

УДК 616.995.1

ДИАГНОСТИКА ДИРОФИЛЯРИОЗА СОБАК

DIAGNOSIS OF HEARTWORM IN DOGS

©Мезенцев С. В.

д-р ветеринар. наук
НПО «Алтайагровет»,
г. Барнаул, Россия, msv.dok@rambler.ru, www.altaiivet.ru

©Mezencev S.

Dr. habil.

Head NPO Altaiagrovet
Barnaul, Russia, msv.dok@rambler.ru, www.altaiivet.ru

©Мезенцева Н. Д.

КГБУ «Управление ветеринарии по г. Барнаулу»
г. Барнаул, Россия

©Mezenceva N.

veterinarian of Treatment and Prevention
Department KGBU Veterinary management,
Barnaul, Russia

Аннотация. Дирофиляриоз относится к группе заболеваний, характеризующихся трансмиссивным путем передачи, медленным развитием, длительным течением и формированием синантропных и природных очагов. Источником заражения собак в синантропных очагах являются комары. Общепринятым методом исследования на дирофиляриоз является микроскопия крови с различными реагентами и красителями. Данный метод эффективен только на стадии циркуляции микрофилярий в венозном русле организма животных.

Для более точной, в т.ч. и дифференциальной, диагностики дирофиляриоза применяются иммунохроматографические тест-системы для экспресс-анализа инвазии. Тест предназначен для быстрого, качественного и одностадийного выявления антигена *Dirofilaria immitis*. Их необходимо применять в случаях низкой микрофиляремии в венозном русле, отрицательных результатах исследования крови на дирофиляриоз при наличии клинических признаков заболевания у животных и в случаях дифференциальной диагностики с показателями специфичности на *Dirofilaria immitis* 99,5% и чувствительности – 94,5%.

Abstract. Dirofilariosis refers to a group of diseases characterized by transmissible transmission, slow development, prolonged course and the formation of synanthropic and natural foci. The source of infection of dogs in synanthropic foci are mosquitoes. The generally accepted method of research on dirofilariosis is microscopy of blood with different reagents and dyes. This method is effective only in the circulation step microfilaria in venous blood of animals.

For accurate and differential diagnosis of dirofilariosis, immunochromatographic test systems are used for rapid analysis of infestation. The test is intended for fast, high-quality, one-step detection of the antigen *Dirofilaria immitis*.

The test should be used in cases of low microfilaremia in venous blood, negative results of blood tests on dirofilariosis the presence of clinical signs of disease in animals and in cases of differential diagnosis indicators specificity for *Dirofilaria immitis* 99,5% and sensitivity - 94.5%.

Ключевые слова: дирофиляриоз, сердечные гельминты собак, эпизоотология, микрофилярии, инвазирование восприимчивых животных, городская территория, иммунохроматографическая тест-система, иммунострип.

Keywords: Dirofilyariosis, heartworm in dogs, epizootiology, microfilariae, the invasion of susceptible animals, urban area, immunochromatographic test system, immunological strip.

Введение

Дирофиляриоз относится к группе заболеваний, вызываемых нематодами, характеризующихся трансмиссивным путем передачи, медленным развитием и длительным течением. В настоящее время описано более 27 видов возбудителей заболевания, относящихся к роду дирофилярий, но с клинической точки зрения для ветеринарии наиболее значимыми являются виды – *Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens*.

Среди гельминтозов, которые регистрируются в России, дирофиляриоз не занимает лидирующего места, однако наблюдения последних лет выявили стойкую тенденцию к расширению границ распространения зооноза и увеличению численности инвазированных собак, кошек и, к сожалению, людей.

Исключительную роль в расширении ареала дирофиляриоза играет адаптация микрофилярий к разным видам комаров и другим видам насекомых в качестве промежуточных хозяев и приспособленность личиночных стадий к развитию при разных температурных режимах; ограничение использования химических средств защиты от гнуса, а также недостаточный арсенал высокоэффективных и нетоксичных антгельминтиков против дирофилярий. Это создает благоприятные предпосылки для возникновения новых очагов дирофиляриоза плотоядных, а это увеличивает риск заболевания данным гельминтозом человека [1, с. 39-40].

На определенных территориях формируются синантропные и природные очаги, где зараженность животных выше, чем на остальных. Источником заражения комаров в синантропных очагах являются инвазированные дирофиляриозом собаки, реже кошки, в природных очагах – волки, лисы, хорьки и другие представители семейств Canidae и Felidae, у которых после однократного заражения, отрожденные в их организме микрофилярии циркулируют до 2,5 лет. Передача возбудителей комарами плотоядным и человеку начинается спустя 2-3 недели после заражения комаров и продолжается в течение всего периода их активности [2, с. 58].

Данный гельминтоз зарегистрирован в 53 субъектах РФ и продолжает продвигаться в более северные, неэндемичные по данному заболеванию районы. Это объясняется активным перемещением собак, потеплением климата, участившимися случаями выявления данного гельминтоза врачами общей практики и признанием дирофиляриоза новым зоонозом на территории России [3, с. 1297].

Более ранними исследованиями на территории Алтайского края было установлено, что пораженность домашних собак составляла 19,5% в 2008 г. За счет более полного охвата

диагностическими исследованиями и своевременных лечебных мероприятий заболевание собак дирофиляриозом удалось снизить до 11% в 2010 г. [4, с. 201].

В ряде регионов РФ отмечается пораженность собак до 30%.

Цели и задачи

В связи с высоким процентом поражения домашних животных дирофиляриозом возникла необходимость ранней диагностики микрофилярий с целью выявления пораженных животных на начальных стадиях их инвазирования.

В этой связи диагностическим исследованиям подвергались все восприимчивые животные подлежащие вывозу за пределы субъекта, а также животные – участники выставок.

Последовательность и обязательность проводимых лечебных и противоэпизоотических мероприятий позволило в 2012 г. снизить пораженность домашних собак до 5,3%.

На это повлияло в первую очередь разработка мероприятий в очаге инвазии, направленных на снижение численности комаров и популяции бродячих собак и других плотоядных [5, с.113].

Объекты и методы исследования

Объектами исследований являлись восприимчивые животные или их кровь, доставляемые в диагностический центр.

В качестве основных методов исследований использовалась микроскопия нативных и окрашенных по Кнотту мазков крови под разным увеличением.

Для микроскопии применялся тринокулярный микроскоп Микромед 3 вар. 3-20. Микроскоп рассчитан на длину тубуса «бесконечность», объективы стандарта DIN, парфокальная высота объективов 45 мм.

Для изготовления микрофотографий применялся видеоокуляр ToprCam 5.1 MP с цифровой CMOS (КМОП) камерой на базе сенсора Aptina MT9T001.

Для дифференциальной диагностики применялись иммунохроматографические тест-системы, производства Asan Farm., Корея.

Исследовательская часть

В связи с увеличением числа обращений в диагностический центр «АверсVet» о необходимости проведения диагностических исследований на дирофиляриоз возникла необходимость рассмотреть вопрос расширения диагностической базы на данное заболевание, что и стало основной целью наших исследований.

Наиболее распространенным методом диагностики дирофиляриоза на ранних этапах развития инвазии является исследование венозной крови восприимчивых животных. К этому относится микроскопия микрофилярий в нативном мазке крови, когда микрофилярии активно двигаются и их легко обнаружить. Подвижные личинки паразита заметны по их активному движению между эритроцитами. Этот метод дает надежные результаты только при высокой интенсивности инвазии (Рисунок 1).

Недостатками метода являются: трудность диагностирования дирофиляриоза при низкой интенсивности инвазии, при малой подвижности микрофилярий и быстрое высыхание свежего мазка, что снижает точность проводимых исследований.

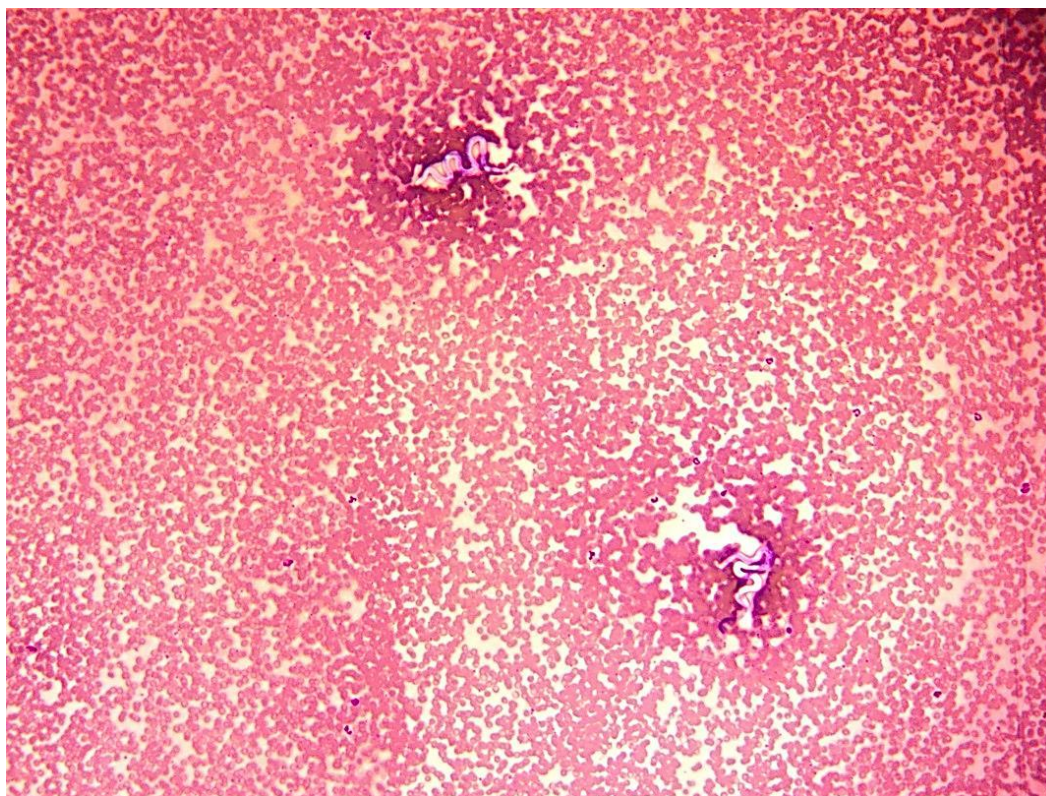


Рисунок 1. Микрофилярии в нативном мазке (увел. x 10)

Следующим, рекомендуемым многими авторами, методом применяемым в лабораторной диагностике является модифицированный метод Кнотта (Рисунок 2). Метод заключается в перемешивании венозной крови с раствором формалина, затем его центрифугируют и осадок окрашивают метиленовым синим, высушивают и микроскопируют для обнаружения фиксированных микрофилярий. Исследование дает хорошие результаты при практической постановке диагноза на дирофиляриоз, эффективность которого, по данным Есауловой Н. В., Акбаева М. Ш., Давыдовой О. Е. (2008), составляет 85-93% [6, с. 32].

В дополнение к этим методам использовался метод с применением уксусной кислоты, которую примешивают к венозной крови, центрифугируют и осадок исследуют под микроскопом. При этом личинки погибают, и их бывает трудно обнаружить в исследуемом материале.

При отсутствии микрофиляриемии в кровеносном русле эти методы дают ложно отрицательные результаты, которые ставятся под сомнение ветеринарными специалистами, направляющими животных с клиническими признаками заболевания в анамнезе.

Это возникает в случаях сезонного содержания собак (в летний период) на дачах, частных домах, приусадебных участках и т.п., когда владелец не замечает значительных изменений в поведении животного и стадия микрофиляриемии переходит в половозрелую стадию гельминта с локализацией в полостях сердца и аорты.

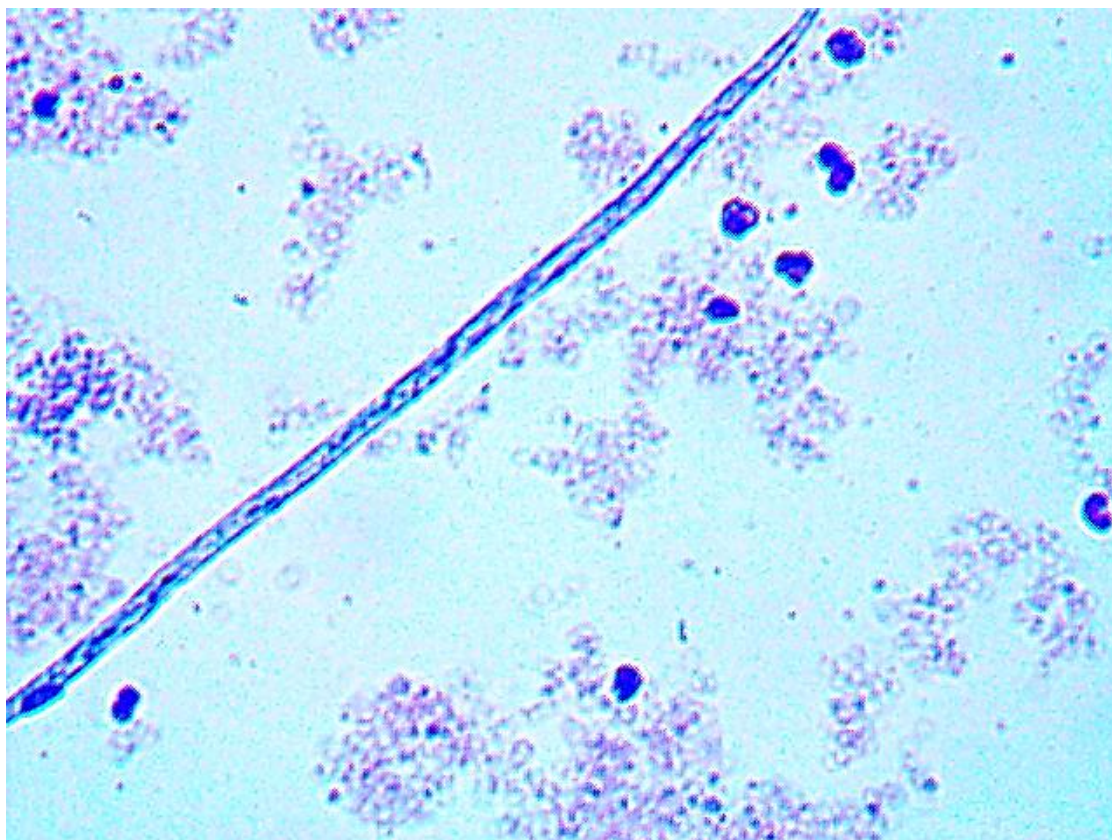


Рисунок 2. Микрофилярия в крови (окраска по Кнотту, увел. x 40)

В этой стадии у животных развивается сильное истощение на фоне незначительного снижения аппетита, повышенная утомляемость, очень часто отмечается бессимптомный кашель. Исследование крови на наличие микрофиляремии в венозном русле дает отрицательный результат.

Для исключения или подтверждения диагноза на дирофиляриоз применялись иммунологические методы по выявлению специфических антигенов в сыворотке или цельной крови собак.

На сегодняшний день с этой целью применяются иммунохроматографические бесприборные тест-системы для экспресс-анализа инвазии. Тест предназначен для быстрого, качественного и одностадийного выявления антигена дирофилярий с использованием хроматографических мембран в качестве твердого носителя с иммобилизованными на них в разных зонах антителами, одни из которых, являются конъюгатом, другие, вторичные, предназначены для фиксации иммунного комплекса.

По мнению С. Genchi, L. Venco, M. Genchi (2007), подобные тест-системы являются «золотым стандартом» при диагностике дирофиляриоза, поскольку отличаются высокой чувствительностью (до 100%) и 100%-ной специфичностью [7, с. 135].

Проведение иммунохроматографического анализа состояло в следующем: каплю крови вносили в лунку иммунострипа, в присутствии антигена в исследуемом материале конъюгат связывался с ним, формируя комплекс антиген-антитело. Полученный иммунный комплекс мигрирует по капиллярам мембраны, и после взаимодействия с вторичными антителами

фиксируются в зоне «Т» иммуострипа с появлением горизонтально окрашенной полосы, указывающей на положительный результат теста. При отрицательном результате окрашенной полосы в зоне «Т» не отмечалось. Использовались тесты Asan Easy Test Heartworm (производства Asan Farm., Корея) с показателями специфичности на *Dirofilaria immitis* 99,5% и чувствительности – 94,5%.

Диагностическая ценность иммуохроматографического теста в наших исследованиях состояло в возможности его успешного применения для выявления «скрытой» инвазии, а при наличии микрофиляремии у собак – для дифференциальной диагностики вида возбудителя.

Применение данных тест-систем дают положительный результат на *Dirofilaria immitis* в 90% случаев при наличии выше приведенных клинических признаках у собак и получении ложно отрицательных результатов исследования венозной крови.

Это позволяет исключать ошибки в диагностике, которые уводят в ложно направленные исследования, позволяет быстро делать лабораторные заключения и терапевтические назначения с последующим лабораторным контролем за степенью снижения инвазии и физиологическим состоянием организма животного.

Так как при половозрелой стадии течения дирофиляриоза значительно увеличивается нагрузка на сердечную мышцу, рекомендуется проводить исследования на сердечные тропонины (тропонин I) с целью определения степени повреждения кардиомиоцитов и позволяет ветеринарным терапевтам определиться с назначением необходимых препаратов.

Заключение

Своевременная диагностика и незамедлительное терапевтическое назначение позволяет делать благоприятные прогнозы на положительный исход при лечении дирофиляриоза.

В настоящее время действует СанПин 3.2.3215-14, который вступил в силу 10.01.2015 г., где в разделе 8 впервые регламентирован порядок организации профилактических мероприятий при дирофиляриозе в отношении животных, мест выгула собак, зон отдыха человека и мест расплода комаров.

Действия СанПиНа регламентируют действия медицинских работников и учреждений Роспотребнадзора, при этом дефинитивными хозяевами наравне с человеком являются огромные популяции собак и кошек, поэтому в процесс необходимо вовлекать государственные ветеринарные службы, для охвата восприимчивых животных, в т.ч. и безнадзорных, диагностическими профилактическими исследованиями, как это уже делается в целом ряде регионов России.

Общепринятыми методами исследования крови на дирофиляриоз можно диагностировать данное заболевание на стадии микрофиляремии на 85-93%.

В случаях низкой микрофиляремии, отрицательных результатов исследования крови на дирофиляриоз при наличии клинических признаков заболевания у животных и в случаях дифференциальной диагностики необходимо применять иммуохроматографические тест-системы, которые обладают наивысшими на сегодняшний период показателями чувствительности и специфичности.

Список литературы:

1. Беспалова Н. С., Золотых Т. А. Результаты пилотных испытаний новой тест-системы для выявления антигенов половозрелых самок дирофилярий у собак // Вестник ВГАУ. 2015. №1 (44). С. 39-42.

2. Москалев В. Г., Ермилов И. В. Система противозооотических мероприятий по дирофиляриозу в Курской области // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2015. №2. С. 58-59.
3. Бякова О. В., Масленникова О. В., Ермолина С. А. Дирофиляриоз собак в Кировской области // Фундаментальные исследования. 2014. №11-6. С. 1297-1300.
4. Мезенцев С. В., Саенко А. И. Распространение дирофиляриоза на юге Западной Сибири // Актуальные проблемы инфекционных и незаразных патологий животных: сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной памяти выдающегося организатора Сибирской ветеринарной науки А. В. Копырина. Омск: Вариант-Омск, 2010. С. 199-202.
5. Мезенцев С. В. Эпизоотология дирофиляриоза собак в Алтайском крае // Вестник АГАУ. 2013. №5 (103). С. 110-113.
6. Есаулова Н. В., Акбаев М. Ш., Давыдова О. Е. Диагностика и лечебно-профилактические мероприятия при дирофиляриозах собак // Ветеринария. 2008. №2. С. 30-34.
7. Genchi C., Venco L., Genchi M. Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections: Proceedings of *Dirofilaria Day*. Croatia, 2007. P. 130-144.

References:

1. Bespalova, N. S., & Zolotykh, T. A. (2015). Results of pilot trials of a new test system for the detection of antigen of mature female *dirofilaria* in dogs. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, (1), 39-42. (in Russian)
2. Moskalev, V. G., & Ermilov, I. V. (2015). System of antiepzootic measures for dyrofilariasis in the Kursk region. *Vestnik Kurskoi gosudarstvennoi selskokhozyaistvennoi akademii*, (2), 58-59. (in Russian)
3. Byakova, O. V., Maslennikova, O. V., & Ermolina, S. A. (2014). *Dirofilariosis dog in the Kirov region. Fundamentalnye issledovaniya*, (11-6), 1297-1300. (in Russian)
4. Mezentsev, S. V., & Saenko, A. I. (2010). Distribution of dirofilariasis in the south of Western Siberia. *Aktualnye problemy infektsionnykh i nezaraznykh patologii zivotnykh: mater. Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashch. pamyati vydayushchegosya organizatora Sibirskoi veterinarnoi nauki A. V. Kopyrina. Omsk, Variant-Omsk*, 199-202. (in Russian)
5. Mezentsev, S. V. (2013). Epizootology of dirofilariasis in dogs in the Altai region. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, (5), 110-113. (in Russian)
6. Yesaulova, N. V., Akbaev, M. Sh., & Davydova, O. Ye. (2008). The diagnosis and therapeutic - prophylaxis measures in case of dirofilariosis at dogs. *Veterinariya*, (2), 30-34. (in Russian)
7. Genchi, C., Venco, L., & Genchi, M. (2007). Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections: *Proceedings of Dirofilaria Day. Croatia*, 130-144

Работа поступила
в редакцию 21.10.2017 г.

Принята к публикации
25.10.2017 г.

Ссылка для цитирования:

Мезенцев С. В., Мезенцева Н. Д. Диагностика дирофиляриоза собак // Бюллетень науки и практики. Электрон. журн. 2017. №11 (24). С. 57-64. Режим доступа: <http://www.bulletennauki.com/mezencev-sv> (дата обращения 15.11.2017).

Cite as (APA):

Mezencev, S., & Mezenceva, N. (2017). Diagnosis of heartworm in dogs. *Bulletin of Science and Practice*, (11), 57-64