

УДК 619:616.995.132:1-07

DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-55-59

Диагностика ранней стадии дирофиляриоза у плотоядных

Людмила Михайловна Коколова¹

¹Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М. Г. Сафронова, 677001, г. Якутск, ул. Б. Марлинского, 23/1, e-mail: kokolova_lm@mail.ru

Поступила в редакцию: 10.04.2018; принята в печать: 20.09.2018

Аннотация

Цель исследования: изучить методы диагностики дирофиляриоза в сравнительном аспекте и дать анализ средств терапии и профилактики.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили мазки крови от спонтанно зараженных собак и опытных собак и щенят. Всего было 5 щенят и 12 разновозрастных собак. После гибели от дирофиляриоза у подопытных собак исследованы органы и ткани, вскрыто сердце и обнаружены половозрелые дирофилярии. Пробу для анализа разводили физраствором, осадок исследовали под микроскопом. Толстый мазок крови окрашивали по методу Романовского-Гимза и микроскопировали при увеличении в 140 раз. Для исследования крови и обнаружения микрофилярий в крови использовали методы концентрации: метод Knott с использованием 1 мл свежей крови и 10 мл 2%-ного раствора формалина, метод с использованием 5%-ного раствора уксусной кислоты.

Результаты и обсуждение. Все изученные методы эффективны для обнаружения микрофилярий в исследуемых пробах крови, однако предпочтительными для нас были метод центрифугирования с дистиллированной водой, разработанный В. Б. Ястребом и метод толстой раздавленной капли крови, так как обнаруженные личинки микрофилярий оставались жизнеспособными и были использованы в опытах по изучению жизнеспособности микрофилярий. Из 45 исследованных проб в 10 обнаруживали микрофилярий *D. immitis*. Однако, в большинстве случаев окончательный диагноз на дирофиляриоз ставили уже после гибели хозяина. В эндемичной по дирофиляриозу зоне необходимо проводить сплошную обработку водоемов. Жилые и нежилые помещения обрабатывают инсектицидами. Обследование и дегельминтизацию инвазированных домашних собак проводят в весенне-летний период. Применяют селамектин, моксидексин, ивермектин, дектомакс, новомек, отодектин и др. Для предотвращения контакта комаров с домашними животными и человеком наиболее удобны в применении репелленты длительного действия в форме спрея, пудры, эмульсии, лосьоны.

Ключевые слова: собаки, дирофиляриоз, *Dirofilaria immitis*, комары, *Aedes*, *Culex*, Якутия

Для цитирования: Коколова Л. М. Диагностика ранней стадии дирофиляриоза у плотоядных // Российский паразитологический журнал. 2018. Т. 12. № 3. С. 55–59. DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-55-59

© Коколова Л. М.

Diagnosis of Early Stage of Dirofilariosis in Carnivores

Lyudmila M. Kokolova¹

¹Yakut Research Institute of Agriculture named after M.G. Safronov, 677001, Yakutsk, 23/1 B. Marlonskogo Street, e-mail: kokolova_lm@mail.ru

Received on: 10.04.2018; accepted for printing on: 20.09.2018

Abstract

The purpose of the research is to study methods of dirofilariosis diagnostics in comparative aspect and give analysis of therapy and prophylactics means.

Materials and methods. Blood films of spontaneously infected dogs and experiment dogs and puppies were material for research. There were 5 puppies and 12 dogs of different age. After the death from dirofilariosis in experimental dogs, organs and tissues were examined, heart was opened and sexually mature dirofilarias were found. The sample for analysis was diluted with saline, the precipitate was examined under a microscope. A thick blood smear was stained using the Romanovsky-Giemsa method and was microscopically enlarged 140 times. To study blood and detect microfilaria in the blood, concentration methods were used: the Knott method using 1ml of fresh blood and 10 ml of a 2% formalin solution, the method using a 5% solution of acetic acid.

Results and discussion. All studied methods are effective for detection microfilariae in the blood samples, however, the preferred method for us was the centrifugation method with distilled water, developed by V.B. and the method of thick crushed blood drop, since the detected microfilaria larvae remained viable and were used in experiments on the viability of microfilariae. Of the 45 samples examined, 10 detected microfilariae *D. immitis*. However, in most cases, the final diagnosis of dirofilariasis was made after the death of the host. In the zone endemic to the dirofilariasis, it is necessary to carry out continuous treatment of water reservoirs. Residential and non-residential premises treated with insecticides. Survey and de-worming of the invasive domestic dogs are carried out in the spring-summer period. Selamectin, moxidexin, ivermectin, dectomax, novomek, otodectin and others are applied. To prevent mosquitoes from contacting pets and humans long-acting repellents in the form of a spray, powder, emulsion, lotions are the most convenient to use.

Keywords: dogs, dirofilariasis, *Dirofilaria immitis*, mosquitoes, *Aedes*, *Culex*, Yakutia.

For citation: Kokolova L. M. Diagnosis of Early Stage of Dirofilariasis in Carnivores. *Rosyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12(3):55–59. DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-55-59

Введение

Дирофиляриоз – заболевание, вызываемое паразитированием нематоды рода *Dirofilaria* в организме собак, кошек, диких плотоядных и человека.

Впервые дирофиляриоз был описан в 1566 г., когда португальский врач Амато Лузитано описал необычный случай удаления червя из глаза трёхлетней девочки.

Описано несколько видов дирофилярий, из которых наибольшее распространение имеют *Dirofilaria repens* и *D. immitis*. Ими вызывается большинство случаев заболевания у животных и человека. *D. repens* и *D. immitis* являются облигатными паразитами плотоядных семейств псовых и кошачьих. *D. tenuis* поражает енотов, *D. ursi* встречается у бурых медведей и амурского тигра, *D. subdermata* поражает дикобразов, *D. lutrae* и *D. spectans* – североамериканскую и бразильскую выдр соответственно, *D. striata* – диких американских кошек [1].

Заражение животного и человека происходит трансмиссивным путем через укусы кровососущих комаров, заражённых инвазивными личинками дирофилярий. Проблема дирофиляриоза обусловлена широкой циркуляцией возбудителя в природной среде и отсутствием надлежащих мер по выявлению и дегельминтизации зараженных животных – облигатных дефинитивных хозяев (домашних собак и кошек). Истинная заболеваемость животных и людей дирофиляриями неизвестна, так как симптомы паразитирования нехарактерны и диагностика затруднена. Вследствие недостаточной информированности врачей дирофиляриоз часто проходит под различными диагнозами непаразитарной этиологии.

Источником инвазии для заражения комаров в синантропном очаге являются инвазированные дирофиляриями домашние собаки, реже кошки, в природном очаге – представители семейств Felidae и Canidae. Наибольшая поражённость личинками дирофилярий была выявлена у комаров родов *Aedes* (31%), *Culex* (17%), *Anopheles* (2,5%). Комары являются основным распространителем заболевания, но описаны случаи инвазии после укусов клещей, слепней, вшей и блох.

Целью данной работы – исследование крови у собак в эндемичной по дирофиляриозу зоне г. Якутска для обнаружения в мазках крови микрофилярий. Диагностика дирофиляриоза с исследованием мазков крови для обнаружения микрофилярий способствует ранней химиотерапии и возможной профилактике распространения болезни и проведению ранней терапии собак, заразившихся микрофиляриями от кровососущих комаров.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили пробы и мазки крови от спонтанно зараженных дирофиляриями щенят. Всего было исследовано 5 щенят и 12 разновозрастных собак. Для проведения ранней диагностики дирофиляриоза исследовали мазки крови. На каждый срок сделаны микрофотографии микрофилярий в мазках. Проведено исследование органов и тканей, вскрытие сердца, выявление половозрелых дирофилярий. Современным методом диагностики лёгочного дирофиляриоза является иммуногистохимическое исследование с антителами против фактора VIII (поликлональные в разведении (1:800) с использованием периферической крови. Пробу

для анализа разводили физраствором, осадок исследовали под микроскопом. Толстый мазок крови окрашивали по методу Романовского-Гимза и микроскопировали при увеличении в 140 раз. Для исследования крови и обнаружения микрофилярий в крови использовали методы концентрации: метод Knott с использованием 1 мл свежей крови и 10 мл 2%-ного раствора формалина, метод с использованием 5%-ного раствора уксусной кислоты.

Результаты и обсуждение

Дирофиляриоз собак – инвазионное заболевание, вызываемые гельминтами *D. immitis*, которые паразитируют в сердечных сосудах и легочной артерии собак и могут достигать 30 см в длину (рис. 1). Переносчиком личинок дирофилярий является комар обыкновенный (*Culex pipiens*) и другие виды кровососущих насекомых. Инкубационный период заболевания длится около 6 мес. после укуса. Оплодотворенные самки дирофилярий отрождают в кровь животного живые личинки – микрофилярии, которые могут циркулировать в кровеносной системе длительное время до того момента, когда при укусе комара вместе с кровью попадут к нему в кишечник, где достигают второй стадии развития. Из кишечника насекомого личинки мигрируют в мальпигиевы сосуды, в которых продолжают развиваться до инвазионной (третьей) стадии. Затем они перебираются в нижнюю губу комара, где ждут проникновения в кровь собаки. В течение последующих 3 мес. микрофилярии развиваются в подкожной ткани животного,

дважды линяют и достигают пятой стадии. После этого через кровеносную систему они попадают в легочную артерию и сердце собаки, где становятся половозрелыми.

В случае обнаружения в мазках крови собак микрофилярий можно поставить достоверный диагноз (дирофиляриоз) и проводить лечение с применением антигельминтных препаратов.

Для исследования брали 5 мл крови, в качестве антикоагулянта использовали 5%-ный раствор цитрата натрия в соотношении 1:20 и исследовали в день взятия пробы. При исследовании методом тонкого фиксированного мазка с окраской по Романовскому-Гимза взятую пробу крови тщательно перемешивали, наносили каплю на предметное стекло, с помощью шлифованного стекла делали тонкий мазок, высушивали, фиксировали этиловым спиртом 10 мин. и окрашивали по Романовскому-Гимза. Окрашенные мазки промывали проточной водой и подсушивали, затем изучали под малым увеличением микроскопа. Микрофилярии обнаружены в 6 (13,3 %) пробах из 45 исследованных мазков. Самым простым и быстро выполнимым методом исследования был метод толстой раздавленной капли крови. Пробирку со взятой пробой крови также тщательно встряхивали, затем наносили 3 капли на предметное стекло, накрывали покровным стеклом и сразу же исследовали под малым увеличением. Находили подвижных микрофилярий при малой микрофиляремии, т. е. единичные.

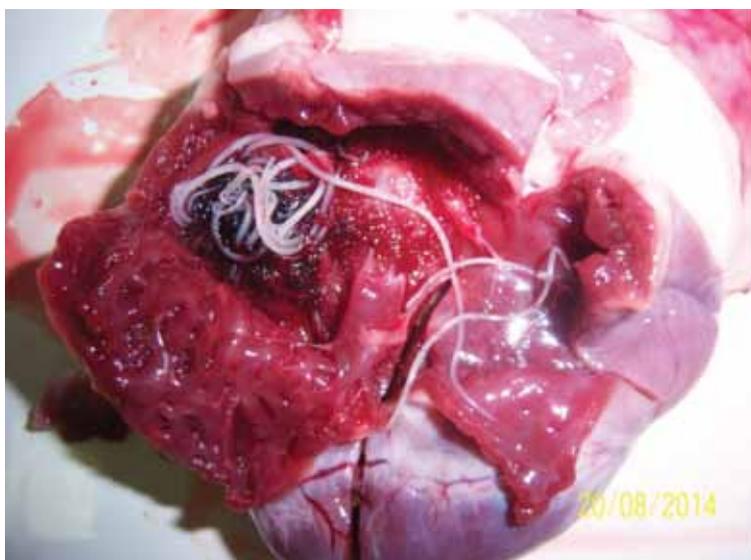


Рис. 1. Половозрелые дирофилярии в сердце собаки (фото Коколовой Л. М., оригинал)

Таким образом, из 45 проб подготовленных мазков крови для исследования в 10 пробах обнаружили микрофилярии.

Проведение исследования методом Кнота сложнее. К 1 мл добавляли 10 мл 2%-ного раствора формалина (всего 45 проб). Смесь центрифугировали 5 мин. при скорости 1500 об./мин. Насадочную часть сливали, оставляя 1 мл и порционно исследовали под малым увеличением микроскопа. Метод классический и показывает высокую эффективность даже при низкой микрофиляремии. Микрофилярии были обнаружены в 10 пробах, но этот метод не дает возможность определять жизнеспособность микрофилярий, так как личинки под действием формалина погибают. Под микроскопом обнаруживали неподвижных личинок.

Другой способ исследования 45 проб проведен методом центрифугирования крови с дистиллированной водой (метод В. Б. Ястреба) [2]. Перед исследованием 1 мл крови тщательно перемешивали в пробирке и добавляли до 10 мл дистиллированной воды, отстаивали 5 мин., центрифугировали при скорости 2000 об./мин. Надосадочную часть пробы до 1 мл сливали и отставшую часть порционно переносили на предметное стекло и накрывали покровным стеклом. В этом случае личинки оставались подвижными и живыми. Микрофилярии обнаружили в 10 пробах с интенсивностью от 1–2 до 15–20 личинок в 1 мл крови.

Как показали наши исследования, все методы эффективны для обнаружения микрофилярий в исследуемых пробах крови, однако предпочтительными для нас были метод центрифугирования с дистиллированной водой, разработанный В. Б. Ястребом и метод толстой раздавленной капли крови, так как обнаруженные личинки микрофилярий оставались жизнеспособными и были использованы в опытах по изучению жизнеспособности микрофилярий. Из 45 исследованных проб в 10 обнаруживали микрофилярий *D. immitis*. Однако, в большинстве случаев окончательный диагноз на дирофиляриоз ставили уже после гибели хозяина.

Лечение дирофиляриоза у собак необходимо проводить своевременно и с учетом индивидуального клинического состояния животного. При тяжелой форме дирофиляриоза

развивается «полостной синдром», связанный с наличием большого числа *D. immitis* у животного, локализованных в синусе полых вен, легочной артерии и правом предсердии. Возникает частичная преграда притоку крови к сердцу и, как следствие, недостаточность трехстворчатого клапана и легочная артериальная гипертензия. Сердечная недостаточность приводит к отекам в области нижних конечностей и межжелудочного пространства. Дирофиляриоз оказывает разрушительное действие на эритроциты, развиваются гемоглобинемия, гемоглобинурия, что приводит к печеночной и почечной недостаточности. Со стороны дыхательной системы характерны хронический сухой кашель, затруднение дыхания и одышка, хрипы в легких. Развитие легочной тромбоэмболии характеризуется возникновением лихорадки и выделением мокроты с кровью. При отсутствии лечения при дирофиляриозе у собак наблюдают летальный исход [3]

Лечение дирофиляриоза – непростая задача, что обусловлено многокомпонентным, тотальным поражением органов и тканей, а также возможностью развития тяжелых осложнений в ходе терапевтических манипуляций. Самым тяжелым осложнением являются тромбоэмболии крупных сосудов и полостей сердца, что может привести практически к мгновенной смерти животного. Каждый конкретный случай требует индивидуального подхода к разработке тактики лечения. Среди препаратов, используемых для лечения дирофиляриоза, преобладают т. н. микрофилярицидные препараты, которые убивают личинок дирофилярий. Эти препараты одновременно тормозят репродуктивную функцию взрослых особей, давая возможность избавиться от прямого негативного действия микрофилярий на достаточно продолжительный период времени.

Для профилактики дирофиляриоза применяют ивермектин в дозе 0,1–0,2 мг/кг внутрь в смеси с пропиленгликолем. Через 4 нед. после обработки необходимо проводить исследование мазков периферической крови на наличие микрофилярий. При обнаружении единичных микрофилярий необходимо дальнейшее применение антигельминтика. Ивермектин весьма эффективен, он уничтожает микрофилярии в крови животных в течение 3–12 ч.

В качестве профилактики можно применять фентион, нанося препарат на кожу жи-

вотного в дозе 20 мг/кг в сутки в течение трех суток в период массового лета кровососущих насекомых. В последующем препарат наносят в дозе 100 мг/кг один раз в день каждую последующую неделю или месяц.

Против половозрелых паразитов применяют левамизол в возрастающих дозах 3 мг/кг в сутки в течение двух недель, 6 мг/кг в последующие две недели и 12 мг/кг – еще две недели, т. е. получается полуторамесячный курс лечения. Можно применять антигельминтный препарат мебендазол внутрь в дозе 40–80 мг/кг в течение 30 сут.

Аллергическую пневмонию отмечают у 14% заразившихся дирофиляриями собак. Для лечения применяют кортикостероиды (преднизон или преднизолон в дозе 1–2 мг/кг один раз в сутки перорально в течение недели). При ослаблении клинических признаков и просветлении пораженных участков на рентгенограмме лечение прекращают в связи с тем, что кортикостероиды могут снизить эффект от применения антигельминтиков. После этого немедленно начинают проводить специфическую терапию.

Более серьезное осложнение – легочный эозинофильный гранулематоз требует применения кортикостероидов (преднизона или преднизолон) в дозе 2 мг/кг два раза в день ежедневно и дает ощутимый терапевтический эффект через 2 нед. после начала применения. Для усиления эффекта иммуносупрессии можно применять одновременно циклофосфамид или азатиоприн.

Эмболия легочной артерии мертвыми паразитами встречается часто, даже после антигельминтной терапии. Лечение осложнений включает применение аспирина в дозе 0,5 мг/кг два раза в сутки в течение 4–6 нед., преднизолон 1–2 мг/кг ежедневно, антибиотиков, бронхолитических средств (например, аминофиллин, эуфиллин) и жидкостной терапии.

В эндемичной по дирофиляриозу зоне необходимо проводить сплошную обработку водоемов. Жилые и нежилые помещения обрабатывают инсектицидами. Обследование и

дегельминтизацию инвазированных домашних собак проводят в весенне-летний период. Собакам, свободным от инвазии в эндемичной зоне, для предотвращения заболевания дирофиляриозом применяют те же антигельминтики, что и при лечении. Наиболее удобными являются препараты, которые можно применять не чаще двух раз за период лета комаров, а именно селамектин, моксидексин, ивермектин, дектомакс, новомек, отодектин.

Для предотвращения контакта комаров с домашними животными и человеком наиболее удобны в применении репелленты длительного действия в форме спрея, пудры, эмульсии, лосьоны.

Литература

1. Акбаев М. Ш., Водянов А. А., Косминков Н. Е. и др. / под ред. М. Ш. Акбаева. М.: Колос, 2000. 743 с.
2. Ястреб В. Б. Сравнительное изучение методов обнаружения микрофилярий в крови собак // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». 2005. Вып. 5. С. 443–445.
3. Кокколова Л. М., Касьянова С. С. Диагностика дирофиляриоза (*Dirofilaria immitis*) у городских собак // Матер. науч. конф. Чебоксары, 2015. С. 12–14.

References

1. Akbayev M. S., Vodyanov A. A., Kosminkov N. Y. et al. / Ed. M. S. Akbayev. M.: Kolos, 2000; 743 p. (In Russ.)
2. Yastreyev V. B. Comparative study of methods for detecting microfilariae in the blood of dogs. Mater. dokl. nauch. konf. Vseros. o-va gel'mintol. RAN «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami» = Materials of report on scientific conference of all-Russia Helminthology Association of RAS "Theory and practice of struggle against parasitic diseases". 2005; (5):443–445. (In Russ.)
3. Kokolova L. M., Kasyanova S. S. Diagnosis of dirofilariasis (*Dirofilaria immitis*) in urban dogs. Mater. nauch. konf. = Mather. sci. conf. Cheboksary, 2015; 12–14. (In Russ.)