дальнейший контакт с яйцами). Опыт длился 92 дня. Проводили постепенное вскрытие червей как из 1 группы, так и из 2. Сначала их фиксировали в 1% формалине, затем вскрывали по брюшной стороне, отделяли кишечник от кожно-мышечного мешка, и просматривали в компрессориях для трихинеллоскопа МИС-7 под микроскопом Микромед 3 вар. 3-20. Личинок регистрировали в передней, средней, задней части кожно-мышечного мешка червя или кишечника. Применили новый способ подсчета личинок в кишечнике.

Результаты и обсуждение. Начиная с 13 дня инкубации яиц в культуре стали появляться яйца с личинками, но они были не инвазионные. Биопроба на мышах ставилась дважды. Первый раз на 17 день инкубации – результат отрицательный. Личинки токсокар не обнаружены ни в печени, ни после переваривания в искусственном желудочном соке. Инвазионные личинки токсокар на переднем конце тела имеют «колпачок» – отслоение кутикулы. На 29 день инкубации у личинок появился «колпачок». На 30 день инкубации поставлена вторая биопроба на мышах, которая подтвердила инвазионность личинок. В печени мышей при компрессировании личинки не обнаружены. Их удалось обнаружить после переваривания мускулатуры в искусственном желудочном соке. В одинаковых условиях культивирования развитие яиц в чашке Петри шло неравномерно, но к 5-й неделе культивирования в 80% яиц наблюдались подвижные и полностью сформировавшиеся личинки.

По данным М.Р. Sarles и N.R. Stoll [12] яйца *T.cati* становятся инвазионными через 3-4 недели при комнатной температуре. По результатам исследований S.Okoshi и M. Usui [8] при температуре 30°C они становятся инвазионными через 11 дней, при 25°C – через 16 дней и через 21 день при комнатной температуре. Мы инкубировали яйца при температуре 28 ± 1°C. Инвазионными яйца стали через 4 недели на 29 день. Более долгий срок инкубации яиц

в нашем случае можно объяснить разными методами получения яиц. Нами яйца были взяты из маток половозрелых самок токсокар, а не из фекалий, где находятся уже готовые к развитию яйца, как у выше приведенных авторов.

В контрольной группе дождевых червей на протяжении всего опыта личинок не обнаружено. В опытной группе личинки *Toxocara cati*, вышедшие из яиц, регистрировались в кожно-мышечном мешке и в кишечнике. На протяжении 92 дней мы наблюдали личинок в дождевых червях. За весь период опыта лишь два червя оказались свободными от личинок.

В кожно-мышечном мешке личинки *Toxocara cati* обнаружены не у всех червей, а только в 50 % случаев. Чаще личинки локализовались в средней и задней части кожно-мышечного мешка, большая часть личинок была неподвижна. В передней части кожно-мышечного мешка личинки были зарегистрированы лишь у 2 червей (1-3 личинки) в начале опыта. В средней части червя личинки регистрировались чаще – в 50% случаев (1-4 личинки). В задней части кожно-мышечного мешка личинки выявлены в 37,5% случаев (1-4). Личинки, находящиеся в кожно-мышечном мешке, в 50% случаев были неподвижны. Среднее количество личинок в мускулатуре червя составило $1,9 \pm 0,35$.

Большинство личинок обнаружено у дождевых червей *Eisenia fetida* в кишечнике. Личинки располагались скученно, чаще в среднем отделе. На протяжении опыта в кишечнике регистрировалась от 1 до 30 личинок, в среднем $7,0 \pm 1,6$. Если учесть, что кишечник дождевого червя освобождается от пищи в течение 3 дней, то тем более непонятен механизм нахождения личинок в кишечнике. По-видимому, личинки токсокар там питаются, т.к. несколько увеличиваются в размерах. Этот факт был отмечен японскими исследователями S.Okoshi и M. Usui [9], зарегистрирован он и нами. Среднее количество личинок, обнаруженных нами у дождевых червей на протяжении опыта, составило $10,1 \pm 2,8$. Причем, уменьшение количества личинок выявлено лишь в конце третьего месяца (рисунок 1). В двух червях, вскрытых на 71 день опыта, обнаружено 2 и 31 живая личинка.

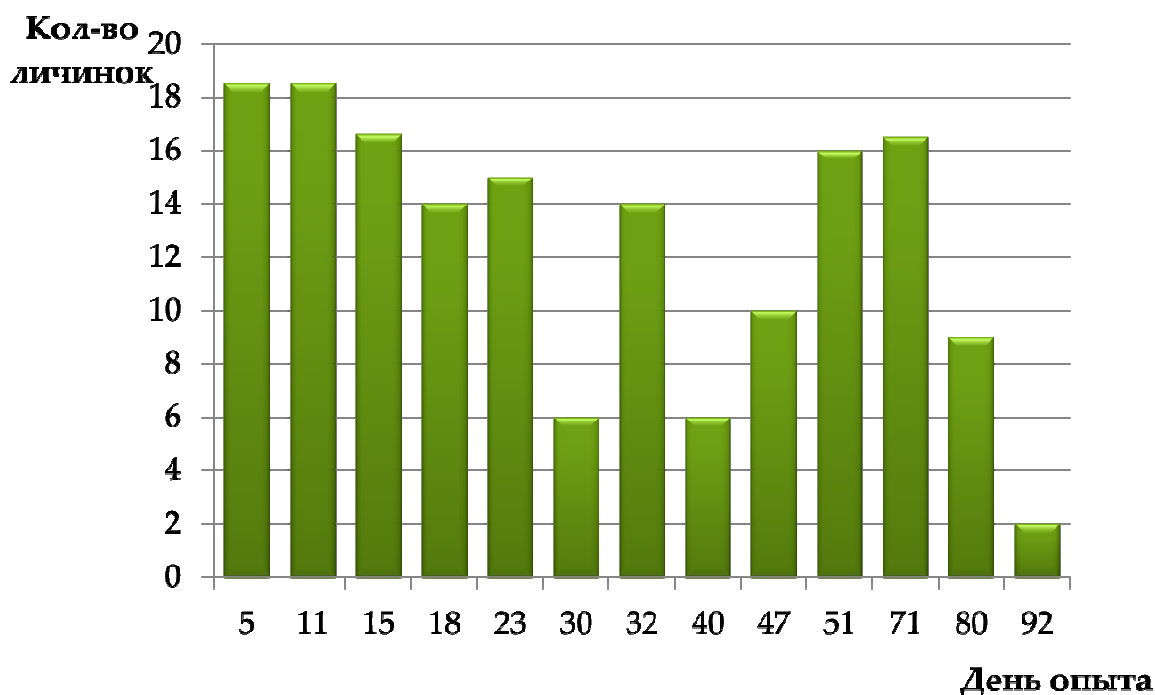


Рис.1. Среднее количество личинок *Toxocara cati* в дождевых червях

Личинки токсокар в качестве резервуарных хозяев выбирают чаще теплокровных животных, у которых они могут находиться в жизнеспособном состоянии до 6-10 лет, не покрываясь при этом капсулой. Дождевые черви таковыми не являются, но, тем не менее, личинки *Toxocara cati* в жизнеспособном состоянии обитают у них в кишечнике до трех месяцев, выйдя из яйцевых оболочек.

На 27 день опыта в зараженной почве был обнаружен 1 червь *Eisenia fetida*. При его исследовании отмечено, что в средней части кожно-мышечного мешка находилась всего 1 неподвижная личинка, а в кишечнике обнаружено 62 жизнеспособные личинки токсокар.

Выводы. Инкубации яиц *Toxocara cati* при температуре $28 \pm 1^\circ\text{C}$ продолжалась в течение 4 недель. Инвазионные яйца *T. cati*, попав естественным путем в дождевых червей *Eisenia fetida*, выходят в кишечнике из яйцевых оболочек и могут находиться в жизнеспособном состоянии до трех месяцев (92 дня). Единичные личинки внедряются в среднюю и заднюю часть кожно-мышечного мешка в 50 % случаев. Около половины личинок становится там неподвижными. В целом, среднее количество личинок в этой части червя составило $1,9 \pm 0,35$. В кишечнике личинки регистрировались в жизнеспособном состоянии на протяжении всего периода опыта, в среднем $7,0 \pm 1,6$ (1-30) личинок. Количество личинок в дождевых червях в течение опыта в 92 дня составило в среднем $10,1 \pm 2,8$. Находясь в зараженной почве, дождевые черви способны накапливать инвазионные личинки *T. cati* в кишечнике.

Список литературы

1. Малышева Н.С., Самофалова Н.А., Плехова Н.А., Борзосекон А.Н. Паразитологическая оценка качества среды обитания на урбанизированных территориях Курской области //Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: матер. докл. науч. конф. М.,2009. – Вып 10. – С. 255-257.
2. Постнова В.Ф., Шендо Г.Л. и др. Оценка эпидемиологической значимости почвы при токсокарозе //Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: матер. докл. науч. конф. М.,2009. – Вып 10 – С. 304-306.
3. Тумольская Н.И., Сергиев В.П., Лебедева М.Н. и др. Токсокароз. Клиника. Диагностика. Лечение. Профилактика. – М., 2004. – 48 с.
4. Engbæk, K. et al. (1984) A survey of helminths in stray cats from Copenhagen with ecological aspects. Z. Parasitenkd. 70, 87 – 94.
5. Fisher, Maggie, 2003. *Toxocara cati*: an underestimated Zoonotic agent. J. Parasitol., 19:167-170.
6. Galvin, T.J., 1964. Experimental *Toxocara canis* infections in chickens and pigeons. J. Parasitol., 50: 124-127.
7. Nichols, R.L., 1956. The etiology of visceral larva migrans. I. Diagnostic morphology of infective second-stage *Toxocara* larvae. J. Parasitol., 42: 349-362.
8. Okoshi, S. and Usui, M., 1968. Experimental studies on *Toxascaris leonina*.IV.Development of eggs of three ascarids, *T. leonine*, *Toxocara canis* and *Toxocara cati*, in dogs and cats. Jpn. J. Vet. Sci., 30:29-38..
9. Okoshi, S. and Usui, M., 1968. Experimental studies on *Toxascaris leonina* vi. Experimental infection of mice, chickens and earthworms with *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis* and *Toxocara cati*. Jpn. J. Vet. Sci., 30: 151-166.
10. Oshima, T., 1961. Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. J. Parasitol., 47: 652-656.
11. Petithory, J.C. et al., 1993. Immunological studies on ocular larvae migrans. *Toxocara* and *Toxocariasis*: Clinical, Epidemiological and Molecular Perspectives (Lewis, J.W., Maizels, R.M., et al. eds), pp. 81-89, The British Society for Parasitology with the Institute of Biology.
12. Sarles, M.P. and Stoll, N.R.,1935. On the resistance of the cat to superimposed infection with the ascarid, *Toxocara cati*. J. Parasitol.21: 277–291.
13. Sprent, J.F.A., 1955. On the invasion of the central nervous system by nematodes II. Invasion of the nervous system in Ascariasis. Parasitology, 45: 41-55.

Рецензенты:

Машкин В.И., д.б.н., профессор кафедры охотоведения и биологии диких животных, ФГБОУ ВО Вятская ГСХА, г. Киров;

Филатов А.В., д.вет.н., профессор кафедры зоогигиены, физиологии и биохимии, ФГБОУ ВО Вятская ГСХА, г. Киров.