

УДК 619:616.995.1(636.7)

Мясцова Т.Я., кандидат ветеринарных наук, доцент¹Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор¹Голынец В.Г., кандидат ветеринарных наук, доцент, главный ветеринарный врач²¹ РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск² Государственный пограничный комитет Республики Беларусь, г. Минск

ДИРОФИЛЯРИОЗ СОБАК В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ СООБЩЕНИЕ 2

Резюме

Усовершенствован прямой метод лавоскопии микрофилярий дирофилярий крови, гемолизированной теплой водой. При данном методе исследования крови на наличие микрофилярий не требуется специального оборудования и реактивов, а время исследования одной пробы сокращается в 3–4 раза. Следовательно, такой метод можно отнести к экспресс-методам. Одновременно можно определить и интенсивность инвазии микрофиляриями.

Ветеринарный препарат «Полипарацид» рекомендован для лечения и профилактики дирофиляриоза. В связи с отсутствием микрофилярий в крови собак по истечении 3 месяцев после лечения можно предположить, что препарат обладает не только микрофилярицидным действием, но и оказывает губительное влияние на имагинальные формы дирофилярий.

Summary

The direct method of lavascope microfilariæ of dirofilaria emulsionnoy blood warm water has been improved. In this method of blood examination on microfilariæ does not require special equipment and reagents, and the time of the study one sample is reduced to 3–4 times. Therefore, this method can be attributed to the Express method. At the same time one can determine the intensity of infestation by microdistilleries.

Veterinary drug «Polyparacid» recommended for treatment and prevention. In connection with absence of microfilariæ in the blood of dogs after 3 months after treatment, we can assume that polymerized has not only microfilariocidal action, but has a detrimental effect on the imaginal form of dirofilaria.

Поступила в редакцию 23.09.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

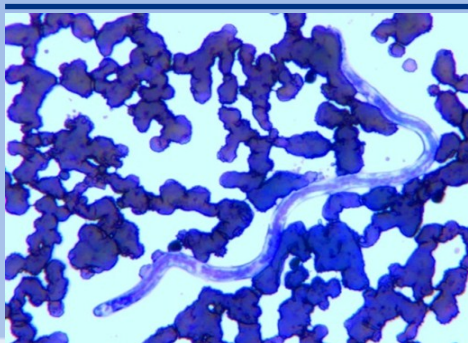
Дирофиляриоз является зоонозом. Заражение человека происходит трансмиссивным путем через укусы кровососущих комаров рода *Aedes*, *Culex* и *Anopheles*. Источником инвазии для заражения комаров являются инвазированные домашние собаки, а также кошки, реже – дикие плотоядные (волки, лисы и другие животные). В условиях городской квартиры передача инвазии при наличии больной собаки или кошки может осуществляться круглогодично «подвальные» комарами рода *Culex* (*C.p. molestus*). В весенне-летний период значительно увеличивается риск заражения людей дирофиляриями.

Диагностика дирофиляриоза. Для подтверждения диагноза на дирофиляриоз

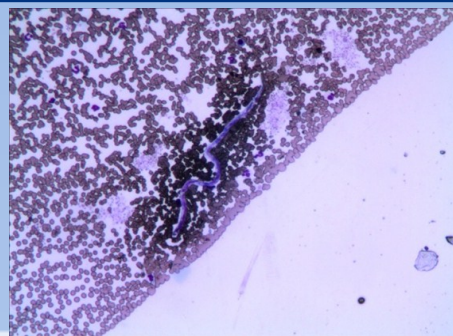
проводится прижизненная диагностика, основанная на выявлении микрофилярий дирофилярий в периферической крови собак, кошек и др. животных.

В настоящее время в ветеринарных клиниках дирофиляриоз диагностируют случайно. При выведении лейкоцитарной формулы в мазке крови обнаруживают личинок дирофилярий, применяя метод тонкого фиксированного мазка крови, окрашенного по Романовскому-Гимза. Этот метод информативен тогда, когда наблюдается высокая интенсивность инвазии. При низкой интенсивности инвазии вероятность обнаружения личинок очень мала.

Учет результатов: видны неподвижные окрашенные микрофилярии (рисунк 1).



Увеличение 10×90

Рисунок 1. —
Микрофилярии
в мазке крови

Увеличение 10×20

Для выявления микрофилярий дирофилярий в крови широко используют модифицированный метод Кнотта [7].

Нами усовершенствован прямой метод ларвоскопии микрофилярий крови, гемолизированной теплой водой.

На протяжении всего года в течение дня у собак берут кровь из вены (0,5–1 мл) и стабилизируют 5%-ным водным раствором цитрата натрия. На стеклянной пластинке размером 9×12 см или другого размера стеклоглафом (восковым карандашом) ограничивают поле размером приблизительно 9×7 см для того, чтобы не растекалась исследуемая жидкость.

В центр поля помещают 1000 мкл теплой водопроводной воды (без хлорки) и добавляют стабилизированную кровь в количестве 200 мкл (максимально комфортные условия микрофотоирования), перемешивают, жидкость распределяют тонким

слоем по всему ограниченному полю. После гемолиза эритроцитов (через 10–20 с) проводят микрофотоирование всего поля, методично, от края до края, смещая на поле зрения микроскопа, т.е. змейкой, при увеличении микроскопа 10×10.

Поле зрения микроскопа наводят по лейкоцитам крови (светящиеся сферы) и оболочкам эритроцитов. При отрицательном результате исследуют до 1000 мкл крови. Покровные стекла не требуются.

Обязательное условие микрофотоирования – диафрагма конденсора должна быть полностью закрыта, поверхность предметного столика микроскопа установлена максимально горизонтально. Освещение поля зрения микроскопа не должно быть ярким.

Учет результатов: микрофилярии видны в нативном виде – живые со змееобразными движениями (рисунки 2, 3).

Рисунок 2. – Микрофилярии
дирофилярий в гемолизированной
крови. Округлые сферы – лейкоциты
(увеличение 10×10)Рисунок 3. –
Микрофилярии в
гемолизированной
крови собак
(увеличение 10×20)

Одновременно можно проводить количественный подсчет микрофилярий, т.к. взят определенный объем крови [1]. При высокой интенсивности инвазии подсчет

количества микрофилярий можно провести в 50–100 мкл крови и пересчитать их содержание в 1 мл крови по формуле

$$\text{Кол-во личинок в 1 мл крови} = \frac{\text{кол-во подсчитанных личинок} \times 1000 \text{ мкл}}{\text{объем взятой для исследования крови, мкл}}$$

Этот метод позволяет находить даже 1 личинку в 1 мл крови.

Модифицированный метод Кнотта [7]. Эффективность выявления микрофилярий дирофилярий составляет 85–95 %. Метод заключается в том, что к 1 мл венозной крови добавляют 10 мл 2%-ного раствора формалина. Смесь хорошо перемешивают и центрифугируют при 1500 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость удаляют, а осадок смешивают с равным объемом метиленового синего в разведении 1:1000 и оставляют для окрашивания на 5 мин. Окрашенный осадок микроскопируют при увеличении 10×10 или 10×20.

Учет результатов: видны неподвижные микрофилярии (рисунок 4).



Рисунок 4. – Микрофилярии, окрашенные по методу Кнотта

Метод центрифугирования крови с дистиллированной водой (Ястреб В.Б., 2005) [6]. 1 мл стабилизированной крови тщательно перемешивают с 9 мл дистиллированной воды, отстаивают 5 минут и центрифугируют при 2000 об/мин в течение 5 минут. Надосадочную жидкость удаляют, оставляя 1 мл жидкости с осадком. Осадок ресуспендируют и порционно переносят на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и микроскопируют при увеличении 10×10.

Учет результатов: видны живые подвижные личинки.

В сравнительном аспекте выявления микрофилярий в крови нами были испытаны следующие методы: модифицированный метод Кнотта с формалином, метод Ястреба с дистиллированной водой, тонкого мазка крови с окраской по Романовскому-Гимза и наш прямой метод ларвоскопии микрофилярий крови, гемолизированной теплой водой (таблица).

Таким образом, при нашем методе исследования крови на микрофиляриемии не требуется специального оборудования и реактивов, а время исследования одной пробы сокращается в 3–4 раза. Следовательно, такой метод можно назвать экспресс-методом. Одновременно можно определить и интенсивность инвазии микрофиляриями.

Однако отсутствие микрофилярий в крови не может быть показателем отсутствия инвазии. Приблизительно в 25–30 % случаев дирофиляриоза наблюдается амикрофиляриемическая форма инвазии, т.е. без циркулирующих в крови микрофилярий. «Латентная» инвазия может быть связана с препатентной стадией паразита, гельминтами одного пола, крайне низкой микрофиляриемией, проводимой микрофилярицидной терапией и др. причинами. Для выявления такой формы дирофиляриоза применяют непрямую иммунофлюоресценцию ИФА и ПЦР. Следует учитывать, что после успешной терапии дирофиляриоза животные дают положительный результат в ИФА в течение 1 года.

Н.В. Серебрякова установила, что при бессимптомном, легком течении дирофиляриоза более чем у половины собак на электрокардиограмме встречается пред-

сердная диссоциация, экстрасистолия и частичная блокада ножек пучка Гиса, преимущественно правосторонняя, что неха-

рактерно для патологии сердца другой этиологии и может носить диагностический характер [5].

Таблица. – Сравнительные данные по эффективности методов по выявлению микрофилярий в крови с максимальным и минимальным содержанием личинок, max/min

Метод	Исходное количество, лич./мл крови, max/min	Обнаружено личинок, max/min.	Необходимое оборудование и реактивы	Время на проведение одного анализа, мин
Модифицированный метод Кнотта с формалином	8790/75	7581/62, личинки мертвые	центрифуга, вытяжной шкаф, микроскоп, пробирки, предметные и покровные стекла, формалин, краска Романовского-Гимза, дозаторы	40–45
Метод Ястреба В.Б. с дистиллированной водой	8790/75	7682/63, личинки живые	центрифуга, микроскоп, пробирки, предметные и покровные стекла, дозаторы, дистиллированная вода	40–45
Тонкий мазок крови	8790/75	2/0, личинки мертвые	микроскоп, предметные стекла фиксатор, краска Романовского-Гимза	до 40
Прямой метод ларвоскопии микрофилярий крови, гемолизированной теплой водой	8790/75	8695/74, личинки живые	микроскоп, стекла размером 9×12 см или другого размера, теплая обычная вода, дозаторы	6–10 мин в зависимости от навыков

При ультразвуковом исследовании взрослых гельминтов можно обнаружить в полости сердца.

Однако ни один из этих методов не может исключать дирофиляриоз окончательно из-за распространенности амикрофиляриемической формы болезни и при небольшом количестве циркулирующих в крови личинок.

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

Терапия дирофиляриоза у собак. По данным литературных источников, лечение у собак дирофиляриоза, вызванного *Dirofilaria immitis*, является трудным и долгим. Оно сопряжено с развитием эмболии сосудов фрагментами распадающихся гельминтов, особенно при высокой интенсивности инвазии, запуском иммунобиологических реакций с формированием комплексов «антиген-антитело», обладающих выраженны-

ми гистотоксическими свойствами, возникновением септических состояний и, как следствие, полиорганной недостаточности и гибелью животного [2].

При макрофилярицидной терапии всегда следует учитывать опасность для жизни животного в начале лечения, т.е. смерть животного при лечении может наступить быстрее, чем без лечения, так как применение специфических препаратов провоцирует активное поступление взрослых дирофилярий и их фрагментов в сосудистое русло и, как следствие, эмболию сосудов.

Для лечения микрофиляриемии у собак мы применили ветеринарный препарат «Полипарацид», разработанный в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» и одобренный Ветбиофармсоветом МСХП РБ, протокол № 70 от 24 декабря 2013 г. В 1 г препарата содержится 80 мг фенбендазола,

25 мг левамизола гидрохлорида, 2 мг ивермектина, 10 мг токоферола ацетата и лактоза до 1,0 г.

Среднесмертельная доза LD₅₀ полипарацита для белых мышей при однократном внутрижелудочном введении составляет 11285,8 мг/кг.

Препарат малотоксичный для теплокровных животных, в дозе, превышающей терапевтическую в три раза, не оказывает эмбриотоксического, тератогенного, сенсibiliзирующего и мутагенного действия.

Служебным собакам, инвазированным дирофиляриями с интенсивностью 3067±1133 лич./мл крови, применили полипарацит в дозе 75 и 50 мг/кг массы тела 1 раз в день в течение 3 дней. Препарат задавали с кормом. Через 14 дней курс лечения повторили в той же дозе и кратности.

Собаки во время лечения и в течение месяца после его окончания были освобождены от физических нагрузок. Осложнений и отклонений в клиническом состоянии собак после курса лечения отмечено не было.

Контроль эффективности лечения показал, что через 3 месяца после лечения в крови собак микрофилярии дирофилярий не обнаружены, т.е. эффективность составила 100 %.

Таким образом, в связи с отсутствием микрофилярий в крови собак по истечении 3 месяцев после лечения, можно предположить, что полипарацит обладает не только микрофилярицидным действием, но и оказывает губительное влияние на имагинальные формы дирофилярий.

Профилактика заболевания заключается в борьбе с нападением комаров на собак с применением препаратов с репеллентными и инсектицидными свойствами длительного действия в форме спрея, пудры, эмульсии.

Для профилактики заражения собак дирофиляриями применяют микрофилярицидные препараты, такие как диронет, полипарацит, ивермектин, моксидексин, левамизол гидрохлорид, адвокат и др. согласно инструкции по применению. Их начинают применять за месяц до начала лета комаров, ежемесячно в период лета и месяца после его окончания [3, 4].

Прогноз при заражении собак *Dirofilaria repens* почти всегда благоприятный. При заражении *Dirofilaria immitis* в начальной стадии заболевания и средней степени тяжести прогноз относительно благоприятный (осторожный), а при тяжелой форме – чаще всего неблагоприятный.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипова, Д.Р. Количественный метод диагностики дирофиляриоза собак / Д.Р. Архипова, И.А. Архипов: тр. Всерос. ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина. – М., 2004. – Т. 40. – С. 18–22.
2. Беспалова, Н.С. Сравнительная характеристика микрофилярицидных свойств препаратов на основе моксидектина и эприномектина при дирофиляриозе собак / Н.С. Беспалова, Т.А. Золотых // Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии: материалы V Междунар. съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов. – Витебск, 2015. – С. 86–88.
3. Веденеев, С.А. Новые подходы к проблемам лечения и профилактики дирофиляриоза собак / С.А. Веденеев, В.Н. Ямщиков. – С. 182–186.
4. Диагностика и лечебно-профилактические мероприятия при дирофиляриозах плотоядных животных: метод. рекомендации. – М.: ФГОУ ВПО МГАВМиБ, – 2007. 22 с.
5. Серебрякова, Н.В. Научное обоснование комплекса мероприятий при дирофиляриозе служебных собак: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Н.В. Серебрякова. – Новочеркасск, 2009.
6. Ястреб, В.Б. Сравнительное изучение методов обнаружения микрофилярий в крови собак / В.Б. Ястреб: материалы. докл. науч. конф. – М., 2005. – Вып. 5. – С. 443–445.
7. Knott, J.I. Method for making microfilarial surveys on day blood / J.I. Knott // Trans. R.Soc. Trop.Med.Hyg. – 1939. – V. 33. – P. 191–196.