

ИНДИКАЦИЯ *TOXOPLASMA GONDII* В ПОПУЛЯЦИИ ЕВРОПЕЙСКОЙ НОРКИ (*MUSTELA LUTREOLA*)

Шамаев Н.Д.¹, Федотова А.Ю.¹, Александрова Н.М.¹, Шуралев Э.А.^{1,2}, Takashima Y.³

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, Россия; nikolai.shamaev94@mail.ru, 8(843)2337357

²КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 36, Россия

³Gifu University, 501-1193, Gifu, Yanagito 1-1, Япония

Экологические и эпидемиологические исследования распространения паразита *Toxoplasma gondii* являются крайне актуальными в связи с ростом во многих регионах и странах удельного веса такой патологии, как токсоплазмоз, возбудителем которого является данная протиста. Согласно международной классификации паразит относится к роду *Toxoplasma*, семейства Sarcocystidae, отряда Eucoccidiorida, подкласса Coccidia, класса Conoidasida, типа Apicomplexa (Taxonomy Database, NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>).

Несмотря на то, что основными хозяевами токсоплазмы являются представители семейства кошачьих (Felidae), в качестве промежуточных хозяев задействовано более 350 видов позвоночных животных, в том числе и человек. Ранее проведенными исследованиями была выявлена превалентность *T.gondii* в популяциях человека, кошек и коз в различных регионах Российской Федерации (Shuralev et al., 2018). Особый интерес в экологии и эпидемиологии *T.gondii* вызывает содержащаяся в неволе европейская норка *Mustela lutreola*, у которых доступа к основным объектам окружающей среды, через которое происходит заражение, у них нет.

Цель: определить превалентность протисты *T.gondii* в популяции норок *M.lutreola*, содержащихся в звероводческих хозяйствах Республики Татарстан.

Материалы и методы. Исследования проводились в 2016-2017 гг. Для серологических исследований у норок брали кровь, с последующим отделением сыворотки крови. Для выявления наличия тахизоитов *T.gondii* у животных после убоя (по технологическому процессу ведения пушного звероводства) исследованию подвергали образцы проб мозга. Выявление антител в сыворотке крови проводили методом латекс-агглютинации с использованием диагностического набора Тохотест-МТ (Eiken, Япония) согласно инструкции производителя. Для экстракции ДНК предварительно замороженные при -86°C пробы головного мозга растирали в фарфоровой ступке с физиологическим раствором (0,9% NaCl) до получения однородной гомогенной суспензии. Выделение ДНК осуществляли используя набор ПРОБА-ГС в комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС (ДНК-Технология, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Измерение концентрации выделенной ДНК проводили на приборе UV5Nano (Mettler Toledo), с использованием программы-BFW/ДНК/РНК: dsDNA согласно инструкции производителя. Геноиндикацию *T.gondii* осуществляли постановкой вложенной ПЦР (nested PCR) по описанной ранее методике (Zöller

et al., 2013). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы VassarStats (<http://vassarstats.net/>), где рассчитывали показатель превалентности с 95%-ным доверительным интервалом (95% CI).

Результаты и их обсуждение. В ходе серологических исследований 219 норок методом латекс-агглютинации антитела к *T.gondii* были выявлены у 23 особей в титрах от 1:32 до 1:1024 (рис. 1).

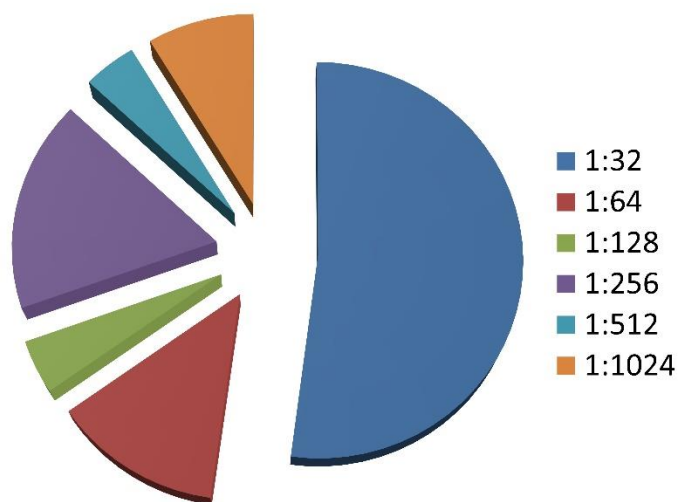


Рис. 1. Распределение норок с положительным результатом реакции латекс-агглютинации по титрам специфических антител к *T.gondii*

Разные значения уровня антител вероятнее всего указывают на различный уровень инфицированности животных токсоплазмой. Так, у трех особей титры антител выявлялись на высоком уровне (1:512 – 1:1024), у пяти – на среднем (1:128 – 1:256), а у 15 – на низком (1:32 – 1:64). Выявление антител в сыворотке крови позволяет оценить уровень превалентности токсоплазмы в отдельной популяции (Gu et al., 2015). Серопревалентность *T.gondii* в исследуемой популяции норок составила 10,50% (в диапазоне 6,91-15,53% для 95% CI).

На следующем этапе проводили выделение ДНК из образцов проб мозга норок изучаемой популяции (n=50). Диапазон концентрации выделенной ДНК в образцах находился в пределах 23,0-331,0 мкг/мл, а среднее значение составило 128,9±79,6 мкг/мл. При постановке вложенной ПЦР во втором этапе на электрофореграмме (1,5% агарозный гель) визуализировался специфичный фрагмент (на уровне 370 п.о.), указывающий на присутствие в образце ДНК *T.gondii* (рис. 2).

На рисунке представлены результаты ПЦР для 10 образцов, где искомая ДНК токсоплазмы проявилась в двух пробах: № 1 и № 4, причем в последнем случае ее концентрация была очень высокой. ПЦР анализом изучаемой популяции норок ДНК *T.gondii* обнаружена в семи из пятидесяти проб. ПЦР анализ является не менее информативным методом для определения превалентности паразита при популяционных исследованиях, чем выявление антител (Zheng et al., 2016). Геноиндикацией установлено, что превалентность *T.gondii* находится на уровне 14,00% (в диапазоне 6,28-27,36% для 95% CI).

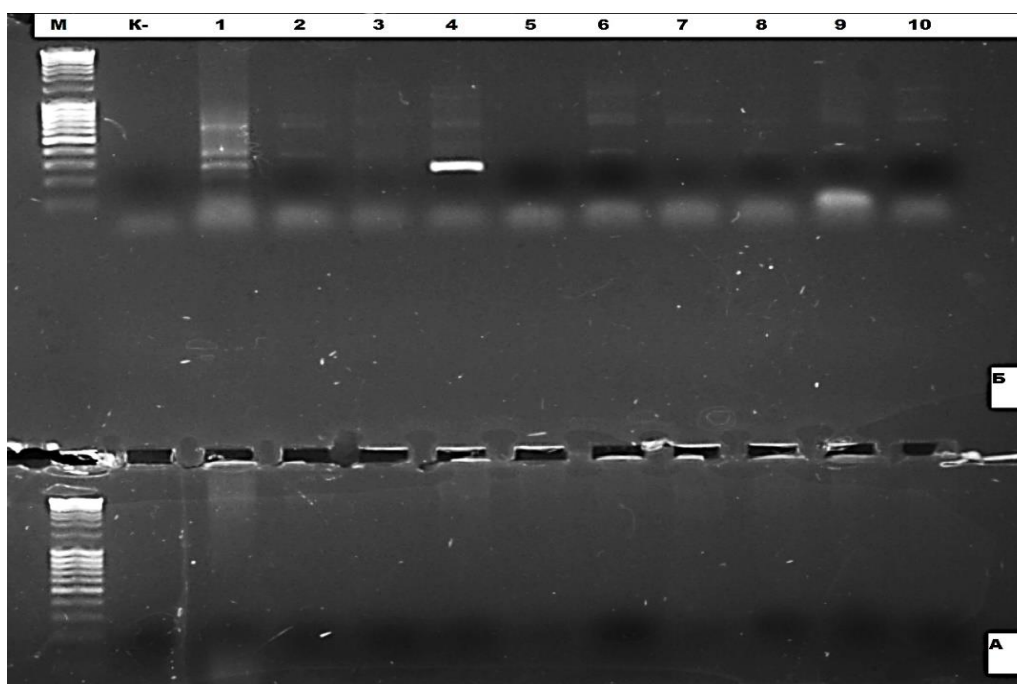


Рис. 2. Визуализация электрофоретической вложенной ПЦР для выявления ДНК *T.gondii*: А – первый этап, Б – второй этап, М – маркер молекулярной массы ДНК, К- – отрицательный контроль, 1-10 – пробы ДНК, выделенных из образцов проб мозга норок

Заклучение. Серологическими исследованиями и геноиндикацией доказана циркуляция протисты *T.gondii* в популяции норок *M.lutreola*, содержащихся в звероводческих хозяйствах Республики Татарстан, с уровнем превалентности 10,5-14,0%.

Литература

1. Gu Y., Wang Z., Cai Y. et al. A comparative study of *Toxoplasma gondii* seroprevalence in mink using a modified agglutination test, a Western blot, and enzyme-linked immunosorbent assays // J Vet Diagn Invest. 2015. 27(5): 616-620.
2. Shuralev E.A., Shamaev N.D., Mukminov M.N. et al. *Toxoplasma gondii* seroprevalence in goats, cats and humans in Russia // Parasitology International. 2018. 67(2): 112-114.
3. Zheng W.B., Zhang X.X., Ma J.G. et al. Molecular detection and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in farmed minks (*Neovison vison*) in Northern China by PCR-RFLP // PLoS One. 2016. 11(11): e0165308.
4. Zöller B., Koethe M., Ludewig M. et al. Tissue tropism of *Toxoplasma gondii* in turkeys (*Meleagris gallopavo*) after parenteral infection // Parasitol Res. 2013. 112(5): 1841-1847.

Shamaev N.D., Fedotova A.Y., Aleksandrova N.M., Shuralev E.A., Takashima Y. «Indication of *Toxoplasma gondii* in European mink (*Mustela lutreola*)». Kazan Federal University, 420008, Kazan, Russia; KSMA - Branch Campus of the FSBEI FPE RMACPE MOH Russia, 420012, Kazan, Russia; Gifu University, 501-1193, Gifu, Japan

Summary. To determine the prevalence of *T.gondii* in the mink population contained in the fur farms of the Republic of Tatarstan, blood serum and brain samples were examined by latex agglutination test and PCR. Using serological and genomic indication techniques the circulation of *T.gondii* protists in the Republic of Tatarstan population of farmed mink *M.lutreola* with 10.5-14.0% prevalence was determined.