

УДК 639

**ВИДОВАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЛИЧИНОК АНИЗАКИД,
ОБНАРУЖЕННЫХ В МЯСЕ МОРСКОЙ РЫБЫ**
SPECIES AND VIABILITY OF THE ANISAKID LARVAE FOUND IN SEA FISH MEAT

Гаврюшенко И.В.

Gavrushenko I.V.

**Московская государственная академия ветеринарной медицины и
биотехнологии имени К.И. Скрябина, Москва, Россия**

Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

АННОТАЦИЯ

В результате проведенной ветеринарно-санитарной экспертизы 4 проб рыб, установлена зараженность их личинками двух видов анизакидных нематод, представляющих опасность для здоровья человека (СанПиН 2.3.2.560-96) – *Anisakis simplex* и *Pseudoterranova decipiens*. Экстенсивность заражения составила от 96,2% до 8% в полости тела и от 96% до 4% печени, при индексе обилия от 0,04 до 5,6. Паразиты локализовались в мускулатуре, полости тела и печени. Все обнаруженные в мороженой рыбопродукции личинки нематод оказались нежизнеспособными. В связи с чем, мы пришли к заключению, что замораживание является надежным способом обеззараживания рыбопродукции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Рыбная продукция, ветеринарно-санитарный контроль, паразитарные инвазии рыб, безопасность продукции, мониторинг инвазивных заболеваний.

Среди многих паразитарных болезней человека анизакидоз - новая возрастающего значения проблема, с которой мало знакомы врачи клинической медицины.

Anisakiasis (анизакидоз) является болезнью желудочно-кишечного тракта, паразитарного характера, вызываемая личинками анизакид. Люди заражаются при употреблении в пищу сырой или неправильно приготовленной или консервированной морской рыбы. Выжившие черви проникают через стенки кишечника и попадают в брюшную полость. Симптомы часто неспецифичны, но чаще всего, боли в животе, тошнота и рвота. Боли в животе могут сохраняться в течение нескольких недель. *Anisakiasis* (анизакидоз) распространен в Европе (Нидерланды), Японии и США (а в последнее время, из-за моды на японскую кухню, суши-бары и рестораны всё больше случаев поражения анизакидами людей встречается и в России). Люди заражаются, поедая рыбу, содержащую жизнеспособных личинок третьей стадии. Тем не менее, люди являются случайными хозяевами, так как передача паразитов человеку не может привести к полному жизненному циклу развития паразита.

Видами вызывающими анизакидоз у людей, являются *Anisakis simplex* и *Pseudoterranova decipiens*. Инвазионную личиночную стадию паразита можно найти во внутренних органах и в мускулатуре разнообразных рыб.

Начиная с 1993 г., эта инвазия привлекла к себе законное внимание в связи с завозом больших партий соленой норвежской и голландской сельди, в органах и тканях которой были обнаружены личинки, идентифицированные как личинки нематод семейства *Anisakidae*.

Не так давно считали, что личинки анизакид безвредны, т. к. не развиваются у человека до половозрелой формы. Однако последующие наблюдения показали, что, попадая в пищеварительный тракт человека, живые личинки анизакид могут быть причиной серьезной болезни, иногда с тяжелым исходом.

Впервые у человека анизакидоз (болезнь сельдяных червей, болезнь тресковых червей) зарегистрирован в Голландии в 1955 году после употребления в пищу слабосоленой сельди. А затем сообщения о заражении людей этими гельминтами стали появляться чаще, и к настоящему времени зарегистрированы тысячи случаев анизакидоза в странах Европы, Северной и Южной Америки, Юго-Восточной Азии.

В последние два десятилетия анизакидоз стал одной из важнейших проблем в медицинской паразитологии многих стран мира, особенно тех, где традиционно в пищу используется сырая или слабосоленая рыба и морепродукты. Много случаев этого заболевания зарегистрировано в Японии, США, Канаде, а также в ряде европейских стран. В 1987 г. в Германии произошел серьезный прецедент, связанный с обнаружением в готовой продукции из атлантической сельди (рольмопсе) живых личинок анизакид. В России анизакидоз человека отмечен на Дальнем Востоке, а также в Мурманске.

Поскольку личинки анизакид эволюционно не связаны с человеком как хозяином и совершенно чужды для человеческого организма, то, попав в агрессивную для них среду желудочно-кишечного тракта человека, активно ищут выход, глубоко внедряясь в стенки желудочно-кишечного тракта, травмируя их. Возникает неспецифическая реакция аллергического типа. Наиболее часто личинки поражают желудок и кишечник. В последние годы врачи различных стран констатируют увеличение числа случаев заболевания людей анизакидозом.

С каждым годом в мире увеличивается объем морепродуктов в пищевом рационе человека. В результате морская рыба, креветки, кальмары, полуготовые рыбные продукты, завозимые из разных стран, уверенно заполняют рыбные отделы магазинов, рыбных площадок рынков.

По данным литературы, практически вся морская рыба может быть заражена различными видами гельминтов, до 30 видов которых представляют потенциальную опасность для человека или вызывают нежелательные изменения в рыбе как технологическом сырье. Наиболее часто в морской рыбе встречаются личинки нематод семейства анизакид следующих родов: анизакис (*Anisakis*), терранова (*Terranova*), контрацекум (*Contracaecum*) и личинки (плероцеркоиды) цестод семейства *Diphyllbothriidae* вида *D. klebanovskii*.

Во многих городах России любители экзотических блюд японской и китайской кухни употребляют сырую, полусырую рыбу, сдобренную острыми приправами. К сожалению, не всегда есть гарантия, что эта рыба не содержит живых личинок анизакид и не приведет к заражению человека.

В результате исследования 1995 года, у разных видов рыб установлена такая инвазированность анизакидами: 41% атлантической сельди, 25% трески, 41% путасу, 20,5% салаки, 34% минтая, 35,6% мерлузы, 28,1% скумбрии, 21,4% терпуга, 46,4% нототении, 15,6% шпрот, 28% сайды, 31,4% барабульки, 27,2% лиманды. Тихоокеанская скумбрия у побережья Японии заражена на 100%, серебристый хек на 53%.

Высокая зараженность личинками анизакид промысловой рыбы и морепродуктов определяет важное клиническое и эпидемиологическое значение анизакидоза, а необходимость выбраковки достаточно больших объемов рыбной продукции определяет экономическое значение инвазии.

Анизакидоз - важная медицинская проблема. Несколько сот случаев анизакидоза человека зарегистрировано в Японии, тысячи случаев - в других азиатских странах, где употребляют сырую рыбу: Китае, Корее, Тайване, Филиппинах и др. Большое число больных выявлялось в Голландии. С 50-х лет прошлого века спорадические вспышки регистрировали в Англии, Бельгии, скандинавских странах, Франции и других странах Западной Европы. Сообщают об увеличении заболеваемости анизакидозом в США и на тихоокеанском побережье Латинской Америки.

Единичные случаи анизакидоза обнаружены в России (на Камчатке, в Москве). Последний случай произошел вследствие употребления мяса кеты собственного

посола, привезенной авиарейсом из Петропавловска-Камчатского. В рыбе были обнаружены живые личинки *Anisakis simplex*.

Отсутствие случаев анизакидоза человека в Украине, возможно, является результатом плохой диагностики. В связи со сходством симптоматики анизакидоза с заболеваниями органов пищеварения инвазия может проходить под диагнозами аппендицита, язвенной болезни, гастрита, перитонита, холецистита, непроходимости кишечника, рака поджелудочной железы и др.

Сведения о пищевой ценности морских и ценных пород культивируемых рыб представлены в работах И. Я. Клейменова; Т.Н. Слуцкой; В.Н. Голубева с соавт; А.Ф. Шалак с соавт; В.В. Батищева и др. Однако в литературе мало освещены вопросы, касающиеся изучения пищевой, биологической ценности и безопасности инвазированной рыбы. При этом санитарная оценка рыбы, инвазированной гельминтами, неопасными для человека, допускает реализацию ее в торговой сети без ограничения. Следует учитывать, что практически вся рыба может быть поражена различными видами паразитов, поэтому изучение ветеринарно-санитарной характеристики и относительной биологической ценности инвазированной рыбы является весьма актуальным.

Цель работы - установить видовую принадлежность и жизнеспособность личинок анизакид, обнаруженных в мясе морской рыбы.

Материалы и методы. Материал собственных исследований был получен нами, в результате проведения ветеринарно-санитарной экспертизы 4 пробы из промышленной партии торговой продукции. Образцы поступали к нам из торговой сети магазинов «Ашан». Для экспертизы взяты четыре вида рыбы, поступающих в качестве продовольственного сырья на потребительский рынок страны (сельдь, морская камбала, палтус и сайра).

Лабораторные исследования рыбы и рыбной продукции на соответствие требованиям безопасности для здоровья человека по показателям паразитарной чистоты основаны на паразитологическом инспектировании. Применение всего комплекса методов полного паразитологического исследования для текущей экспертизы рыб невозможно из-за его сложности и трудоемкости.

Паразитологическая экспертиза морских рыб предполагает выявление в направляемых для пищевого использования частях тела рыбы (обычно в мясе) паразитов, опасных для здоровья человека, изменяющих физико-химические свойства рыбы или портящих вид товарного сырья и продукции. В некоторых случаях учитывают паразитов печени, гонад (икра, молока), а также паразитов полости тела, если пищевая продукция производится из неразделанной, как правило, мелкой рыбы (мойва, салака, килька).

Требования к методам отбора проб для лабораторных исследований, нормативы оценки пищевой пригодности рыбной продукции и условия её реализации в качестве пищевого продукта при наличии в рыбе паразитов, принадлежащих к той или иной группе, определены СанПиН 3.2.569-96. Практические рекомендации по оценке заражения морских промысловых рыб паразитами приводятся в «Методике паразитологического инспектирования морской рыбы и рыбной продукции (морская рыбы-сырец, рыба охлажденная и мороженая)» (1989) и более подробно в «Методах санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных, пресмыкающихся и продуктов их переработки» (МУК 3.2.988-00).

Рекомендуемая техника просмотра мускулатуры заключается в послойном разрезании мышц рыб на ломтики толщиной не более 5 мм. Локализующиеся в мускулатуре личинки гельминтов хорошо обнаруживаются на таких срезах в падающем свете. Более толстые ломтики мускулатуры целесообразно просматривать в проходящем свете, для чего каждый отдельный ломтик располагают на прозрачном или молочно-матовом стекле, а снизу помещают источник света (лампу накаливания или люминесцентную лампу). Эти два метода отличаются простотой и, при достижении определенного навыка, позволяют обнаружить как живых, так и мертвых паразитов в мускулатуре рыб.

R.O. Sinnhuber и D.R. Law, а также J.H.C. Pippy для обнаружения личинок нематод в мышцах рыб использовали флуоресценцию организмов при облучении их ультрафиолетовым светом. Исследователи отмечают, что особенно интенсивно флуоресцируют мертвые гельминты после заморозки мяса. При этом характеристики свечения нематод разных видов отличаются: личинки *Anisakis simplex* имеют яркую голубовато-белую флуоресценцию, личинки и взрослые особи *Hysterothylacium aduncum* – от белой до ярко-желтой.

Для выявления живых личинок гельминтов в лабораторных условиях широко применяется метод переваривания зараженного мяса морских рыб в искусственном желудочном соке. Исследуемые части рыбы помещаются в раствор пепсина (10 г порошка пепсина, растворенного в 1л 1%-ого соляной кислоты) и выдерживаются в течении 40 минут при температуре +52°C. По истечении указанного времени раствор с переваренной массой процеживают через тонкое сито. После отцеживания и промывки присутствующих червей подсчитывают.

Для выявления свободных и инцистированных личинок гельминтов в полости тела рыбы, проводят тщательный осмотр внутренних органов. При исследовании печени, гонад, целесообразно применять компрессорный метод – просмотр кусочков органов между двумя стеклами в проходящем свете.

Определение видовой принадлежности выделенных из рыб личинок нематод мы проводили с применением оптических средств (микроскопа).

Для диагностики анизакидных личинок в качестве основных дифференциальных признаков мы использовали структуру переднего отдела пищеварительного тракта, а именно, наличие или отсутствие желудочного или кишечного выростов, величины отношений длины тела к длине пищевода, длины тела к длине желудочка, а также положение экскреторной поры.

Для проведения дифференциальной диагностики личинок нематод, в случае необходимости, предварительно выдерживали в просветляющей жидкости, в растворе молочной кислоты.

Для проведения измерений личинок, отдельных их частей или органов, мы пользовались окуляром-микрометром. Окуляром с установленной в его фокальной плоскости прозрачной пластинкой с линейкой длиной в 1 см с делениями, соответствующими 0,1 мм. Цена деления шкалы при использовании разных объективов меняется, и поэтому вычислялась для разных увеличений с помощью объект-микрометра – препарата, представляющего собой нанесенную на стекло шкалу с ценой деления 0,01 мм. Если цена деления изображения объект-микрометра (m) по величине соответствует цене деления окулярной шкалы (n), точное значение увеличения объектива (b) будет равно $b = 10 n/m$. При измерении объектов наблюдают, в пределах скольких делений(n) окулярной шкалы располагается изображение измеряемого элемента и размер его (a) подсчитывают по формуле: $a = 0,1 n/m$.

Определение жизнеспособности опасных для здоровья человека личинок гельминтов может быть осуществлено следующими методами:

- Личинок нематод помещают в физиологический раствор. Инцистированных личинок нематод извлекают из цист. При температуре +37 - +40°C живые личинки гельминтов проявляют заметную двигательную активность. Движения червей можно стимулировать уколами иглой. Исследования на подвижность лучше проводить под микроскопом МБС или с использованием лупы, особенно когда личинка малоподвижна или кажется неподвижной. Двигательная активность личинок гельминтов хорошо проявляется в искусственном желудочном соке при температуре +37 - +40°C.

- Личинок нематод помещают на мокрую фильтровальную бумагу и воздействуют постоянным электрическим током (батарея с напряжением 1,5В). Проявление сократительных движений контролируют под микроскопом МБС или лупой.

- Личинок нематод помещают в 1-2% раствор красителя метиленового синего. Мертвые личинки окрашиваются в синий цвет.

Результаты и обсуждение собственных исследований. Мы вскрывали рыбу в большой эмалированной кювете. Начинали исследование с проведения наружного осмотра и взвешивания рыбы. Затем вырезали левую стенку брюшной полости, предварительно, сделав короткий надрез медицинскими ножницами от анального отверстия рыбы, и разрезали рыбу вдоль срединной линии брюшка до угла нижней челюсти. Следующий разрез делали выше, дугообразный, вдоль боковой линии. Таким образом, отделяли стенку брюшной полости. Рыбу перевернули на правый бок. Провели осмотр полости тела и внутренних органов с целью обнаружения личинок нематод.

Мы провели наложение лигатур на кишечник близ анального отверстия и на пищевод для того, чтобы содержимое пищеварительного тракта не вышло наружу. Далее мы извлекли внутренние органы, вырезали гонады (икра или молоки), которые поместили в отдельные чашки Петри. Осмотрели плавательный пузырь. Вырезали и осмотрели сердце, а также сердечную полость. Полость тела протерли марлевой салфеткой и соскоблили брюшину.

Мы от препарировали комплекс органов пищеварительной системы для внешнего осмотра. Жировую ткань разрезали на тонкие пластинки толщиной около 5 мм и исследовали на наличие личинок нематод.

Исследуя освобожденный от жировой ткани пищеварительный тракт, отыскивали личинок в капсулах на его поверхности или просвечивающих через серозные оболочки покровы.

При наружном осмотре печени на её поверхности невооруженным глазом можно было заметить личинок анизакид. Печень осматривали и снаружи и разрезали на пластинки толщиной около 5 мм.

У гонад мы разрезали оболочку, содержимое соскабливали и исследовали компрессорным методом. Этим методом удобно просматривать только мелкую икру. При исследовании крупных икринок необходимо разбирать их препаровальными иглами в чашке Петри с небольшим добавлением воды.

После осмотра внутренних органов, мы снимали с рыбы кожу в направлении от головы к хвосту, подрезая её ножницами и оттягивая хирургическим пинцетом. Далее осматривали внутреннюю сторону кожи, а часть мышц, отделившихся с кожей, разрезали на пластинки. Мы проводили исследование мускулатуры методом параллельных разрезов, но в отдельных случаях применяли метод исследования мышечной ткани на просвет.

Мы применяли данный метод для обнаружения личинок нематод, видимых невооруженным глазом, в мышечной ткани крупных рыб.

Мы разрезали мышечную ткань скальпелем на пластинки толщиной 5 мм, которые затем раздвигали и просматривали в падающем свете невооруженным глазом. Разрезы делали поперёк мышечных волокон. Делая разрезы мускулатуры и, встречая крупных личинок или капсулы с ними, извлекали несколько экземпляров для определения вида. Выделенных личинок помещали в чашку Петри. Данный метод прост, но несмотря на это позволяет обнаружить личинки анизакидных нематод в мышцах рыбы, что мы не можем определить органолептическим или физико-химическими исследованиями.

Этот метод мы использовали для выявления личинок нематод в мышечной ткани мелких рыб. Для этого обесшкуренную тушку рыбы мы разрезали вдоль позвоночника на две части, которые помещали для просмотра на столик с прозрачной крышкой из матового стекла и подсветкой снизу. Яркость подсветки и толщина ломтиков, в зависимости от степени просвечиваемости мяса конкретного вида рыбы, устанавливали опытным путем.

Обнаруженных личинок гельминтов мы выделяли из мышечных тканей и органов рыбы с помощью препаровальных игл и помещали в чашку Петри с физиологическим раствором для дальнейшего определения видовой принадлежности.

Жизнеспособность обнаруженных личинок нематод мы определяли по морфологическим признакам и двигательной активности.

Мы помещали личинок в чашку Петри с подогретым физиологическим раствором (37-40°C) и рассматривали под стереомикроскопом МБС – 10 при увеличении, соответствующем размеру личинки или её рассматриваемой части. Инцистированных личинок извлекали из оболочек. Живые личинки могут не проявлять признаков активности, поэтому их движения мы стимулировали с помощью физического раздражения – уколов острой препарировальной иглой.

У живой личинки уколы иглой вызывали сокращение тела. Затем личинок анизакид (в физиологическом растворе) помещали на 2-3 часа в термостат с температурой +37°C. При этом у живых личинок нематод появляется заметная двигательная активность. Отсутствие двигательной активности, изменение цвета, отслоение покровов и другие деструктивные изменения тела указывают на нежизнеспособность личинок анизакид.

В некоторых случаях, мы применяли метод окрашивания личинок нематод метиленовым синим (1-2% раствор). Мертвые личинки окрашиваются в синий цвет.

Заключение. При проведении анализа литературных источников, мы пришли к выводу о том, что анизакидоз рыб имеет широкое распространение в водах Баренцева, Балтийского, Норвежского морей, где установлена зараженность личинками *Anisakis simplex* практически всех видов промысловых рыб.

К числу наиболее зараженных относятся рыбы следующих видов, экстенсивность инвазии которых составила: треска-100 %, салака- 80 %, палтус- 82,7 %, скумбрия- 63,0 %, камбала-ерш-46,2 %, путассу - 40,0 %, сайда- 40,0 %. Наибольший процент инвазии выявлен в мышечной ткани у трески (75,0 %), минтая (44,4 %), сайки (42,8 %), окуня морского (42,8 %), камбалы-ерш (41,7 %), а также на поверхности внутренних органов у сайды и салаки (в 100 % случаев).

Все обнаруженные личинки анизакид были нежизнеспособны. Из этого можно сделать вывод, что замораживание – надежный способ предупреждения анизакидоза. А при ветеринарно-санитарной оценки мороженой рыбы обязательно необходимо проводить гельминтологическое исследование.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных / Жаров А.В., Стрельников А.П., Иванов И.В. // Учебник / Москва, 2000. Сер. Учебники и учебные пособия для высших учебных заведений.
2. Инфекционные болезни собак и кошек / Масимов Н.А., Лебедев С.И. // учебное пособие для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности 111201 - "Ветеринария" / Н. А. Масимов, С. И. Лебедев. Санкт-Петербург [и др.], 2009. Сер. Ветеринарная медицина
3. Влияние биоцида велтолен на качество кожевенного и пушно-мехового сырья / Грязнева Т.Н., Иванова Е.Б., Васенко С.В. // Зоотехния. 2008. № 10. С. 30-31.
4. Классификация болезней в области пальцев у крупного рогатого скота / Гимранов В.В., Тимофеев С.В. // Ветеринария. 2006. № 2. С. 48-49.
5. Зоогигиена / Кочиш И.И., Волчкова Л.А., Нестеров В.В. // Санкт-Петербург, 2008.
6. Кролиководство / Балакирев Н.А., Тинаева Е.А., Тинаев Н.И., Шумилина Н.Н. // Москва, 2006.
7. Пуллорный эритроцитарный антиген-диагностикум для пуллороза-тифа птиц / Шорохов В.В., Лёнев С.В., Капустин А.В. // В книге: Разработка и освоение производства нового поколения лекарственных средств для животных и их применения в ветеринарной практике. Всероссийская научно-практическая конференция: тезисы докладов. 2000. С. 18-19.
8. Видовой состав клостридий крупного рогатого скота / Капустин А.В., Моторыгин А.В., Букова Н.К. // Вестник ветеринарии. 2013. № 1 (64). С. 71-73.