0

earthpapers

Поиск по каталогу…

Найти

Цена и условия доставки

Биологические науки 03.00.00

Геолого-минералогические науки 04.00.00

Сельскохозяйственные науки 06.00.00

Географические науки 11.00.00

Науки о Земле 25.00.00

Бесплатный автореферат и диссертация по биологии на тему

Структурно-функциональные сосбенности метацеркарий OPISTHORCHIS FELINEUS (RIVOLTA, 1884); оптимизация способов обеззараживания и контроля рыбы, инвазированной личинками возбудителя описторхоза

ВАК РФ 03.00.19, Паразитология

Автореферат

диссертации по теме "Структурно-функциональные сосбенности метацеркарий OPISTHORCHIS FELINEUS (RIVOLTA, 1884); оптимизация способов обеззараживания и контроля рыбы, инвазированной личинками возбудителя описторхоза"

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНОЙ ЭНТОМОЛОГИИ И АРАХНОЛОГИИ

г" На правах рукописи

^ УДК 576.895.122:612.017:577.3:577.74

ЗВЯГИНА Валентина Васильевна

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАЦЕРКАРИЙ ОРШТНОЯСШБ ГЕЬЕЧЕШ (ШУОЬТА, 1884); ОПТИМИЗАЦИЯ СПОСОБОВ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ И КОНТРОЛЯ РЫБЫ, ИНВАЗИРОВАННОЙ ЛИЧИНКАМИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ОПИСТОРХОЗА

03.00.19 - Паразитология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Тюмень - 1995

Работа выполнена в Тюменском НИИ краевой инфекционной патологии ГКСЭН РФ.

Научные руководители:

академик РАЕН, доктор биологических наук,

.профессор С.А.БЕЭР

доктор медицинских наук, старший научный сотрудник В.Г.ФИЛАТОВ

Официальные оппоненты:

член-корреспондент РАИН, доктор медицинских наук, профессор В.Г.БЫЧКОВ

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник В.Н.ДОМАЛКИЙ

Ведущая организация: Сибирский научно-исследовательский и проектно-конструкторский институт рыбного хозяйства

Защита состоится " 12 " января 1996 г. в ДО часов на заседании диссертационного совета К 020.86.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте ветеринарной энтомологии и арахнологии. Адрес: 625041,г.Тюмень,ул.Институтская 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИВЭА. Автореферат разослан "Л 3 " ноября 1995г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат биологических наук

Н.В.Солопов

Актуялыюсть.Описторхоз - одна из важнейших проблем отечественной паразитологии, особенно актуальна для ЗападноСибирского региона.

Широкое распространение описторхоза среди населения эндемичных районов, обусловило необходимость разработки системы мер профилактики заболевания, в которой большое внимание уделяется созданию эффективных способов обеззараживания рыбы и рыбных продуктов от' метацеркарий возбудителя. К коину 80-х голов были в основном отработаны режимы традиционных способов обеззараживания рыбы, гарантирующие гибель личинок описторхиса (СанПиН - 15-6/44, 1990г.).

Основным фактором передачи описторхозной инвазии является плохо просоленная р^ба. Режимы посола рыбы семейства карповых, рекомендуемые СанПиН,ом 15-6/44, усилены (по сравнению с общепринятыми до 1990 г.) до 40 суток, в связи с выявленной высокой жизнеспособностью метанеркарнй возбудителя. Вместе с тем, такой режим обеззараживания приводит к значительному ухудшению вкусовых ' качеств рыбной продукции и длительной загруженности технологических линий. Способ посола рыбы, в целях ее обеззараживания от метацеркариЙ опирторхиса нуждался в значительной коррекции.

Информация о работе

Звягина, Валентина Васильевна

кандидата биологических наук

Тюмень, 1995

ВАК 03.00.19

Автореферат

Читать

Похожие работы

Эколого-паразитологические и социальные особенности очагов описторхоза в Южных районах Тюменской области

Биосоциальные условия функционирования очагов описторхоза на Южном Урале

Экологические основы функционирования очагов описторхоза в условиях Центрально-Черноземной зоны

Описторхоз плотоядных животных в условиях Западной Сибири

Гельминтозоонозы в Белоруссии, передающиеся от рыб (эпизоотология, патогенез, профилактика)

Известно, что стадия метанеркприи трематод имеет комплекс специфических адаптационных особенностей, которые .позволяют паразиту успешно преодолевать препятствия на пути к организму дефинитивного хозяина (Гииецннская, 1968; Шипш, 1987 и др.]. Углубленных исследований биологических особенностей метанеркорий О.ГеКпеия практически не проводилось.

Между тем , исследование гистоморфологическнх особенностей соедительно-тканной капсулы метацеркариЙ О. ГеИпеш дает возможность не только подойти к пониманию некоторых особенностей паразнто-хозяинных отношений в системе: "гельминт-рыбы", по и выявить роль капсулы, как защитного образования на этане " после гибели хозяина ".

Применительно к метанеркариям описторхиса не были исследованы гистохимические тесты, дагошне возможность получить Морфофункнциональные характеристики гельминта.

Интенсивный процесс движения питательного материала из ткани хозяина к гельминту (на стадии метацеркарни) и длительное изолированное его существование приводят к накоплению значительных запасов энергетического материала п виде грянул гликогена. Его запас на стадии метацеркарни рассматривается как необходимая подготовка к завершению морфогенеза личинки, паразнтировапию в организме дефинитивного хозяина и началу размножения (Гинецпнская с соавт. 1963-1965 1.

Существенен вопрос, каким путем попадают в организм развивающейся метацеркарии моносахариды, необходимые для синтеза гликогена. Метацеркарии O. felineus заключены в цисту, что исключает возможность активного литания. Остается полагать, что глюкоза и другие моносахариды свободно проникают через 'стенку цисты и соединительно-тканную капсулу и затем воспринимаются гельминтом через тегумент.

Таким образом, вопрос о накоплении гликогена метацеркарией возбудителя описторхоза, по сути дела, аналогчен вопросу о жизнеспособности личинки и проницаемости оболочек - стенки цисты и соединительно -тканной капсулы. Исследования этих процессов лежат в основе разработки любых способов воздействия на личинку гельминта, в том числе и методов обеззараживания рыбы.

Для проведения санитарно-гельминтологической оценки эффективности дегельминтизации инвазированной рыбы наиболее перспективным в настоящее время является способ стимуляции эксцистирования личинок раствором трипсина, однако, условия этапа предварительной подготовки цисты не были определены, что затрудняло проведение контроля обеззараживания условно годной рыбы.

Цель и задачи исследования. Основная цель работы - оптимизация способов обеззараживания рыбы, инвазированной личинками возбудителя описторхоза и усовершенствование санитарно-гельминтологического контроля условно годной рыбы на основе данных о структурно-функциональных особенностях метацеркарии O.felineus.

Для этого решались задачи:

- выявление гистохимических и морфологических особенностей метацеркарий O.felineus (микроструктура соединительно-тканной капсулы, распределение липидов и гликопротеинов, топография и количественные особенности гликогена);

- определение оптимальных условий процесса эксцистирования и потенциала жизнеспособности личинок "in vitro";

- оценка воздействия уксусной кислоты на жизнеспособность метацеркарии; проведение экспериментальных исследований по влиянию растворов уксусной кислоты на процесс посола инвазированной рыбы.

Научная новизна. Впервые с помощью гистологических, гистохимических методов получены данные о микроструктуре соединительно-тканной капсулы метацеркарий O.felineus; выявлены изменения капсулы в ходе постмортальных процессов в тканях хозяина и при посоле рыбы;

исследованы особенности распределения в метацеркариях липидо в, кислых и нейтральных гликопротеннов; выяснена топографическая картина гликогена в органах и тканях личинки; выявлена гетерогенность метацеркарий в спонтанно инвазированной рыбе по признаку "количество гликогена".

Новыми являются данные относительно сроков жизнеспособности метацеркарий "in vitro" в активном (эксцистированном) состоянии при +37'С и в инцистированном состоянии при +4°С.

Осуществлено параллельное исследование динамики жизнеспособности метацеркарий и количества гликогена у эксцистированных личинок.

Впервые экспериментально установлены оптимальные условия предварительного этапа процесса эксцистирования метацеркарий O.felineus и в результате этого разработано техническое решение, позволяющее усовершенствовать способ санитарно-гельмйнтологической оценки условно годной рыбы.

Дана оценка влиянию различных растворов уксусной киелоты на жизнеспособность инцистнропанных метацеркарий; выявлены минимально эффективные концентрации кислоты , эффективно подавляющие жизнеспособность метацеркарий "in vitro".

Впервые исследована динамика снижения жизнеспособности метацеркарий возбудителя описторхоза и степени солености при посоле язей промысловых размеров в соответствии с условиями, рекомендуемыми СанПиН ом 15-6/44. Установлена быстрая гибель личинок O.felineus при последовательном применении 6%-ного раствора уксусной кислоты и крепкого посола.

Практическая значимость. На основании полученных результатов исследований разработаны технические решения, позволяющие усовершенствовать санитарно-гельминтологический контроль инвазированной рыбы сем. карповых в условиях рыбоперерабатывающих предприятий, санитарно-эпидемиологической и ветеринарной служб: упрощен метод определения интенсивности инвазии язей промысловых размеров;опти-мизирован метод забора проб мышц инвазированной рыбы для пептического переваривания; предложен способ предварительно й инкубации метацеркарий описторхиса для последующего определения жизнеспособности.

Продемонстрирована возможность оптимизации обеззараживания, рыбы инвазированной личинками возбудителя описторхоза, путем сочетанного применения уксусной кислоты (в концентрациях, используемых в пищевой промышленности) и крепкого посола, что значительно сокращает сроки гарантированного обеззараживания рыбы.

Данные о структурно-функциональных особенностях метацеркарий ОТеНпеиэ могут быть использованы как дополнения к учебному материалу и как основа дальнейших разработок по усовершенствованию способов обеззараживания рыбы и рыбной продукции.

Положения, выносимые на защиту:

- микрострукгурные особенности комплекса морфофизиологичес-ких адаптаций метацеркарий возбудителя описторхоза к условиям перехода от второго промежуточного хозяина к дефинитивному;

- оптимизация способа обеззараживания рыбы путем посола;

- обоснование необходимости предварительного этапа в процессе эксцистирования при контроле качества режимов обеззараживания.

Апробация работы. Результаты исследований докладывались на международных научных конференциях - Томск, 1991г.; Витебск, 1993г.; на IV симпозиуме по паразитам рыб - Улан-Уде, 1993г.; на X научной конференции, посвященной теоретическим и практическим вопросам общей и экологической паразитологии - Кемерово, 1992г.; на научной конференции ВО Г - Москва, 1994г.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ.

Структура диссертации и объем.

Диссертация общим объемом 126 страниц состоит из введения,пяти глав, выводов, практических рекомендаций и приложений. Список литературы включает 190 источников, из них 136 отечественных и 54 иностранных авторов.

Текст иллюстрирован 6 таблицами, 27 рисунками и микрофотографиями.

Содержание работы

В обзоре литературы (глава 1) подчеркивается, что имеющиеся в литературе сведения о стадии развития О.ГеНпещ - метацеркарии, в основном получены в результате эпидемиологических исследований в очагах описторхоза. В основном решены вопросы касающиеся круга вторых промежуточных хозяев, локализации личинок паразита в рыбе, степени ее инвазированности и т.д. [Сидоров, 1983; Фаттахов, 1990].

Гораздо хуже изучены биологические характеристики личинок паразита (морфогенез метацеркарий, гистоморфологические особенности, процесс эксцистированкя, динамика жизнеспособности, как в живом хозяине, так и после его гибели и др.). В литературе практически отсутствуют сведения о характере распределения, динамике накопления и расходования гликогена, а также о структуре соединительно-тканной капсулы личинок описторхиса. Создается впечатление, что именно стадия метацеркарии (как это ни парадоксально!) исследована хуже всего, если иметь в виду ее ультраструктуру и обменные процессы. К сожалению, литература, посвященная разработке способов обеззараживания рыбы от личинок возбудителя описторхоза, в основном, относится к периоду 60-х, 70-х годов (наиболее "свежей" публикацией, в этом плане, является упомя!гугый нами СанПиН 156/44, 1990г.).

В главе "Материал и методы" (глава 2) приводится объем материала и разносторонние методики (некоторые из них усовершенствованы автором настоящей работы) гистохимических, гистологических, эпидемиологических, паразитологических

исследований.

Сбор материала осуществлялся в водоемах Тура-Пышминского междуречья Обь-Иртышского очага описторхоза. Экспериментальные исследования проведены в Тюменском НИИ краевой инфекционной патологии.

Объем материала. Для исследования морфологических особенностей метацеркарий О. ГеНпеия приготовлено и проанализировано - 4500 микропрепаратов метацеркарий описторхиса. Усовершенствование методических приемов при работе с метацеркариями О.ГеКпеив осуществлено при исследовании 172 особей рыбы сем.Сурпшс!ае (в основном - язей).

Сроки жизнеспособности метацеркарий в заданных температурных режимах изучали на 50 000 метацеркарий ОТеНпеия, изолированных от тканей рыбы. Влияние уксусной кислоты (УК) на жизнеспособность метацеркарий и процесс обеззараживания рыбы методом сочетанного применения уксусной кислоты и поваренной соли изучали на 360 особях язей промысловых размеров разных возрастных групп.

В основу гистологических и гистохимических исследований положены общепринятые (Пирс, 1962; Волкова, Елецкий, 1982 и др.) и специфические (Судариков, Шигин, 1965; Гннеиинская, 1968; ГТодлеснов и соавт.,1987) методы, используемые для изучения метацеркарий трематод.

Экспериментальные исследования по изучению влияния уксусной кислоты (УК) на жизнеспособность метацеркарий проводили в два этапа: 1 - оценка влияния кислоты на жизнеспособность иниистированных личинок, изолированных от тканей рыбы; 2 -оценка влияния УК на динамику просаливания рыбы и жизнеспособность метацеркарий, находящихся в тканях инвазированной рыбы. При этом оценивали 2 показателя: концентрацию (в %) соли в мышцах рыбы методом упрощенного аргентометрического анализа и жизнеспособность (в %) метацеркарий О.ГеНпеих.

Микроморфологические и гистохимические исследования метацеркарий описторхиса (глава 3) позволили установить, что личинка возбудителя описторхоза имеет развитые дифференцированые тканевые структуры, особенности которых обусловлены адаптационными' признаками, обеспечивающими осуществление жизненного цикла паразита на этапе развития во втором промежуточном хазяине и при переходе к дефинитивному хозяину.

Соединительно-тканная капсула метацеркарий развита, имеет типичный для трематод план строения и возрастные особенности. В ходе постмортальных изменений тканей рыбы на фоне деструктивных процессов в мышцах структура капсулы сохраняется, обеспечивая защитную функцию при воздействии факторов, подавляющих жизнеспособность личинки.

Тегумент метацеркарий, имеющий типичное для трематод строение,насыщен нейтральными и кислыми гликопротеинами, что указывает на активную роль этого органа в транспорте питательного материала, который наиболее ярко выражен у личинок в инкапсулированном состоянии.

Присоски имеют разную функциональную направленность. Брюшная присоска, насыщенная энергетическим материалом, выполняет роль мышечного органа при захвате субстрата в эксцистированном состоянии.

Присутствие в брюшной присоске множества клеток, секретирующих кислые гликопротеины, позволяет предположить участие ее также и в транспорте питательного материала. Ротовая присоска беднее энергетическим материалом, однако, в ней сконцентрирована масса секреторных клеток, среди которых преобладают железы с нейтральными гликопротеинами. Роль головной присоски после эксцистирования в доуденальном содержимом дефинитивного хозяина определяется, видимо, поиском и захватом специфического питательного материала, т.к. функция прикрепительного органа у нее ограничена.

Клетки паренхимы метацеркарий имеют дифференцированный характер. Выявлены два типа клеток («£ и согласно классификации Корнаковой, 1989). Отростки ■¿-клеток служат основным депо гликогена.

Пищеварительная система метацеркарий развита, но слабые проявления гистохимических реакций подтверждают отсутствие ее активной функции на данной стадии развития гельминта.

Объем экскреторного пузыря значительно превышает объем этого органа у церкарий (только что проникших в ткани рыбы) и марит описторхиса. На все гистохимические тесты содержимое его проявляет интенсивную реакцию. В клетках стенки пузыря и окружающей его паренхиме содержится большое количество гликогеновых структур. Все это позволяет говорить о весьма важной (доминирующей) роли данного органа в жизнедеятельности метацеркарий, которая обесловлена изолированным существованием паразита в тканях второго промежуточного хозяина.

Использование ШИК-реакции (по Мак-Манусу) позволило выявить гликоген в органах и тканях метацеркарий О.ГеПпеш;, составить его топографическую картину в теле личинки и оценить количественные запасы. Анализируя состояние запасного тгтатсльного материала у метацеркарий О.ГеПпеш (полученных от спонтанно инвазированной рыбы в очаге описторхоза), мы обнаружили, что личинки, выходящие из цист после экспериментального пегтгческого переваривания, гетерогенны по количеству гликогена и но динамике его использования. Мы придаем этому факту особое значение, допуская, что он может быть следствием неких субвидовых (штаммовых, демовых) различий паразита, все же предполагаем, что основная причина этого явления кроется в возрастных особенностях метацеркарий.

По количеству и качественным особенностям полисахарида исследованных метацеркарий мы смогли разделить на 5 групп. В тексте диссертации дана подробная, здесь же мы приводим их краткую характеристику (см. таблицу).

Гистохимические исследования показали, что зрелые инвазионные особи в спонтанно инвазированной рыбе при мощном энергетическом потенциале обладают развитой соединительно-тканной капсулой, проницаемость которой с возрастом может значительно снижаться в результате разрастания волокон соединительной ткани при воздействии иммунного пресса хозяина, поэтому метацеркарии третьей и четвертой групп являются наиболее устойчивыми к воздействию внешних факторов.

Таблица

Классификация метяиеркарий О.ГеНпеия по признаку: "количество гликогена"

Группа Количество гликогена Качественные изменения структур Встречаемость выделенных групп в рыбе (»*>• Предполагаемые возрастные группы

1 Гликоген практически полностью отсутствует Нет 2,2±0,7 " Молодые" на стадии накопления или'старые" потерявшие гликоген

2 Гликоген в виде раз розненных зерен в паренхиме и присосках Нет 4,3+0,9

3 Единичные зерна в центре и скопление глыбок гликогена по периферии паренхимы; присоски и стенки экскреторного пузыря содержат больше полисахарида, чем паренхима Нет 9,1±2,1 А У

4 Обильное содержание гранул и глыбок гликогена в паренхиме превышает накопления в присосках, значительные скопления вблизи присосок и экскреторного пузыря Нет 84,4+3,3 " Зрелые * инвазионные

5 Количество гликогена может соответствовать любой из вышеперечисленных групп Имеется характерный черно-зеленый оттенок зерен гликогена С нарушениями метаболизма

* По результатам анализа гистологических препаратов

Это важно учитывать в практике разработки норм обеззараживания рыбы, т.к. именно на таких личинок должны расчитываться все параметры обеззараживания, тем более, что, как показали наши исследования, такие " устойчивые " личинки встречаются в популяциях и отдельных экземплярах рыб в большом проценте.

Изучая процесс эксиистирования личинок O.felineus (глава 4), мы испытали ряд физико-химических воздействий: разрежение кислорода,раствор углекислого натрия, щелочную среду без трипсина. Ни одно из них не оказалось активным стимулятором эксиистирования метацеркарий.

Для оптимального выхода жизнеспособных личинок из цисты "in vitro" необходимы: 0,5%-ный раствор трипсина (pH=7-8), или желчь в разведении 1:1 при температуре среды +37° С. Однако, мы установили, что для активного эксиистирования метацеркарий " in vitro " необходима предварительная обработка материала раствором соляной кислоты (pH= 2-3) в течение 30-40 минут (температура + 37° С).

Найденные режимы эксцистиропания нами были апробированы в практике при определении жизнеспособности метацеркарий, полученных от инвазированной рыбы. Получены" убедительные положительные результаты.

Выявленные в ходе экспериментальных исследований оптимальные режимы эксцистирования личинок O.felineus рекомендованы нами к практическому использованию при санитарно-гельминтологическом контроле условно годной рыбы с целью эффективного определения жизнеспособностн метацеркарий (патент СССР N 1843498,1991 г.).

Оптимизации режимов обеззараживания рыбы сем. карповых от метацеркарий описторхиса посвяшена глава 5. Основное внимание было уделено оптимизации режима соления рыбы, как наиболее распространенного в быту и на предприятиях рыбообрабатывающей промышленности способа приготовления рыбной продукции с одновременный обеззараживанием ее от личинок возбудителя.

Наши исследования были направлены на возможность ускорения процесса обеззараживания рыбы при ее засолке без ущерба для эффективности и без потери вкусовых качеств.

Экспериментальные исследования показали, что растворы уксусной кислоты в концентрации 3 и 6% (используемые в пищевой промышленности) являются минимальными из эффективно подавляющих жизнеспособность инцистированных (изолированных от тканей рыбы) метацеркарий возбудителя описторхоза, при этом 6%-ный раствор уксусной кислоты оказывается примерно в 6 раз эффективнее.

Дальнейшие исследования в этом направлении (при составлении композиционных створов) мы проводили именно с этими разведениями уксусной кислоты .

Предварительная обработка рыбы в растворах УК приводит при дальнейшем воздействии на нее растворов поваренной соли к значительному повышению эффективности проникновения соли в мышцы рыбы и цисты, содержащие метацеркарии. Гибель личинок при этом заметно ускоряется.

Для коррекции способа посола рыбы, инвазированной метацеркариями О.РеНпеш, наиболее перспективным для практического использования является предварительное вымачивание рыбы в течение 4-х часов в 6%-м растворе растворе уксусной кислоты при температуре +4°С. Это способствует ускоренной гибели метацеркарий и не оказывает заметного влияния на товарный вид и вкусовые качества рыбы.

Жизнеспособность метацеркарий (их смертность) при посоле зависит также от размеров рыбы и наличия чешуи. Сочетанное применение уксуса (в предложенных нами концентрациях) и крепкого посола наиболее эффективно подавляет жизнеспособность личинок в язях массой менее 500 г (весовая группа, составляющая основу выловов). Полная гибель личинок при этом наблюдается через 9 суток, что значительно быстрее, чем при всех иных способах обработки с помощью соления и- воздействия низких температур. В крупных язях массой более 500 г полная гибель личинок при посоле в выбранных нами режимах зафиксирована через 13 суток, что также эффективнее, чем способ обычного посола.

Наиболее интенсивное падение жизнеспособности метацеркарий наблюдается в рыбе засоленной без чешуи, через 5 суток посола количество жизнеспособных личинок в такой рыбе оказалось в 4 раза ниже, чем в неразделанной рыбе аналогично весовой группы.

ВЫВОДЫ

1. Двухслойная соединительно-тканная капсула метацеркарий ОХеНпеш имеет типичный для трематод план строения: внутренний слой состоит из плотно расположенных волокон и нескольких рядов зрелых фибробластов; сконцентрированный большей частью на полюсах наружный слой составлен рыхлыми волокнами со скоплениями клеток между ними. В тканях спонтанно инвазированной рыбы наблюдаются возрастные изменения в структуре капсулы, проявляющиеся в различной степени выраженности слоев.

На фоне деструктивных процессов в мышцах в ходе постмортальных изменений тканей рыбы структура капсулы паразита сохраняется. Разрыхление внутреннего слоя фиксируется лишь на этапе глубокого аутолиза и в поздние сроки обработки рыбы методом посола.

2. Энергетический материал у метацеркарий описторхиса резервируется в виде гликогена. В органах и тканях личинки гликоген расположен неравномерно: основным органом накопления его является паренхима, второй орган по степени содержания резервного полисахарида - брюшная присоска, выполняющая ведущую роль при захвате субстрата. В тегументе и пищеварительной системе содержание гликогена незначительное. Гликоген мозгового ганглия представлен в виде множественных мелких зерен. Множество гранул гликогена в клетках стенки экскреторного пузыря и окружающей его паренхиме.

3. Метацеркарии O.felineus в спонтанно инвазированной рыбе имеют неравноценное количество гликогена, встречаются особи с обильными запасами гликогена я личинки, у которых резервный полисахарид практически отсутствует. Неравноценность энергетического потенциала метацеркарий определяет неравномерную динамику падения жизнеспособности личинок.

4. Устойчивость метацеркарий возбудителя описторхоза к резким изменениям условий среды на этапе "после гибели хозяина" обусловлена комплексом морфо-физиологических адаптации, наличием соединительно-тканной капсулы, стенки цисты, энергетического потенциала в виде гликогена и особенностями его использования.

5. Для активного выхода метацеркарий O.felineus из цист в щелочной среде необходим этап предварительного пребывания в кислой среде. Оптимальным режимом предварительного этапа эксцистирорвания "in vitro" является обработка цист изотоническим раствором хлорида натрия с добавлением хлористоводородной кислоты до pH=2-3, в течение 30-40 минут в термостате при +37" С.

6. Срок жизнеспособности личинок O.felineus при содержании в физиологическом растворе зависит от температуры окружающей среды, определяющей возможность использования энергетического потенциала. При +4° С инцистированные метацеркарии могут сохранять жизнеспособность в течение 10-14 месяцев.

При +37° С метацеркарии сохраняют жизнеспособность до 9 суток; при комнатной температуре основная масса погибает через 10 - 14 суток.

7. Растворы уксусной кислоты в концентрациях 3% и 6% являются минимальными эффективно подавляющими жизнеспособность инцистированных, изолированных от тканей рыбы метацеркарий О-ГгИпеш, при этом 6%-ный раствор оказывается в 6 раз эффективнее именно эти растворы широко используются в пищевой промышленности.

8. Предварительная обработка рыбы растворами уксусной кислоты приводит при последующем посоле к повышению эффективности проникновения соли в мышцы рыбы и значительно ускоряет гибель метацеркарий. Для коррекции способа посола рыбы, инвазированной метацеркариями возбудителя описторхоза, наиболее перспективным для практического применения является предварительное вымачивание рыбы в течение 4-х часов в 6%-ном растворе уксусной кислоты, что способствует ускоренной гибели метацеркарий и не оказывает заметного влияния на товарный вид и вкусовые качества рыбы.

9. Жизнеспособность метацеркарий возбудителя описторхоза при посоле зависит от размеров рыбы. В выбранных нами режимах сочетанного применения уксусной кислоты и крепкого посола полная гибель личинок у язей массой менее 500 г (весовая группа составляющая основу выловов) наблюдалась через 9 суток,у язей массой более 500 гр - через 13 суток, что значительно быстрее, чем при посоле, рекомендуемом действующими санитарными правилами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать санитарно-эпидемиологической и ветеринарной службам Российской Федерации, предприятиям рыбодобывающей и рыбоперерабатывающей промышленности, научно-исследовательским учреждениям медико-биологического профиля ряд мероприятий:

1. При проведении санитарно-гельминтологической экспертизы условно годной рыбы:

-использовать "Способ санитарно-гельминтологического контроля условно годной рыбы, инвазированной метацеркариями описторхиса" (патент СССР N 1833498, 1991г.);

-применять упрощенный метод определения интенсивности инвазии язей промысловых размеров личинками возбудителя описторхоза (рационализаторское предложение N 133 от 19.07,88г.), усовершенствованный метод пептического переваривания рыбы на наличие метацеркарий O.felineus (рационализаторское предложение N 134 от 15.11.88г.).

2. При обеззараживании рыбы от возбудителя описторхоза методом • посола использовать режимы предварительной обработки условно годной рыбы 6%-ным раствором уксусной кислоты в течение 4-х часов при температуре +4°С, что ведет к значительному сокращению сроков и повышению эффективности обеззараживания.

3. Включить предложенные методические приемы, оптимизирующие условия анализа, контроля и обеззараживания инвазированной рыбы, а также гистологические схемы исследований внутренних структур метацеркарий в учебный материал курсоо повышения квалификации паразитологов.

ВНЕДРЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПРАКТИКУ

Материалы диссертации использованы при разработке патента СССР N 1833498, приоритет 30.01.91 г, а также рационализаторских предложений по оптимизации процесса исследований метацеркарий описторхиса NN 133, 134, 137, утвержденных к внедрению в Тюменском НИИ краевой инфекционной патологии. Разработано и утверждено к внедрению в ЛПУ и ЦСЭН Тюменской области в сентябре 1995 года информационное письмо "Метацеркарий возбудителя описторхоза: структурно-функциональные особенности, способы получения, содержания, определения жизнеспособности".

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. ЗвягинаВ.В.,ШелихановаР.М. К вопросу определения интенсивности инвазии рыб личинками возбудителя описторхоза при санитарно-гельминтологическон экспертизе // Научные основы оздоровительной работы при гельминтозах и некоторых арбовирусных инфекциях,- Омск, 1989. - С. 292-298.

2. Звягина В.В., Шелиханова Р.М. Способ инкубации метацеркарий описторхиса для определения жизнеспособности // Описторхоз.Современное состояние проблемы, перспективы развития. Сб.тез.юбилейной конф.- Тюмень, 1991. - С. 26-28.

3. Звягина В.В., Лазарева О.А., Шелиханова Р.М. Состояние защитных образований метацеркарий Opisthorchis felineus в тканях спонтанно инвазированной рыбы // Описторхоз. Современное состояние проблемы, перспективы развития. Сб.тез. юбилейной конф. Тюмень, 1991. - С. 61-63.

4. Звягина В.В., Начева Л.В., Гребенщиков В.М. Распределение липоидных веществ в метацеркариях сибирской двуустки // Материалы X научной конф., посвященной теоретическим и практическим вопросам общей и экологической паразитологии. - Кемерово, 1992. - С. 29-30.

5. Звягина В.В., Начева Л.В. Состояние и особенности энергетического запаса метацеркарий описторхиса // Тез. докл. областной конф., посвященной 70-летию сан.-эпид. службы. - Тюмень, 1992. С. 24-25.

6. Звягина В.В., Шелиханова Р.М. Способ санитарно-гельмиетологического контроля условно годной рыбы, инвазированной метацеркариями описторхиса // Патент СССР, N 1833498. - Приоритет 30.01.91. - Бюл. N 29, 1993.

7. Звягина В.В., Начева Л.В. Состояние гликогена в органах и тканях метацеркарий Opisthorchis felineus // Мед. паразитол. - М., 1993. -N 5. - С. 23-26.

8. Звягина В.В. Филатов В.Г. Изучение факторов, определяющих жизнеспособность метацеркарий возбудителя описторхоза // Актуальные проблемы медицинской и ветеринарной паразитологии. Тез. докл.международной научн.конф. - Витебск, 1993. - С. 29-30.

9. Звягина В.В. Жизнеспособность и состояние гликогена у эксцистированных метацеркарий Opisthorchis felineus (Riv.,1884) // 1У симпозиум по паразитам и болезням рыб и гидробионтов ледовитоморской провинции. - Материалы. - Улан-Удэ, 1993. - С. 14-15.

10. Звягина В.В. Гистологические и гистохимические особенности метацеркарий возбудителя описторхоза // Гельминтозоонозы - меры борьбы и профилактики. Тез.докл.науч.конф.ВОГ.- М.,1994,- С.69-71.

11. Звягина В.В., Беэр С.А. Обеззараживание рыбы, инвазированной метацеркариями возбудителя описторхоза, путем сочетанного применения уксусной кислоты и поваренной соли // Принята к печати в Мея.паразитол. в 1995г.

© earthpapers.net

Диссертации по геологии, географии, биологии и сельскому хозяйству.

earthpapers в сети: