

изучения заболевания для выявления причин его появления, совершенствования мер диагностики, лечения и профилактики.

Литература

1. Magono N, Yosimatu H, Suzuki Y, et al. [A case of pulmonary dirofilariasis diagnosed by biopsy, immunological tests and the clinical course without operation]. Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi. Jun 2009;47(6):467-70. [Medline].
2. Доклад о состоянии здравоохранения в мире генерального директора Всемирной организации здравоохранения отчёт за 2007 год //www.who.euro.int.
3. N.K.Shvarsalon, A.B.Khytovych, L.S.Kir'yakova Principles of International Health Regulations 2005//Tavricheskiy Mediko-biologicheskii Vestnik (English edition). – 2007. – V.10, №3. – P.268-271.
4. Weekly epidemiological records /World Health Organisation. – 2007. – http://www.who.int/wer.
5. Лукшина Р.Г. Паразитарные болезни человека. – Харьков.: издательский дом, 2005.
6. Ревич Б.А., Платонов А.Е., Безр С.А. Новая угроза //Ж.Энергия. – 2004 - №4. С. 66-73.
7. Michael D. Nissant, Jonh Charles Walker; 2002 . – http://www.zoobusiness.kiev.ua/consultation/54/.
8. Азнабаев М.Т., Бабушкин А.Э., Мальханов В.Б. Редкие случаи в клинической офтальмологии. – Уфа, Уфимский НИИ глазных болезней, 2001. – 58с.
9. Мурашко В.А., Позняк Н.И., Ковшель Н.М. Случай дирофиляриоза с ретробульбарной локализацией инкапсулированного паразита // Белорусский Офтальмологический Журнал. – 2000. – №6 – С.72–73.
10. Поживил А.И. и др. Ветеринарная паразитология. М.: Аквариум.- 2000.- С 24-30.
11. Colwell R.R. Global climate and infectious diseases. The cholera paradigm //Science 1996.- Vol.274. - №5295. – P.2025-2031.
12. Беляев В.С., Кравчинина В.В., Барашков В.И. и др. Случай дирофиляриоза глаза // Весн. офтальмол. – 1989. – №6. – С. 72–74.
13. Дронова А.П., Усанова Е.Б. Случай дирофиляриоза органа зрения // Офтальмол. Журн.. – 1997. – №5. – С.382.
14. Майчук Ю.Ф. Паразитарные заболевания глаз. – М., 1988. – 35с.

УДК 619:616.99-078

ВНЕДРЕНИЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИ-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ В ПРАКТИКУ ВЕТЕРИНАРНОЙ ПАЗАРИТОЛОГИИ

Пономаренко В.Я., Федорова Е.В., Булавина В.С.
Харьковская государственная зооветеринарная академия,
г. Харьков, Украина

В статье представлены данные по диагностике токсоплазмоза, гiardioза и криптоспориоза среди бродячих собак методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

APPLICATION OF SERUM IMMUNOLOGICAL METHODS OF DIAGNOSTICS IN PRACTICE OF VETERINARY PARASITOLOGY

Ponomarenko V. Ya., Fedorova O. V., Bulavina V. S.

Data about diagnostics of toxoplasmosis, giardiasis and cryptosporidiosis among stray dogs by immunofluorescent analysis (IFA) and polymerase chain reaction (PCR) are presented in the article.

Введение. Среди заразной патологии животных и людей важное место занимают болезни, вызываемые простейшими зоопаразитами. Протозоозы наносят значительный вред здоровью животных и могут быть опасными для человека – приводят к тяжелым заболеваниям и даже летальным исходам. К таким опасным болезням также относятся токсоплазмоз, гиардиоз (лямблиоз) и криптоспоридиоз.

Токсоплазмоз – распространенная во всем мире тяжелая инвазионная болезнь животных и человека, вызываемая облигатным внутриклеточным паразитом – *Toxoplasma gondii*, имеющим особо важное медико-ветеринарное значение. В цикле развития токсоплазм кошкам и представителям семейства кошачьих принадлежит особая роль – они являются дефинитивными хозяевами возбудителя и источниками поражения для других животных и человека. Промежуточными хозяевами возбудителя токсоплазмоза являются разные виды млекопитающих, в том числе, собаки и человек.

Особое внимание в связи с этим следует обратить на собак, в первую очередь на популяцию бродячих собак, которая бесконтрольно увеличивается. В мире бродячим собакам как источнику инфекционных и инвазионных заболеваний уделяется значительное внимание исследователей, преимущественно из стран дальнего зарубежья [6, 8, 9, 16, 17, 20, 22, 24, 25].

Для достоверной диагностики токсоплазмоза у широкого круга промежуточных хозяев и кошачьих целесообразно использовать современные серологически-иммунологические методы. Для серологической прижизненной диагностики можно использовать РСК, РИФ, ИФА, ПЦР, МАТ, РИГА, ЛАТ [7].

В мировой ветеринарной практике широко используют иммуноферментные методы диагностики, направленные на выявление в крови антител классов иммуноглобулинов (А, G, М), специфических к антигенам токсоплазм [4, 3, 11, 14, 15, 20, 21].

Гиардиоз – протозойное заболевание животных и человека с разными вариантами проявления: в виде латентного паразитоносительства, в манифестных формах или тяжелого заболевания с клиническим проявлением диареи разной степени тяжести, наличием аллергических и неврологических явлений.

Вопрос, касающийся роли гиардий в патологии желудочно-кишечных заболеваний животных и человека, остается особенно актуальным [1, 2, 3, 5].

В первую очередь роль в лабораторной диагностике гиардиозительства у животных принадлежит паразитологическим исследованиям – выявлению цист и трофозоитов возбудителя в фекалиях. Предыдущими исследованиями фекалий от собак Харьковской области методами окрашивания мазков раствором Люголя и карболовым фуксином с метиленовым синим нами установлено значительное распространение гиардиозительства – от 33,3 до 55,7% [8].

Серологические методы диагностики гиардиоза (ИФА), которые основаны на выявлении в крови антител классов иммуноглобулинов (А, G, М), специфических к антигенам гиардий, широко используют иностранные исследователи [12].

Разработана лабораторная диагностика гиардиоза животных путем исследования фекалий на наличие ДНК возбудителя с помощью ПЦР [12].

В Украине для диагностики токсоплазмоза, гиардиоза, криптоспориоза животных в практике ветеринарной паразитологии данные методы используются недостаточно. Поэтому перспективным является внедрение современных методов серологически-иммунологической диагностики для широкого использования в ветеринарной практике, с целью своевременной точной диагностики протозоозов и эффективной борьбы с ними.

Задание исследования – провести исследования по диагностике протозоозов (токсоплазмоза, гиардиоза и криптоспориоза) среди популяции собак, которые поступали в центр стерилизации беспризорных животных на базе ХГЗВА, с помощью методов иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Материал и методы. На протяжении 2008-2009 годов была проведена иммунобиологическая диагностика токсоплазмоза, гиардиоза и криптоспориоза среди бродячих собак.

Для диагностики протозоозов от собак отбирали пробы крови, получали сыворотку, замораживали при $t -20^{\circ}\text{C}$ и сохраняли до проведения исследований. Диагностику токсоплазмоза методом ИФА осуществляли с использованием набора реагентов DIA[®]-Тохо-IgG фирмы АОЗТ НПК «Диапроф-Мед», Украина. Исследования на лямблиоз методом ИФА были проведены с помощью набора реагентов D-3552 «Лямблия-антитела-ИФА-Бест» фирмы «Вектор-Бест», Россия.

Анализ проводили согласно инструкции производителя, с использованием конъюгата специфического к антителам класса IgG. Принцип анализа базируется на методе твердофазного непрямого ИФА.

Для проведения полимеразной цепной реакции отбирали свежие пробы фекалий и центрифугировали их методом формалин-эфирного обогащения 3 мин. при 1500 об/мин., после чего осадок помещали в лабораторные пробирки типа «Эппиндорф», добавляли щелочной раствор в соотношении 1:1 и замораживали при температуре -20°C .

Исследования на ПЦР проводили с помощью комплекта реагентов «ДНК-сорб-АМ» предприятия-производителя «ФГУН ЦНИИЭ

(Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии) Ростпотребнадзора» (Москва).

Результаты исследований. Серологически-иммунологические методы, которые широко используются с целью диагностики заразных болезней, основаны на выявлении в крови как суммарных антител, так и разных классов иммуноглобулинов (А, G, M).

При острой форме токсоплазмоза в сыворотке крови выявляют специфические антитела класса IgM, которые появляются через несколько дней после заражения *T. gondii* и могут персистировать в организме на протяжении одного года. Антитела класса IgG к *T. gondii* появляются на неделю позже, при острой инфекции, их титр постепенно возрастает. При хроническом паразитоносительстве или постинфекции регистрируют только IgG, которые могут долго сохраняться в организме [4, 14, 21].

При острой форме гиаридоза выявляются только специфические IgM; в стадии обострения хронической формы инвазии выявляются специфические IgG и IgM; при хроническом паразитоносительстве или постинфекции регистрируют только IgG, которые также могут долго сохраняться в организме [1, 2, 3, 5, 8, 12, 23].

Результаты серологических исследований на наличие IgG к *T. gondii* и *Lambliа intestinalis* (*Giardia intestinalis*) методом ИФА представлены в таблице 1.

Таблица 1- Результаты обследования бродячих собак центра ХГЗВА с использованием метода ИФА

Титр антител	Количество проб		Процентное соотношение (%)	
	токсоплазмоз	гиардиоз	токсоплазмоз	гиардиоз
1:8	3	–	3,5	–
1:16	25	–	29,4	–
1:32	16	–	18,8	–
1:64	17	14	20	20
1:128	11	16	12,9	22,86
1:256	10	13	11,8	18,57
1:512	2	15	2,4	21,43
1:1024	1	5	1,2	7,14
1:2048	–	1	–	1,43
1:4096	–	4	–	5,71
1:16384	–	2	–	2,86
Всего	85	70	100	100

При диагностике токсоплазмоза у 85 собак установлены титры антител на уровне от 1:8 до 1:1024. Активной фазой заболевания, при увеличении концентрации иммуноглобулинов IgG, мы считали титр антител 1:128 и более как диагностический. Низкий уровень антител может свидетельствовать о перенесенном заболевании, или неактивной

фазе. Другие исследователи, при использовании ИФА как позитивный, учитывали титр антител 1:64 и выше [14, 17].

Титр антител от 1:128 до 1:1024 нами зарегистрирован у 24 собак из 85, что составило 28,2%.

Если учитывать титры антител 1:64 и выше – инвазированность собак токсоплазмами, по результатам наших исследований, значительно возрастает и будет составлять – 48,2%.

Активной фазой болезни, при увеличении концентрации иммуноглобулинов IgG, можно считать титр антител 1:256 и более. Собак с титром антител 1:256-1:1024 установлено 13 (15,3%). В эпизоотологическом аспекте это самые опасные животные. Высокий титр антител IgG к *T. gondii* (в пределах 1:512-1:1024) указывает на угрозу для других животных и человека, поскольку эти животные могут выделять вегетативные формы токсоплазм с фекалиями, мочой, слюной и другими экскретами.

При исследовании 70 бродячих собак методом ИФА на гиардиоз, диагностическим титром, по данным иностранных источников, также считали 1:128 и выше [12]. Таким образом, из 70 проб сыворотки крови позитивные результаты были получены в 56 пробах, что составило 80%.

Активной фазой гиардиоза, при увеличении концентрации иммуноглобулинов IgG, можно считать титр антител 1:256 и более. Собак с титром антител 1:256-1:16384 установлено 40 (57,14%). В эпизоотическом аспекте наиболее опасные животные с титром антител 1:1024-1:16384. Проб с такими титрами было 12 (17,14%).

Животных с титром 1:128 следует считать паразитоносителями. Количество этих проб составило 16 (22,85%). Титр на уровне 1:64 свидетельствует, что животные являются носителями антител к *Giardia intestinalis*.

Высокий титр антител IgG к *Giardia intestinalis* (в пределах 1:1024 – 1:16384) указывает на угрозу для других животных и человека. Опасные животные с титром 1:256-1:512. Титр антител 1:128 и ниже может свидетельствовать о перенесенной инвазии.

Исследователи считают, что главная роль источника заболевания принадлежит человеку, который с фекалиями выделяет инвазионные цисты гиардий. Человек может заражаться от другого человека но, возможно, от животных (собаки, кошки, кролики, жвачные), которые также являются источником инвазионных цист [1, 5].

Результаты диагностических исследований методом ПЦР приведены в таблице 2.

По результатам исследований фекалий с использованием метода ПЦР получено 29 (34,93%) положительных проб на наличие *Giardia intesninalis*, 18 (21,68%) – на наличие *Cryptosporidium parvum* и смешанная инвазия *Giardia intesninalis*+*Cryptosporidium parvum* – 10 (12,04%).

Таблица 2 - Результаты исследований фекалий собак методом ПЦР

Возбудитель	Количество обследованных собак	Количество пораженных собак	Экстенсивность поражения, %
<i>Giardia intesninalis</i>	83	29	34,93
<i>Cryptosporidium parvum</i>		18	21,68
<i>Giardia intesninalis</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>		10	12,04

По данным иностранных исследователей установлено широкое паразитоносительство *Giardia intesninalis* и *Cryptosporidium parvum* среди собак в разных странах [10, 12, 18, 19, 23].

Заключение. Таким образом, внедрение методов серологически-иммунологической диагностики дает возможность углубленного изучения роли животных как источника возбудителей опасных протозоозов.

Выводы

1. По результатам проведенных исследований 85 собак методом ИФА установлена токсоплазмозная инвазия среди популяции беспризорных собак. Количество пораженных животных с титром антител 1:128 и выше составило 28,2%.

2. При исследовании 70 собак методом ИФА на гиагридоз положительные результаты (титр антител 1:128 и выше) получены в 56 пробах, что составило 80%. Собак с титром антител 1:256 – 1:16384 установлено 40 (57,14%). Проб с титром антител 1:1024 – 1:16384 зарегистрировано 12 (17,14%). Животных с титром 1:128 установлено 16 (22,85%).

3. Результаты исследований фекалий с помощью ПЦР на наличие ДНК возбудителей *Giardia intesninalis* и *Cryptosporidium parvum* указывают на распространение этих простейших среди обследованных животных. Среди 83 обследованных собак установлено 29 (34,93%) положительных проб на *Giardia intesninalis* и 18 (21,68%) - на *Cryptosporidium parvum*. Смешанная инвазия видами *Giardia intesninalis*+*Cryptosporidium parvum* зарегистрирована у 10 собак (12,04%).

Литература

1. Бодня К.И. Лямблиоз, проблемы и перспективы диагностики / К.И. Бодня, О.И. Повгородняя / К.И. Бодня // Вестник зоологии. Паразитология и современность: Мат. науч.-практ. конф. УНОП. – Киев, 2005. – № 19. – Ч. I. – С. 58-60. 2. Зон Г.А. Лямблиоз тварин (Огляд) / Г.А. Зон, Є.В. Ващик // Ветеринарна медицина України. – 2009. – № 1. – С. 9-13. 3. Локтева И.М. Некоторые особенности распространения лямблиоза как самостоятельной и сочетанной инвазии / И. М. Локтева [и др.] // II

- всесоюзний съезд паразитологов: тезисы докладов. – Киев: Наукова думка, 1983. – С. 193-194. 4. Новивкова Т.В. Диагностика токсоплазм методом РНИФ у мелких домашних животных / Т.В. Новивкова // Тр. Всерос. Ин-та гельминтологии. – М., 2005. – Т. 41. – С. 270-273. 5. Падченко И.К. О возможном участии собаки в эпидемиологии лямблиозной инвазии / И.К. Падченко, Н.Г. Столярчук // Тр. VI науч. конф. паразитологов УССР: Проблемы паразитологии. – Киев: Наукова думка, 1969. – Ч 2. – С. 380-382. 6. Пономаренко В.Я. Паразитози безпритульних собак – небезпека для здоров'я людини / В.Я. Пономаренко, О.Ф. Федорова, В.С. Булавина // Ветеринарна медицина України. – 2009. – № 12. – С. 14-17. 7. Пономаренко В.Я. Методи діагностики токсоплазмоза животных – взгляд на проблему / В.Я. Пономаренко, Ж.С. Николаенко // Проблеми ветеринарного обслуговування дрібних домашніх тварин: зб. матеріалів. третьої міжнар. наук.-практ. вет. конференції. – Полтава, 2004. – С. 119-120. 8. Пономаренко В.Я. Розповсюдження гіардіозу (лямбліозу) серед безпритульних собак м. Харків / В.Я. Пономаренко, В.С. Булавина // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: зб. наукових праць. Ветеринарні науки. – Харків, 2009. – Випуск 19. – Ч. 2. – Том 1. – С. 225-229. 9. Aslantaş O. Seroepidemiology of leptospirosis, toxoplasmosis, and leishmaniosis among dogs in Ankara, Turkey / O. Aslantaş, V. Ozdemir, S. Kiliç [et al] // *Vet Parasitol.* – 2005. – Vol. 129, № 3-4. – P.187-191. 10. Capelli G. *Giardia* species and other intestinal parasites in dogs in north-east and central Italy / G. Capelli // *Vet. Rec.* – 2006. – Vol. 159, № 13. – P. 422-424. 11. Chandrawathani P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in pigs, goats, cattle, dogs and cats in peninsular Malaysia / P. Chandrawathani, R. Nurulaini, C.M. Zanin [et al] // *Tropical Biomedicine.* – 2008. – Vol. 25, № 3. – P. 257-258. 12. Cirak V. Comparison of conventional coproscopical methods and commercial coproantigen ELISA kits for the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* infection in dogs and cats / V. Cirak, C. Bauer // *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* – 2004. – Vol. 117. – P. 410-413. 13. Dan-Sheng Lin Seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in stray dogs in Taipei / Dan-Sheng Lin, Andrew Chang-Young Fei, Ping-Her Mar [et al] // *BioFormosa.* – 2004. – Vol. 39, № 1. – P. 1-6. 14. Deise A.O. Detection of *Toxoplasma gondii*-Specific Antibodies in dogs. A Comparative Study of Immunoenzymatic, Immunofluorescent and Haemagglutination Titers / A.O. Deise, D.C. Dagmar, L.D. Bernardette Bernardina [et al] // *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* – 1997. – Vol. 92, № 6. – P. 785-789. 15. Dubey J. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in dogs from Grenada, West Indies / J.Dubey, D.Stone, O.Kwok [et al] // *J. Parasitol.* – 2008. – Vol. 94, № 3. – P. 750-751. 16. Jittapalpong Sathaporn Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand // Sathaporn Jittapalpong, Burin Nimsupan, Nongnuch Pinyopanuwat [et al.] // *Veterinary Parasitology.* – 2007. – Vol. 145, № 1-2. – P. 138-141. 17. Jittapalpong S. Coinfection of *Leptospira* spp and *Toxoplasma gondii* among stray dogs in Bangkok, Thailand / S. Jittapalpong, P. Sittisan, T. Sakpuaram [et al.] //

- Southeast Asian J. Trop. Med. Public health. – 2009. – Vol. 40, № 2. – P. 247-252.
18. Hamnes I.S. A longitudinal study on the occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in dogs during their first year of life / I.S. Hamnes, B.K. Gjerde, L.J. Robertson // Acta. Vet. Scand. – 2007. – Vol. 49. – P. 22.
18. Giangaspero A. *Giardia* and *Cryptosporidium* and public health: the epidemiological scenario from the Italian perspective / A. Giangaspero, F. Berrilli, O. Brandonisio // Parasitol. Res. – 2007. – Vol. 101, № 5. – P. 1169-1182.
19. Luptáková L. Serological detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in animals kept in households // Luptáková L., Bálent P., Valenčáková A. [et al.] // Folia veterinaria. – 2009. – Vol. 53, № 2. – P. 87-89.
20. Macri G. Comparison of indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G antibodies in dog and cat // G. Macri, M. Sala, A.Linder [et al.] // Parasitol. Res. – 2009. – Vol. 105, № 1. – P. 35-40.
21. Moura A.B. Occurrence of antibodies and risk factors for infection for *Toxoplasma gondii* in dogs in the cities of Lages and Balneario Camboriú, Santa Catarina State, Brazil / A.B. Moura, A.P. Souza, A.A. Sartor [et al.] // Rev. Bras. Parasitol. Vet. – 2009. – Vol. 18, № 3. – P.52-56.
22. Ponce-Macotella M. *Giardia intestinalis* and other zoonotic parasites: prevalence in adult dogs from the southern part of Mexico City / M. Ponce-Macotella, G. Peralta-Abarca, M. Martínez-Gordillo // Vet. Parasitology. – 2005. – Vol. 131, № 1-2. – P. 1-4.
23. Öncel T. Determination of seropositivity for *Toxoplasma gondii* in stray dogs in Istanbul, Turkey / T. Öncel, E. Handemir, K. Kamburgil [et al.] // Revue Méd. Vét. – 2007. – Vol. 158, № 5. – P. 223-228.
24. Yu-Jen Tsai Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray dogs in Taipei, Taiwan / Yu-Jen Tsai, Wen-Cheng Chung, Andrew C. Y. Fei [et al.] // Journal of Parasitology. – 2008. – Vol. 94, № 6. – P. 1437-1437.

УДК. 616. 076. 5

БОРЬБА С ЦИСТИЦЕРКОЗОМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В РЕСПУБЛИКЕ ТАДЖИКИСТАН

Разинов Ш.Ш.

Таджикский аграрный университет им.Ш.Шохтемур

Шерхонов Т.

Республиканский центр по борьбе с тропическими заболеваниями,
Таджикистан

В Таджикистане цистицеркоз крупного рогатого скота распространен в ряде районов республики и особенно в хозяйствах, расположенных в предгорных и горных зонах. По отчетным данным, в 2000 – 2005 годах инвазированность животных составляла 1,6 – 1,8. Наши исследования показали, что в отдельных пунктах она достигает 2,6.