

## ДИРОФИЛЯРИОЗ ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ В ЯКУТИИ, СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ ИЗ КРОВИ МИКРОФИЛЯРИЙ

**Г.Г. КОЛЕСОВА**

кандидат ветеринарных наук

Управление ветеринарии г. Якутска

**А.Д. РЕШЕТНИКОВ, Е.С. СЛЕПЦОВ**

доктора ветеринарных наук

**А.И. БАРАШКОВА**

кандидат биологических наук

Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, 677001,  
г. Якутск, ул. Бестужева–Марлинского, д. 23/1, тел. 21-45-74, + 792466212  
78, e-mail: adreshetnikov@mail.ru

**Выявлена зараженность плотоядных в г. Якутске  
*D. repens* и *D. immitis*. Разработан новый способ выде-  
ления из крови собак микрофилярий без центрифуги-  
рования.**

Ключевые слова: плотоядные, дирофиляриоз, микро-  
филярии.

В последние годы отмечается тенденция распространения на территории Якутии ранее нерегистрируемых паразитарных болезней. Основными причинами обогащения фауны гельминтов, опасных человека и животных, являются неограниченные перемещения граждан и животных из других областей России, занос болезней из других стран. Так, на территории Якутии впервые зарегистрированы *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) и *D. repens* (Railliet et Henry, 1891).

Дирофиляриоз у собак широко распространен во многих странах мира, в том числе, в Российской Федерации и странах Ближнего Зарубежья [1, 3, 6, 9, 10].

В предыдущие годы дирофиляриозу собак было посвящено большое количество работ, в том числе отечественных исследователей [1, 2, 5, 7, 9], которые сообщали о распространении дирофиляриоза в том или ином регионе. Заболевание приводит к эмболии, тромбозу кровеносных сосудов, а в дальнейшем циррозу печени, асциты и гибели человека и животных [12, 13].

В последние годы отмечена тенденция к широкому распространению этого заболевания и расширению ареала его распространения не только на юге, но и в средней полосе России [9].

При диагностике дирофиляриоза плотоядных большое значение имеет выделение из крови микрофилярий.

Целью работы было выявление зараженности плотоядных животных Якутии дирофиляриями, определение их видовой принадлежности, оценка эффективности различных методик исследования крови на наличие личинок дирофилярий и разработка эффективного способа выделения из крови микрофилярий с концентрацией последних без центрифугирования.

### **Материалы и методы**

Материалом исследований служили трупы одного песца, одной кошки и шести собак, пробы крови трех подозреваемых на дирофиляриоз собак.

Испытана эффективность следующих методов выделения из крови микрофилярий:

- 1) Исследование нативного мазка крови на предметном стекле;
- 2) Прямое исследование мазка крови при малом увеличении микроскопа [3];
- 3) Центрифугирование цитрированной крови [8] (несколько миллилитров крови смешивают с жидкостью, состоящей из 95 мл 5%-ного раствора формалина, 5 мл ледяной уксусной кислоты, 2 мл концентрированного спиртового раствора генцианвиолета; полученный раствор центрифугируют, а осадок исследуют на наличие личинок нематод);
- 4) Выделение из крови больных сахарным диабетом личинок гельминтов (патент РФ № 2287815 С2, 2006.01, G01N33/48, G01N1/28) (пробы крови смешивают с антикоагулянтом КЗ-ЭДТА и физиологическим раствором в соотношении 1 : 1, на основе первого раствора готовят второй раствор с 0,5 % NaOH в соотношении 2 : 1, инкубируют полученный раствор при 60 °С в течение 5–10 мин, центрифугируют при 3000 об./мин в течение 5 мин, надосадочную жидкость удаляют, осадок инкубируют при 37 °С в течение 10 мин, осадок обрабатывают 1%-ным раствором Люголя в соотношении 1 : 1, готовят мазки, высушивают их при 37 °С в течение 15–20 мин и микроскопируют с объективами 10 и 40);
- 5) Метод Knott [11] (в пробирку с 1 мл свежей крови приливают 10 мл 2%-ного раствора формалина и смесь центрифугируют в течение 5 мин при 1000–1500 об./мин. Надосадочную жидкость удаляют, осадок смешивают в равных количествах с 0,1%-ным раствором метиленовой сини. Из окрашенного осадка делают мазок и исследуют под микроскопом.

### ***Результаты и обсуждение***

Первый случай обнаружения *D. immitis* в Якутии был зафиксирован в феврале 2006 г. при вскрытии 5-летней собаки. Гельминты были обнаружены в правом желудочке сердца. В 2009–2010 гг. выявлено пять случаев паразитирования *D. immitis* у собак при интенсивности инвазии от 7 до 20 экз. (рис. 1, 3) и один случай – у песца (рис. 2).



**Рис. 1.** Взрослые *D. immitis* в сердце у собаки (по Г.Г. Колесовой)

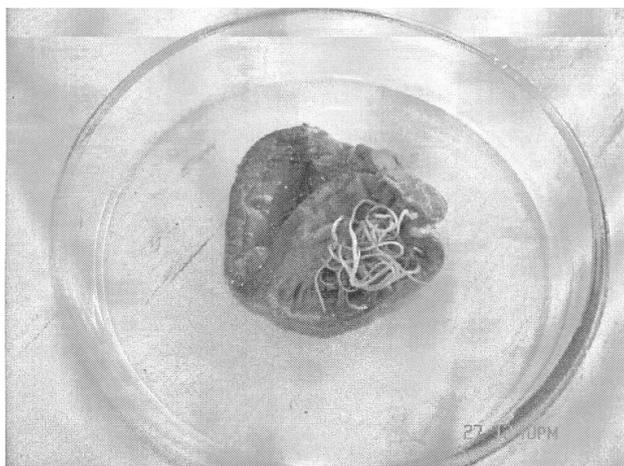


Рис. 2. *D. immitis* в сердце у песка

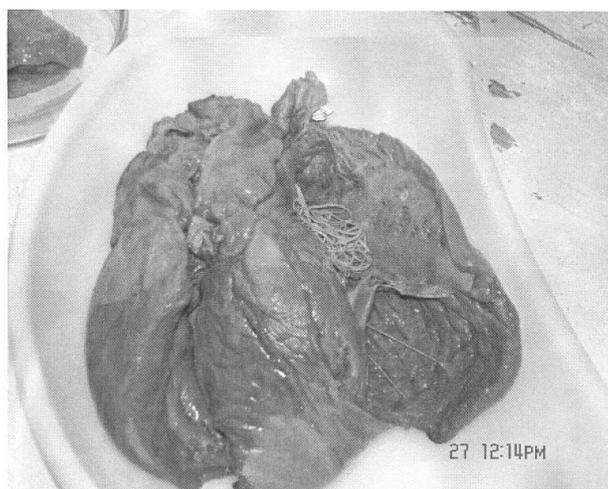


Рис. 3. *D. immitis* в сердце у собаки

При изучении внешнего строения половозрелых *D. immitis* нами выявлены следующие особенности их морфологии: *D. immitis* – длинные нематоды светло-желтого цвета, слегка суживающиеся к концам, паразитирующие в сердце и легочных артериях. Длина тела самки 250–300, самца 120–180 мм, максимальная ширина – 0,75–1,514 и 1,124–1,286 мм соответственно. У самки хвостовой конец закруглен, вульва располагается на расстоянии 1,651–2,272 мм от головного конца, у самца – конический, снабжен двумя боковыми крыльями. Половозрелые *D. repens* обнаружены в подкожной клетчатке двух собак и одной кошки, длина тела самцов – до 50 мм, самок – более 100 мм, кутикула белая, с четкой продольной и поперечной исчерченностью. Ротовое отверстие простое, капсула рудиментарная. *D. repens* обнаружены в кожном новообразовании у собаки породы лайка четырех лет. При микроскопическом исследовании гистосрезов выявлено, что в рыхлой соединительной ткани разбросаны полиморфоядерные лейкоциты, местами видны эпителиоидные и лимфоидные клетки, в паренхиме ткани – неполовозрелые нематоды *D. repens*. Морфологические характеристики соответствуют данным Петрова [7], Архипова, Архиповой [3].

При сравнительном испытании эффективности различных методов выделения из крови микрофилярий обнаружено, что недостатком способов 1, 2

является то, что при низкой интенсивности инвазии эти методики неэффективны. Слабыми сторонами способов 3–5 является то, что во время центрифугирования личинки подвергаются жесткому механическому воздействию, меняется их морфологическая структура, затрудняющая их идентификацию до вида. Выделение микрофилярий (личинки) из осадка, состоящего из клеток белой крови, разрушенных гемолизированных эритроцитов, паразитических организмов иной этиологии, кристаллов холестерина, раствора краски и неподвижных микрофилярий требует выполнения очень большой кропотливой работы лаборанта.

При разработке эффективного способа выделения из крови микрофилярий с концентрацией последних без центрифугирования исходили из факта, что кровь с антикоагулянтом разделяется на плазму и осадок (форменные элементы); за 20–24 ч на поверхности осадка образуется едва заметное углубление.

Предлагаемый нами способ выполняется в следующем порядке: пробы крови в пробирке с антикоагулянтом КЗ-ЭДТА ставят в прохладное место при температуре 4–15 °С на 20–24 ч, при этом кровь разделяется на плазму и осадок; последний на своей поверхности, граничащей с плазмой, образует углубление – воронку, на дне которой концентрируются микрофилярии. Со дна воронки отбирают жидкость (плазму) в количестве 15–20 мкл, смешивают с 1%-ным раствором Люголя, готовят мазки и микроскопируют. Форма воронки на поверхности осадка образуется из-за выпуклого в нижнюю сторону дна стеклянной пробирки, в которой была набрана кровь с антикоагулянтом.

Результаты наших исследований показали высокую зараженность домашних плотоядных дирофиляриями в условиях г. Якутска и пригорода (*D. immitis* обнаружен у шести собак и одного песца, *D. repens* выявлен в подкожной клетчатке двух собак, одной кошки и в каждом новообразовании одной собаки). Предлагаемый способ выделения из крови собак микрофилярий позволяет: концентрировать личинок дирофилярий в крови без центрифугирования, собрать личинок не с осадка, а с плазмы, представляющей жидкость соломенного цвета, уменьшить трудоемкость выделения из крови микрофилярий без посторонних примесей. Без центрифугирования нежные ткани личинок не подвергаются механическому воздействию, деформирующему их морфологическую структуру, затрудняющую идентификацию до вида.

### Литература

1. Архипов И.А., Березкина С.В., Демидов Н.В. Дирофиляриоз собак в Сурхандарьинской области // Матер. науч. конф. Всес. о-ва гельминтол. – 1983. – С. 104–105.
2. Архипова Д.Р. Тенденции к созданию очагов дирофиляриоза и меры борьбы с ним // Матер. конф. Всер. о-ва гельминтол. – М., 1994. – С. 6–9.
3. Архипов И.А., Архипова Д.Р. Дирофиляриоз. – М., 2004. – 194 с.
4. Гаврилов А.А. Гельминты и гельминтозы собак Казахстана (фауна, эпизоотология, терапия и химиопрофилактика): Дис. ... канд. вет. наук. – Алма-Ата, 1976. – 143 с.
5. Делянова Р.Ш. Распространение гельминтозов собак по разным географическим зонам СССР: Дис. ... канд. биол. наук. – М., 1962. – 522 с.
6. Козлов Д.П., Скворцова Н.А. К распространению *D. immitis* в Хабаровском крае // Тез. докл. науч. конф. Всес. о-ва гельминтол. – 1962. – Ч. 1. – С. 84–86.
7. Петров А.М. Гельминтологическое исследование тканей // Ветеринарная лабораторная практика. – М.: Изд. сельхоз. литературы, журн. и плакатов, 1963. – Т. 2. – С. 218–219.
8. Попова Т.И. Гельминтологическое исследование тканей // Ветеринарная лабораторная практика. – М.: Изд. сельхоз. литературы, журн. и плакатов, 1963. – Т. 2. – С. 218–230.

9. Сухова М.В. Эпизоотологический надзор при дирофиляриозе плотоядных в условиях Среднего и Нижнего Поволжья: Автореф. дис. ... канд. вет. наук. – 2002. – 22 с.
10. Худавердиев Т.П., Джафаров Ш.М. К изучению распространения дирофиляриоза кровососущими насекомыми в условиях Нахичеванской АССР // Уч. зап. Азерб. гос. унив-та. – 1979. – Вып. 1. – С. 16–21.
11. Knott J.I. Method for making microfilarial surveys on day blood // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. – 1939. – V. 33. – P. 191–196.
12. Kume S. Epizootology of canine heartworm disease in the Tokyo area: diagnosis and treatment // Proc. 1-st Intern. Symp. on Can. Heartworm Dis. – 1970. – P. 18–33.
13. Tarello W. Subcutaneous canine dirofilariasis due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens* of American origin in Italy. Case report // Rev. Med. Vet. – 2000. – V. 151, № 11. – P. 1053–1058.

**Dirofilariosis of carnivorous in Yakutia, the method of isolation filarial larvae from the blood of dogs**

**G.G. Kolesova, A.D. Reshetnikov, E.S. Sleptsov, A.I. Barashkova**

The cases of dirofilariosis of carnivorous were registered in Yakutsk (*D. repens* and *D. immitis*). A new method of isolation of filarial larvae was developed.

Keywords: carnivorous, dirofilariosis, filarial larvae.