

УДК: 619:616.995.132:636.3

МЮЛЛЕРИОЗ МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА: ПРОМЕЖУТОЧНЫЙ ХОЗЯИН, ЛАБОРАТОРНАЯ МОДЕЛЬ**Белугина Т.А.**

ОГУ «Смолоблветлаборатория», г. Смоленск, Россия

Разработка эффективной модели борьбы против мюллерриоза мелкого рогатого скота возможна при изучении биологии возбудителя в промежуточном хозяине, а также на лабораторной модели.

The struggle against mulleriosis of small cattle will be effective in case of the exploration of pathogen's biology in the alternate host as well as on the laboratory model.

Введение. Мюллерриоз – гельминтозное заболевание мелкого рогатого скота, возбудителем которого является легочная нематода *Muellerius capillaris* [1]. При этом в эпизоотологический процесс вовлечены три популяции: паразит - *Muellerius capillaris*, промежуточный хозяин – более 200 видов наземных моллюсков и дефинитивный – овцы, козы, а также дикие жвачные – косули, серны, безоаровые козлы и европейские муфлоны. О повсеместном распространении инвазии свидетельствует широкий спектр промежуточных хозяев – сухопутных моллюсков. Зараженность коз в Смоленской области поголовная, овец - до 65% [2]. Однако долгое время было неясно, какие изменения происходят, когда личинка 1 стадии проникает в организм моллюска до момента достижения ею инвазионного состояния. В связи с этим нами выполнен ряд исследований по изучению методов прижизненной диагностики на зараженность сухопутных моллюсков с целью гельминтологической оценки пастбищ [2].

При организации профилактических мероприятий и изыскании средств борьбы с паразитарными болезнями актуальным является создание лабораторной модели [3]. В ветеринарной и медицинской практике лабораторных животных используют в качестве метода для диагностики инфекционных болезней, основанного на заражении лабораторных животных исследуемым материалом с целью обнаружения и идентификации возбудителей или их токсинов, т.е. для подтверждения диагноза, а также в качестве способа контроля биологических препаратов (вакцин, сывороток), основанного на их введении лабораторным животным с целью оценки токсичности, пирогенности и иммунологической активности [5].

В создании лабораторной модели очень важную роль играет выбор лабораторного животного. Наиболее часто используют животных отряда грызунов (*Rodentia*): из семейства мышевидных (*Muridae*) — белых мышей и крыс, из семейства хомяковых (*Cricetus*) — обыкновенных хомяков, но лучше сирийских или золотистых; из семейства свинок (*Caviidae*) — морских свинок; из семейства зайцев (*Leporidae*) — кроликов. Однако, кроме вышеуказанных животных, используют и других [2]. Так, при диагностике гриппа, болезни Ньюкасла кур используют здоровых особей этого вида птиц. Для подтверждения диагноза на инфекционную анемию лошадей используют для заражения молодых жеребят, для подтверждения диагноза на рожу свиней нередко используют голубей. В качестве лабораторных моделей в диагностических вирусологических лабораториях довольно часто используют 7-9-суточные эмбрионы кур и других видов птиц (уток, перепелов) [6].

Основными требованиями к животным-биомоделям являются:

- чувствительность к данному возбудителю;
- одинаковые параметры физиологического состояния;
- их относительно низкая стоимость [3].

В настоящее время разработаны лабораторные модели многих инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной этиологии, однако очень мало сведений о моделировании инвазионных заболеваний. Задачей создания данной лабораторной модели является изучение жизненного цикла, патогенеза, эпизоотического процесса заболевания, поиска лечебных препаратов повсеместно распространенных, но мало изученных легочных нематод семейства *Protostrongylidae*, включающих более 58 видов [1,8].

Материалы и методы. В качестве промежуточных хозяев паразитов были использованы моллюски нескольких видов: *Helix pomatia*, *Helix vulgaris*, *Bradybaena fruticum*, *Succinia putris*. Методы заражения их личинками мюллерий делили на естественные и искусственные [7].

При заражении моллюсков естественным путем последних помещали в прозрачные емкости высотой не менее 18 см, шириной до 10 см, на дно которых в один слой укладывали фекалии от спонтанно инвазированных животных или в прозрачные пластиковые бутылки емкостью от 1 до 2 литров. В последнем случае в бутылки или через горлышко, или разрез на стенке также вносили фекалии от инвазированных животных. Подсаженные моллюски в течение нескольких (3-5) минут свободно передвигались по фекальным шарикам. При выползании на стенки емкостей их снова возвращали переносом тела на фекальные массы или встряхиванием бутылки [3].

Кроме группового использовали индивидуальный метод заражения, отличающийся тем, что моллюска подошвой вверх фиксировали за раковину левой рукой, а правой, с зажатым браншами пинцета фекальным шариком - контактировали с подошвой. Для заражения одного моллюска использовали 2-3 фекальных шарика [3].

Искусственное заражение моллюсков представлено несколькими методами, с использованием для получения материала метода Ветцеля-Орлова. При заражении данными методами необходимо соблюдать ряд общих требований: общий объем вводимой жидкости не должен превышать 2 мл с содержанием личинок мюллерий 70-72 экземпляра [3].

Метод 1. Полученных личинок под МБС (8x4) набирали в шприц «Луер» и без соблюдения стерильности инъецировали слева и справа в 4-5 точек подошвы, отступя 3-5 мм от края и 1-2 мм от pedalной железы. Глубина введения иглы составляла не менее половины толщины ноги улитки.

Метод 2. Отличающийся тем, что полученную культуру личинок без соблюдения стерильности инъецировали под мантию моллюска через проделанное окно в раковине.

Метод 3. Отличающийся тем, что полученную культуру личинок без соблюдения стерильности через проделанное окно в раковине насаивали на мантийную складку в области легкого моллюска.

Метод 4. Культуру личинок в том же объеме и количестве заразного материала вводили в ротовое отверстие улиток с помощью пластмассовой или с защищенным наконечником металлической иглы (но не более 2 мм). Глубина введения иглы в ротовое отверстие не более 0,5 см [3].

Подопытных моллюсков помещали в прозрачные емкости, стеклянные или пластмассовые, объемом от 0,5 л и более. С 26-го дня емкости 1-2 раза в сутки ополаскивали обычной водопроводной водой и через ситечко (1-2 мм) сливали смыв, который просматривали в чашках Петри под МБС (8x4). При микроскопии осадка обнаруживали инвазионных личинок мюллерий [3].

Диагностику на зараженность моллюсков осуществляли двумя способами. При первом способе готовили искусственную среду с pH 3,2-3,5. С этой целью 10 мл концентрированной соляной кислоты переливали в колбу на 1000 мл и заливали не менее 100 мл дистиллированной воды. Затем в колбу вносили 4 г пелсина свиного активностью до 1 тыс. ЕД. Колбу закрывали пробкой и осторожно перемешивали содержимое. Затем колбу открывали и дистиллированной водой объем доводили до 1000 мл. Приготовленная среда может сохранять активизирующую способность на личинок мюллерий не менее одного месяца. Ножницами отсекали подошвы исследуемых моллюсков и по 6-10 экземпляров помещали в чашку Петри. Заливали выше уровня подошв приготовленной средой и создавали естественные условия внешней среды - от 18 до 30 °С. Через час микроскопировали на столике МБС (8x4) дно чашек Петри на наличие вышедших из подошвы личинок мюллерий. Процедуру микроскопии с таким же интервалом, без удаления подошв моллюсков из чашек Петри, повторяли три раза. При отрицательном результате там же, в чашках, проводили 1-2 контрольных соскоба подошвы и сразу же, после оседания взвеси, микроскопировали [3].

При втором способе зараженность моллюсков определяли путем микроскопии соскоба с подошвы ноги моллюска. Прижимая скальпель к ноге (подошве) - повернутого вверх моллюска проводили направленное движение по ней - спереди назад. Полученную каплю слизи переносили на предметное стекло, легко сдавливали покровным или вторым предметным стеклом и микроскопировали на наличие личинок мюллерий на различных стадиях развития. При данном методе положительный результат можно получить с 7 дня, с момента заражения моллюсков естественным способом [3].

Таким образом были получены инвазионные личинки *Muellerius capillaris*, необходимые для последующего заражения лабораторных животных.

У моллюсков на примере *Helix pomatia*, *Helix vulgaris* исследовали на наличие личинок мюллерий, не только тело подошвы, но также и участок мантии, выполняющей роль легкого. Отсеченный орган отдельно от тела подошвы, помещали в чашки Петри в искусственную среду [3].

Объектами для создания лабораторной модели с целью изучения протостронгилид овец, коз были выбраны золотистые хомячки массой не менее 50 граммов в возрасте 6 месяцев и старше. Для подавления резистентности организма животным вводили подкожно суспензию гидрокортизона в область лопатки в дозе 150 мг/кг в течение 3 дней до заражения инвазионными личинками *Muellerius capillaris*, как наиболее распространенного вида протостронгилид овец и коз в Смоленской области. На 4 день золотистых хомячков орально заражали инвазионными личинками, полученными из моллюсков, зараженных различными способами, в дозе 100-150 экземпляров на голову. Одновременно зараженным животным подкожно инъецировали суспензию гидрокортизона в вышеотмеченной дозе и помещали в виварий. На пятый день хомячкам вновь инъецировали подкожно в той же дозе суспензию гидрокортизона.

Результаты исследований. До четвертого дня развития с момента проникновения в моллюска самопроизвольный выход личинок происходил после помещения в чашки Петри между 20-40 минутами. С пятых по девятые сутки отмечали в тот же временной промежуток выпадение капсул с включенными в них личинками. Капсулы округлые, серого цвета - в течение 15-20 минут капсулы растворялись, освобожденные личинки оставались на дне чашек. Чем длительнее был процесс заражения, тем быстрее (15-20 минут) и в большом количестве (до 30 экз.) на одну особь моллюска личинки выходили в искусственную среду. С 17-18 дня после проникновения у выходящих личинок заметен процесс линьки и наличие на хвостовом конце сползающей кутикулы.

При микроскопии отсеченного участка мантии моллюска, помещенного в активизирующую среду, обнаруживали личинок разной степени зрелости.

У пульмонат, при любом способе заражения, личинок мюллерий в легком начинали обнаруживать с 7 дня.

Процесс выхода личинок мюллерий через дыхательное отверстие моллюска, зараженного искусственным способом, продолжался 28-30 дней.

С 26 дня личинки мюллерий достигали инвазионной стадии.

В результате заражения золотистых хомячков личинками инвазионными личинками мюллерий на 18-20 сутки с момента заражения отмечались первые клинические проявления заболевания: общее состояние угнетенное, отказ от корма, тусклость шерстного покрова, частый кашель. В этот же временной промежуток отмечена самая высокая смертность хомячков. При вскрытии павших животных обнаружены патологические изменения воспалительного характера верхней доли легкого. Легкие темно-вишневого цвета, отечны. При микроскопическом исследовании пораженных участков легкого путем соскоба с легкого были обнаружены личинки *Muelleriuscapillaris*. Через 40-42 дня нематоды достигли половой зрелости и начали с фекалиями выделять личинок.

Заключение. Результаты исследований и анализ литературы позволяют заключить, что эффективная борьба с протостронгилидами мелкого рогатого скота возможна только при подробной изученности биологии возбудителя, в частности в промежуточном хозяине - многих видов сухопутных моллюсков, а использование предложенной лабораторной модели может послужить более углубленному изучению жизненного цикла, патогенеза, эпизоотического процесса заболевания, а также поиску новых и усовершенствованию уже существующих лечебных препаратов.

Литература. 1. Карасев Н. Ф., Ятусевич А. И., Якубовский М. В. *Паразитология и инвазионные болезни животных.* - Минск, 2007 г.; 2. Кротенков В.П. *Эколого-эпизоотические особенности и профилактика легочных нематодозов мелкого рогатого скота в Западном регионе РФ.* - М.: 2006; 3. Гамалея Н. Ф., Мечников И. И., Тимирязев К. А. *Пастер* // брошюра — М.: — Изд. АН СССР, 1946; 4. Кротенков В.П. *Методические рекомендации по изучению жизненного цикла протостронгилл на примере личиночных стадий Muellerius capillaris (Mueller, 1889) Cameron 1927.* - Смоленск, 2004; 5. *Краткая медицинская энциклопедия*, издательство "Советская Энциклопедия", издание второе, Москва, 1989; 6. Г. Урхарт, Дж. Эрмур, Дж. Дункан и др. *Ветеринарная паразитология.* - М.: «Аквариум», 2000г.; 7. Иванов А.В., Мончадский А.С., Полянский Ю.И., Стрелков А.А. *Большой практикум по зоологии беспозвоночных. Ч. II*, под ред. Полянского Ю.И. М.: "Советская наука", 1946; 8. *Под ред. Акбаева М.Ш. Паразитология и инвазионные болезни животных.* - М: Колос, 2001г.

УДК 619:616.995.121

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ ЛИЧИНОЧНЫХ ЦЕСТОДОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Дубина И.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г.Витебск, Республика Беларусь

В статье приведены данные по оценке терапевтической эффективности альбендазола и фенбендазола при острой и хронической фазах личиночных цестодозов животных.

The article features the data on evaluation of therapeutic efficacy of albendazol and fenbendazol for acute and chronic forms of larval cestodoses.

Введение. Одной из важнейших проблем сельскохозяйственного производства является наращивание объемов производимой продукции и повышение ее качества.

Проведенные исследования по изучению паразито-хозяйственных взаимоотношений при личиночных цестодозах животных показывают выраженное воздействие личиночных форм цестод на качество получаемой продукции [1, 2, 3, 4].

Несмотря на то, что в большинстве случаев мясо, полученное от животных, пораженных личиночными формами цестод, по органолептическим свойствам было практически идентично мясу здоровых животных, по физико-химическим и биохимическим показателям оно значительно уступало ему (таблица 1, 2).

Таблица 1 – Физико-химические показатели мяса свиней

Показатели	Характеристика показателей мяса свиней	
	здоровых	Пораженных <i>Echinococcus granulosus</i> L.
рН	5,2-5,9	6,3-6,6
Аминоаммиачный азот, г/л	1,16-1,23	1,28-1,71
Реакция на пероксидазу	положительная	сомнительная
Реакция с CuSO_4	отрицательная	сомнительная
Летучие жирные кислоты, мг КОН	2,92-3,67	4,25-7,0

Таблица 2 – Физико-химические показатели мяса овец

Показатели	Характеристика показателей мяса овец	
	здоровых	Пораженных <i>Cysticercus tenuicollis</i>
рН	5,42- 5,92	6,03-6,28
Аминоаммиачный азот, г/л	до 0,95	1,28-1,90
Реакция на пероксидазу	положительная	сомнительная
Реакция с CuSO_4	отрицательная	сомнительная
Летучие жирные кислоты, мг КОН	2,19-3,08	3,96-6,72

Широко е распространение личиночных форм цестод среди сельскохозяйственных и охотничье-промысловых животных, при значительном воздействии паразитов на организм хозяев, требует совершенствования комплекса мероприятий по профилактике и ликвидации личиночных цестодозов животных [4, 5, 6].

Важную роль в комплексе противогельминтных мероприятий продолжает играть специфическая дегельминтизация животных. В свою очередь, успех дегельминтизации зависит от наличия высокоэффективных и малотоксичных противогельминтных средств, многие из которых, несмотря на широкий ассортимент, не соответствуют современным требованиям. Поэтому дальнейшее изучение имеющихся противогельминтных препаратов остается в настоящее время актуальной задачей.

Цель работы. Оценить возможность химиотерапии личиночных цестодозов животных при различных стадиях развития ларвоцист.

Материалы и методы. Анализ литературных данных показал, что в ветеринарной и медицинской практике для лечения различных ларвальных тенидозов чаще всего используют альбендазол, панакур, мебендазол и паразиквантель [7, 8, 9].

Мы остановили свой выбор на альбендазоле и фенбендазоле в связи с их доступностью, невысокой ценой и высокой эффективностью при имагинальных формах цестод.

В опытах по изучению возможности лечения личиночных цестодозов животных проведены исследования на экспериментально зараженных овцах и кроликах.

Клиника личиночных цестодозов в подавляющем большинстве случаев характеризуется в разной степени выраженными неспецифическими расстройствами, связанными с развитием общепатологических процессов и интоксикаций организма, зависящих от степени нарушения функциональной активности поражаемых органов.