

Диагностика гельминтозов

Прежде чем проводить лечебно-профилактические мероприятия при определенных гельминтозах сельскохозяйственных и промысловых животных, необходимо своевременно поставить точный диагноз болезни. Существуют две группы методов диагностики гельминтозов - прижизненные и посмертные. Кроме того, надо уметь дифференцировать гельминтозы и другие инвазионные, а также инфекционные заболевания.

Диагностика гельминтозов включает в себя:

- Прижизненная диагностика
 - изучение эпизоотической ситуации
 - диагностика болезней по клиническим признакам
 - лабораторная диагностика
- Посмертная диагностика
 - полное гельминтологическое вскрытие
 - неполное гельминтологическое вскрытие органов и тканей

На основании эпизоотологического исследования делается оценка эпизоотической ситуации и организации мероприятий по профилактике и ликвидации болезней, в том числе инвазионных

При диагностике многих гельминтозов сельскохозяйственных животных значительную помощь оказывают эпизоотологические данные (неблагополучие хозяйства по конкретным болезням, сезон года, возраст больных животных, характер пастбищ и водоисточников, метеорологические условия и др.).

Например, массовое заболевание с признаками брюшных водянок и падеж овец осенью после дождливого лета и использование под выпасы заболоченных участков пастбищ дает основание заподозрить?.....





острую форму фасциолеза



А по факту мы имеем дело с беременностью

При изучении эпизоотической ситуации обращают внимание на:

1. Вид, возраст, пол, породу дом. жив.
2. Данные вет. отчетности (за последние 5-10 лет)
3. Данные мед. отчетности
4. Наличие диких животных и их контакта с домашними животными (крс, лоси, дикие и дом. плотоядные)
5. Условия содержания, кормления и системы выращивания

При изучении эпизоотической ситуации обращают внимание на:

6. Природно-географическую зону региона (макрактаринхоз)
7. Природно-очаговое распространение болезни (трихинеллез и др.)
8. Сезонность проявления болезни (диктиокаулез – весной, летом)
9. Наличие промежуточных, дополнительных, резервуарных хозяев и специфических переносчиков на данной территории

При изучении эпизоотической ситуации :

10. Осуществляют сбор, консервацию и пересылку паразитов как в научных целях, так и в практической работе
11. Для консервации трематод, цестод и акантоцефал применяют 70% спирт, нематод – жидкость Барбагалло
12. Для консервации простейших используют консервант Турдыева

Барбагалло жидкость
(*Barbagallo, итал. ученый XIX в.*)
жидкость, используемая для консервирования
круглых гельминтов: 3% раствор формалина в
физиологическом растворе поваренной соли



Консервант Турдыева: 0,2 % водный раствор нитрита натрия — 80 мл, раствор Люголя (к 1:4, 1:2) — 8 мл, формалин концентрированный — 10 мл, глицерин — 2 мл.

Диагностика болезней по клиническим признакам:

затруднительна, т.к

- a) Симптомокомплекс гельминтозов часто неспецифичен
- b) Для данных болезней чаще свойственно хроническое течение
- c) Однако при ряде гельминтозов наблюдают характерные клинические симптомы: нервные явления (ценуроз), конъюнктивит и кератит (телязиоз)

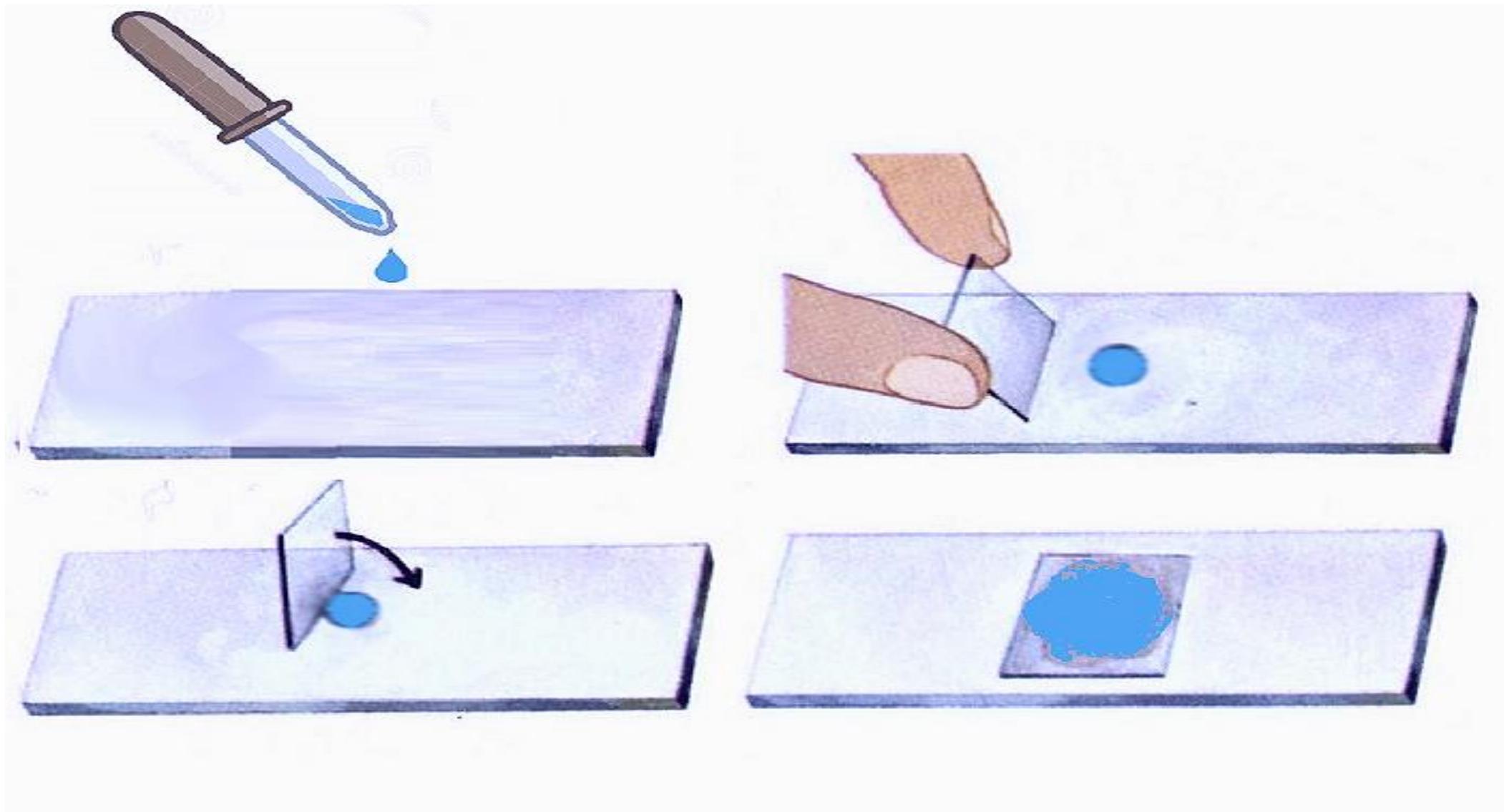
Методы прижизненной диагностики гельминтозов животных Гельминтоскопия.

Для нахождения гельминтов в экскрементах поступают следующим образом. Фекалии смешивают с водой и дают смеси отстояться. Через некоторое время верхний слой сливают, а к осадку добавляют свежую порцию воды, так повторяют несколько раз. Тем самым удаляется большая часть посторонних веществ, а в осадке остаются паразиты (гельминты) и тяжелые нерастворимые части фекалий. Затем осадок исследуют макроскопически и микроскопически.

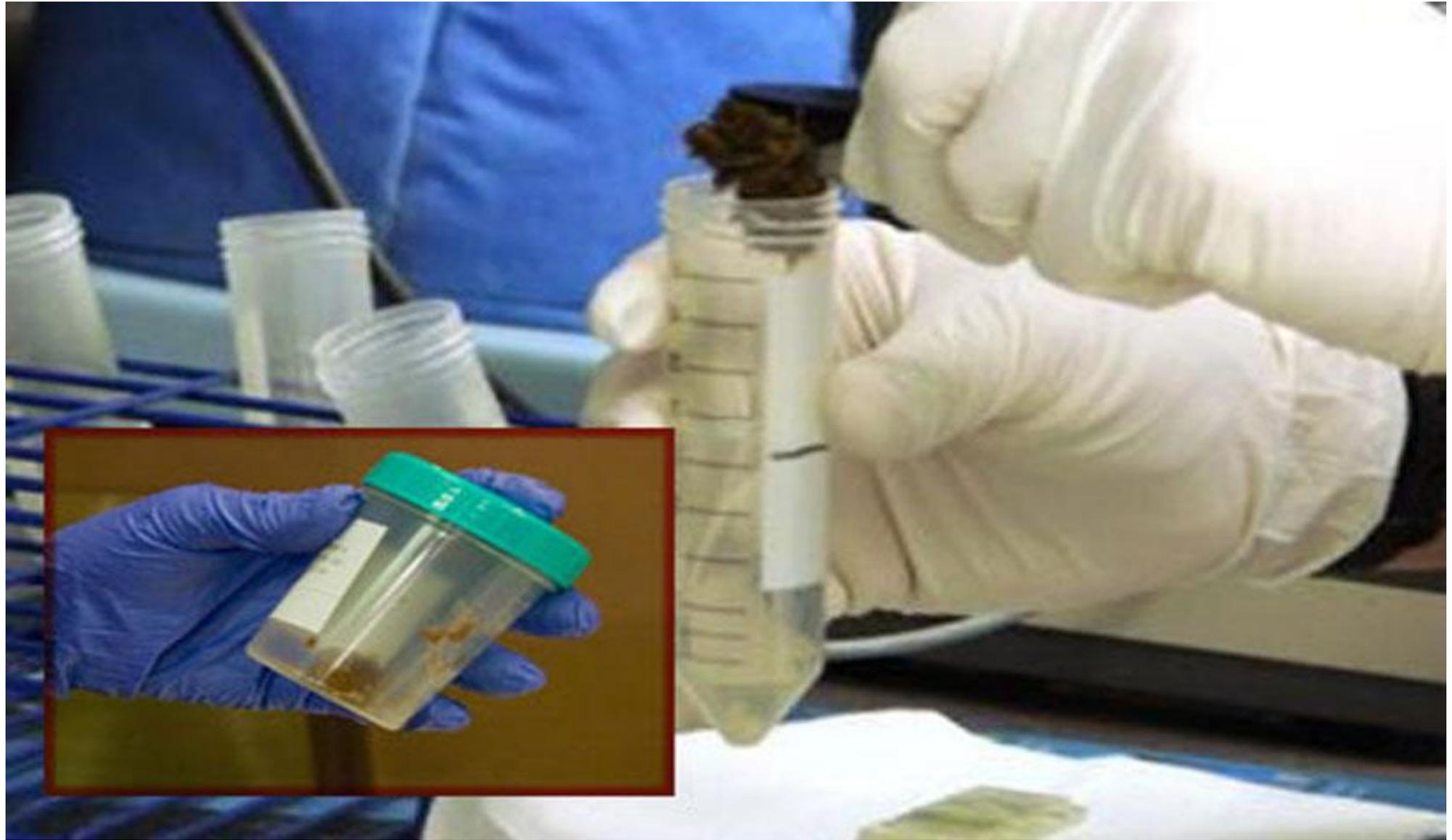
Макроскопические исследования. Промытый осадок фекалий вновь разбавляют водой, небольшими порциями наливают в черную кювету и при медленном покачивании ее осадок внимательно просматривают. Некоторые формы гельминтов будут лучше видны на черном фоне, другие (трематоды) – на белом. С этой целью одну половину кюветки рекомендуют покрывать белой эмалевой краской. Таким образом последовательно просматривают весь осадок. Обнаруженных гельминтов выбирают иглой или кисточкой и фиксируют.

Мелкие формы паразитов исследуют микроскопически с помощью лупы (6 – 10-кратное увеличение). Осадок просматривают небольшими порциями в чашках Петри при проходящем свете. Данный метод применяют также после дегельминтизации с целью учета результатов проведенного лечения.

Гельминтоовоскопия. Самый простой метод гельминтоовоскопического исследования – **метод нативного мазка.** Его можно применять в любых условиях у животных всех видов. Техника его такова. Небольшой, с горошину, кусочек фекалий берут стеклянной или деревянной палочкой, помещают на предметное стекло, добавляют 2 – 3 капли смеси равных частей глицерина и воды, тщательно смешивают. После удаления твердых частиц содержимое накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом. Вместо глицерина можно использовать каплю простой воды. Глицерин просветляет препарат, что облегчает исследование и предохраняет препарат от высыхания. От одного животного одновременно рекомендуют готовить 2–3 препарата.

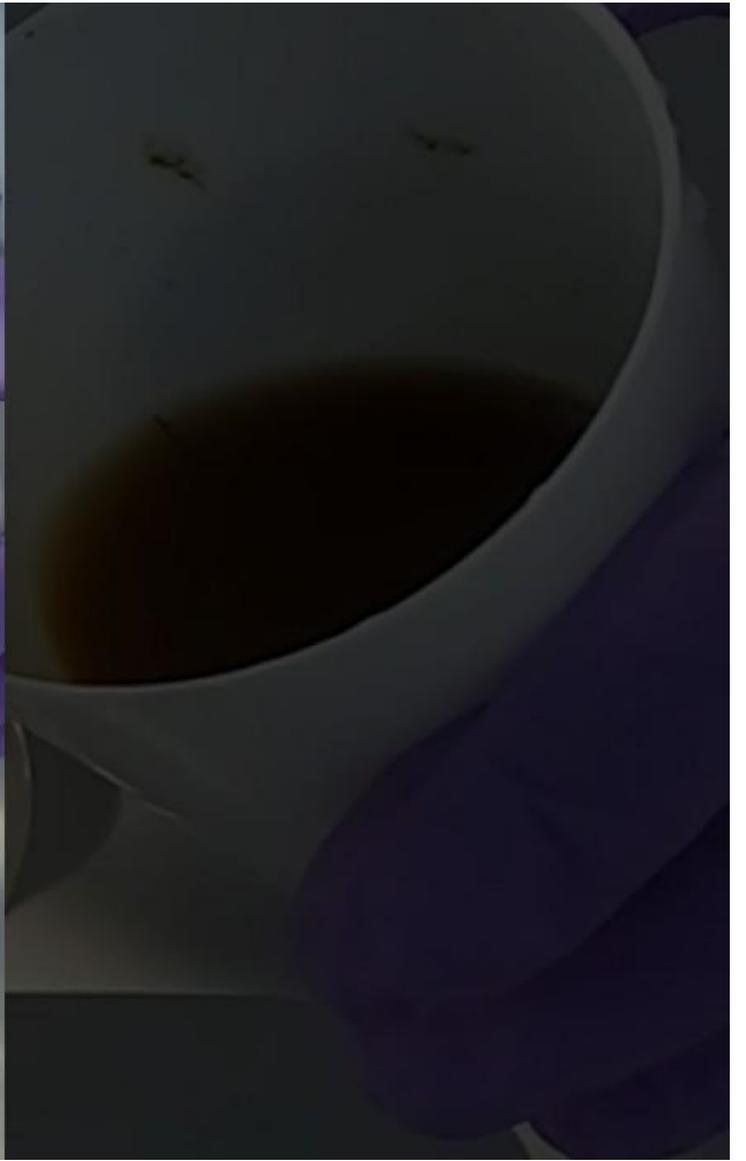
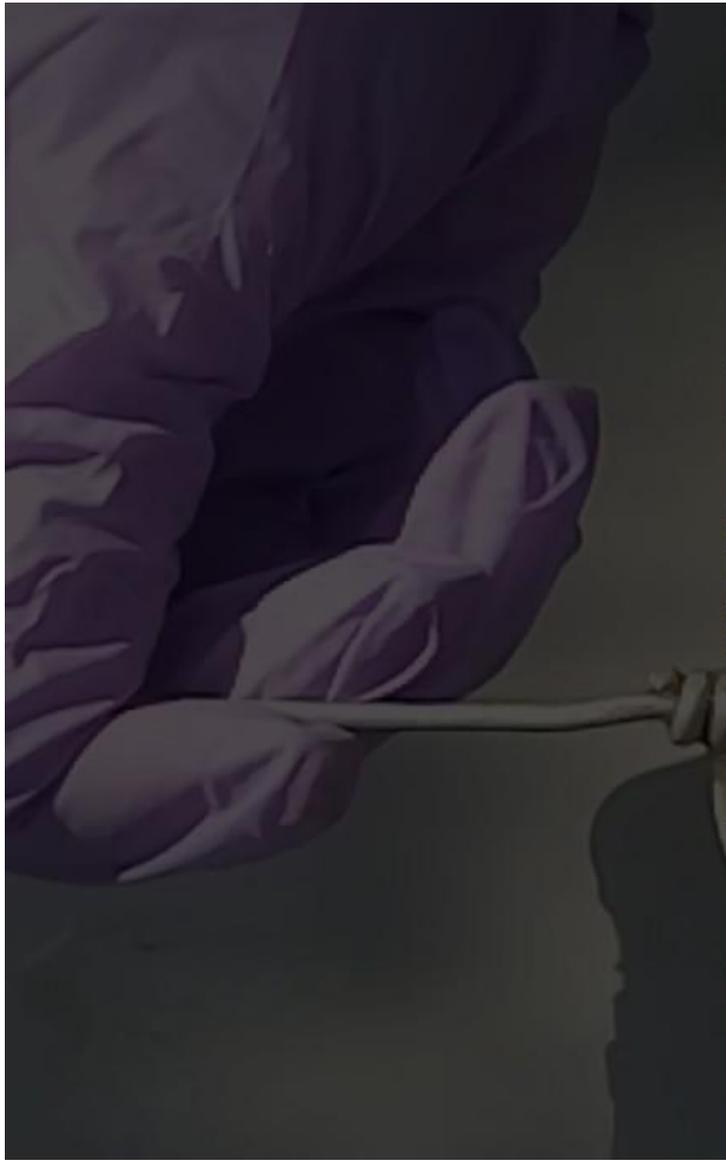


Метод последовательного промывания фекалий (метод седиментации). Небольшую порцию фекалий (5 – 10 г) смешивают с 10-кратным количеством воды. Смесь фильтруют через металлическое сито или марлю, отстаивают в течение 5 минут. После этого слой жидкости сливают, а к осадку добавляют чистую порцию воды и снова отстаивают в течение 5 минут. И так до тех пор, пока верхний слой жидкости не станет прозрачным. Верхний слой сливают, а весь осадок пипеткой наносят на предметное стекло и микроскопируют с целью обнаружения яиц гельминтов. Применяют для диагностики фасциолеза, парамфистоматоза и дикроцелиоза жвачных.



Флотационные методы.

Метод Фюллеборна. 10–20 г фекалий помещают в банку или стаканчик емкостью 100–200 мл и тщательно растирают стеклянной или деревянной палочкой в насыщенном растворе поваренной соли. В 1 л воды растворяют 400 г соли, нагревают до кипения и фильтруют через вату или марлю. Раствор употребляют холодным. Раствор приливают постепенно, все время перемешивая фекалии, причем общее количество добавляемого раствора должно быть примерно в 20 раз больше количества фекалий. Затем жидкость фильтруют через металлическое сито и оставляют на полчаса; за это время яйца всплывут на поверхность, так как у насыщенного раствора соли большая плотность, чем у яиц. С поверхности отстоявшейся жидкости металлической петлей (диаметром не более 1 см), согнутой под прямым углом, снимают пленку, переносят ее на предметное стекло и покрывают покровным стеклом. Полученный препарат исследуют под микроскопом.



Метод Н.В.Демидова (флотационно-седиментационный) используют для диагностики фасциолеза. Техника метода: пробы фекалий (от овец 3 г, от крупного рогатого скота 5 г) помещают в большой стакан, заливают насыщенным раствором поваренной соли и тщательно размешивают стеклянной палочкой до получения равномерной взвеси, отстаивают 15–20 мин, с поверхности совочком или чайной ложкой удаляют всплывшие крупные частицы. Затем поверхностную жидкость отсасывают спринцовкой или осторожно сливают, оставляя 20–30 мл ее над осадком. Далее к осадку добавляют воду до полного объема стакана и тщательно размешивают палочкой, взвесь фильтруют через сито с ячейками 0,25 мм (можно через один слой марли), жидкость из стаканов отсасывают спринцовкой, оставляя на дне 15–20 мл осадка. Осадок переливают в конические стаканчики, при этом прополаскивают водой большие стаканы и опять выливают смыв в маленькие. Взвесь отстаивают в конических стаканчиках 3–5 мин, затем жидкость отсасывают. Эту процедуру (промывание осадка) повторяют несколько раз, затем осадок переносят на предметное стекло и исследуют.



Метод Дарлинга комбинирует процедуры осаждения и флотации. Фекалии смешивают с водой до полужидкой консистенции и центрифугируют 3–5 мин, в результате чего яйца гельминтов осаждаются на дно. Затем жидкость из пробирки сливают, а к осадку прибавляют жидкость Дарлинга (глицерин, смешанный в равных частях с насыщенным раствором поваренной соли). Осадок тщательно размешивают и вторично центрифугируют 3–5 мин, после этого яйца паразитических червей из осадка всплывают на поверхность. Металлической петлей пленку снимают с поверхности пробы на предметное стекло, накрывают покровным и исследуют под микроскопом.



Метод Щербовича используют для обнаружения яиц с более высокой плотностью (метастронгилид). Растворяют 920,0 г сернокислой магнезии в 1 л горячей воды. Для исследования в стакан берут небольшое количество фекалий, добавляют воды и размешивают до получения равномерной взвеси. При помешивании эту взвесь процеживают через металлическое сито в пробирку и центрифугируют 1–2 мин. После этого верхний слой жидкости сливают, а к осадку добавляют раствор сернокислой магнезии. Осадок размешивают до получения взвеси и снова центрифугируют 1–2 мин. Затем копрологической петлей снимают верхнюю пленку из пробирки на предметное стекло, накрывают покровным и исследуют под микроскопом.

Метод Котельникова и Хренова. Пробу фекалий (3 г) кладут в стаканчик, заливают небольшим количеством раствора гранулированной или обычной аммиачной селитры и тщательно размешивают палочкой. При размешивании добавляют раствор порциями до объема 50 мл, затем взвесь фильтруют через чистое ситечко в другой стаканчик. Профильтрованную взвесь оставляют не менее чем на 10 мин. Прикосновением металлической петли к поверхности взвеси снимают 3–4 капли с разных мест и переносят на предметное стекло для микроскопии (при малом увеличении) с целью обнаружения яиц гельминтов. Металлическую петлю перед исследованием каждой пробы фламбируют или последовательно промывают водой в двух банках (воду в банках меняют после исследования 50 проб).

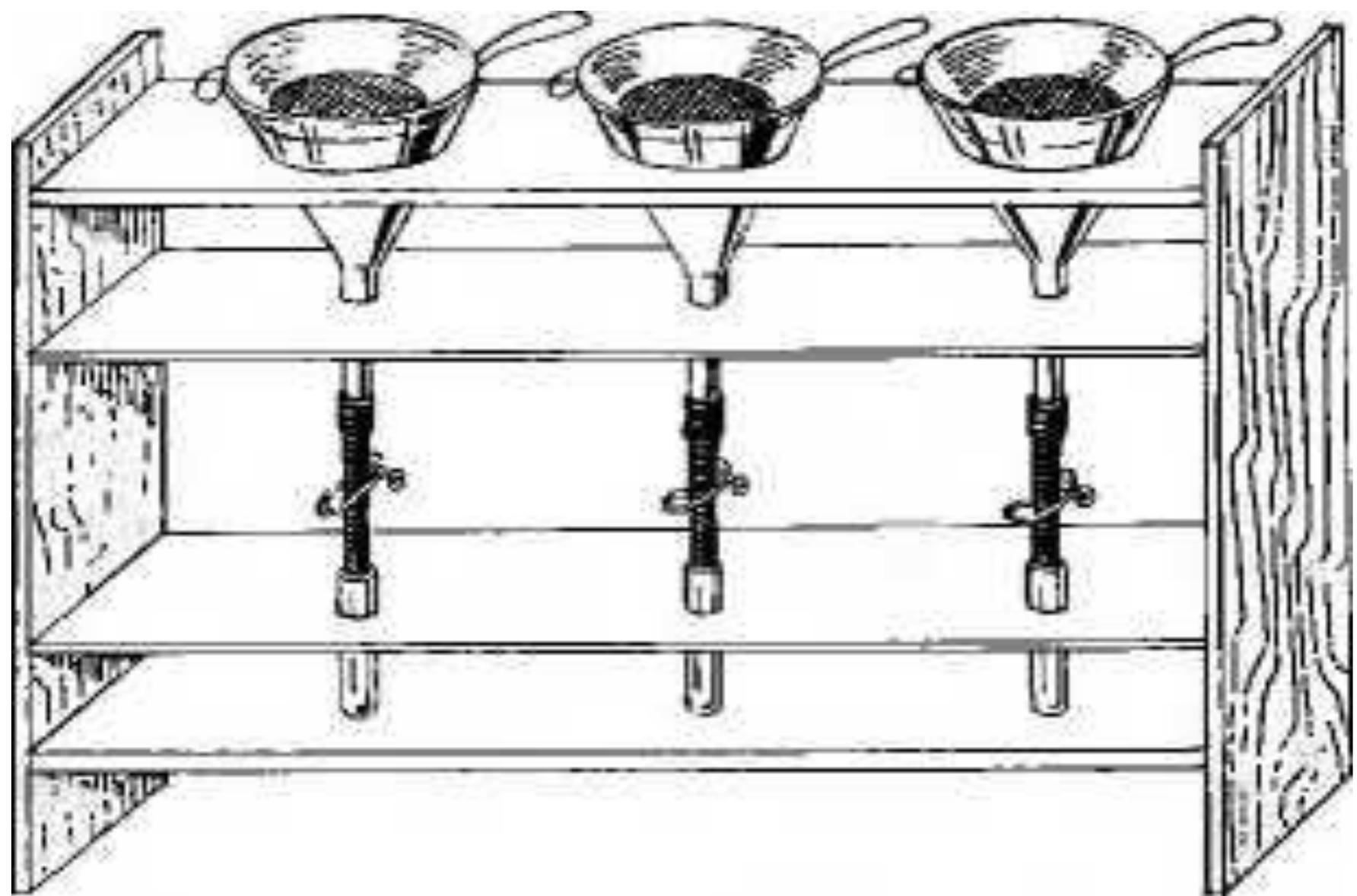
Метод седиментации с целлофановыми пленками (по Котельникову и Хренову). Готовят полоски гидрофильного целлофана размером 3х2 см, помещают их в чашки Петри с 50%-ным раствором глицерина или молочной кислоты и выдерживают 24 ч. Хранят полоски в чашках Петри в указанных растворах. Пробу фекалий (2 г) кладут в стаканчик с небольшим количеством воды и размешивают, добавляя воду до 50 мл. Затем взвесь фильтруют в другой стаканчик через ситечко и после 5-минутного отстаивания сливают надосадочную жидкость, а к осадку добавляют воду до объема 50 мл и таким же способом промывают осадок еще раз. После сливания надосадочного слоя осадок помещают на одно или несколько предметных стекол и покрывают обработанными целлофановыми пленками, которые просветляют препарат и предохраняют его от высыхания. Через 10 мин препарат микроскопируют. Пигментированные яйца гельминтов легко обнаруживаются. Метод применяют для диагностики гельминтозов, яйца возбудителей которых имеют золотистую, коричневую или желтую окраску (фасциолеза, дикроцелиоза, трихоцефалеза жвачных и свиней, аскаридоза свиней, параскаридоза лошадей, неоаскаридоза жвачных и др.).

Комбинированный метод (в модификации Котельникова и Хренова). Пробу фекалий (3 г) кладут в стаканчик, добавляют небольшое количество воды и тщательно размешивают палочкой, добавляя воду порциями до объема 50 мл. Смесь фильтруют через ситечко в другой стаканчик и отстаивают 5 мин. Верхний слой сливают. Осадок помещают в центрифужную пробирку, куда наливают насыщенный раствор гранулированной аммиачной селитры (1,5 кг аммиачной селитры растворяют в 1 литре воды) плотностью 1,3 и центрифугируют 1–2 мин. Затем копрологической петлей снимают 3 капли с поверхности взвеси и переносят на предметное стекло для микроскопирования с целью обнаружения яиц гельминтов.

Метод соскоба с перианальных складок. Самки некоторых нематод (представителей подотряда оксиурата) откладывают яйца в окружности ануса животного. Поэтому их легко обнаружить в соскобах, взятых из этой области. При помощи спички или специальной маленькой деревянной лопаточки, увлажненной жидкостью (глицерин с водой 1:1), производится соскоб с перианальных складок, с внутренней поверхности хвоста или промежности. Частицу соскоба помещают в каплю той же жидкости на предметное стекло, покрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом. Яйца оксиурат определяются по их характерной структуре.

Гельминтоларвоскопия – это методы, с помощью которых обнаруживают личинок гельминтов. Их применяют для диагностики диктиокаулезозов, мюллерриоза и других протостронгилидозов, а также стронгилятозов пищеварительного тракта жвачных и стронгилоидозов разных видов животных.

Метод Бермана и Орлова. Пробы фекалий (10 г) помещают в воронки аппарата Бермана на металлической сетке или завернутыми в кусочки марли. Предварительно воронки заливают водой комнатной температуры. Заполненный пробамии аппарат оставляют при комнатной температуре на 3–6 часов (за это время личинки нематод выползают из пробы в жидкость и опускаются по трубке на дно пробирки). Затем осторожно отсоединяют резиновые трубки и быстрым движением, не встряхивая осадок, сливают жидкость из каждой пробирки до осадка (можно отсасывать воду пипеткой). Пробирки ставят в штатив. Осадок после встряхивания разливают на предметные стекла и микроскопируют при малом увеличении. Личинки нематод подвижны, легко обнаруживаются. Вместо воронок в аппарате Бермана можно использовать резиновые груши со срезанным дном, в которые закладывают пробы. К наконечникам прикрепляют гельминтологические пробирки или же перекрывают их зажимами Мора.



Упрощенная модификация метода Бермана (по Щербовичу). В стаканчики с водой кладут пробы, завернутые в марлевые салфетки. Через 3–6 ч пробы вынимают, жидкость отстаивают 10–15 мин, после чего стаканчики наклоняют и из них пипеткой отсасывают прозрачный слой воды, пока не начнет всасываться осадок. Затем капли осадка пипеткой наносят на предметное стекло для микроскопии. Если осадок получается густой, то в стаканчик наливают воду и взбалтывают, затем отстаивают 10 мин, после чего верхний слой жидкости сливают. Пипетку после взятия каждой пробы тщательно промывают водой в двух банках (воду в банках меняют после исследования 50 проб).

Метод седиментации с центрифугированием (экспресс-методика по Котельникову, Корчагину и Хренову). Пробы фекалий (3–5 г) от овец и коз кладут в пробирки с водой температурой 20–22°. Пробирки центрифугируют со скоростью 1000–1500 об/мин в течение 2 мин. Затем пробы вынимают пинцетом, воду сливают до осадка, а осадок, встряхнув, выливают на предметное стекло и исследуют под микроскопом на наличие личинок.



Метод Вайда. На предметное или часовое стекло кладут несколько шариков свежесвыделенных фекалий овец, коз и добавляют небольшое количество воды с температурой около 40°. Если шарики помещают на предметное стекло, то достаточно несколько капель воды. Через 40 мин шарики удаляют, оставшуюся жидкость на стекле исследуют под микроскопом на наличие личинок нематод. Методика эффективна, если фекалии плотные.



Метод ларвоскопии по Мачульскому, Шабяеву и Фоминой для обнаружения личинок легочных и кишечных гельминтов в фекалиях, в срезах кожи крупного рогатого скота и лошадей. Берут два тигля Гуча (стаканчика). В один (внутренний) тигель с сетчатым дном (отверстия диаметром 0,8–1 мм) кладут фекалии и вставляют его в другой (наружный) тигель, заполненный на $1/3 - 3/4$ водой с температурой 45° . Через 2–3 ч внутренний тигель осторожно вынимают. Воду из наружного тигля сливают, оставляя на дне 1 – 2 мл осадка, который переносят на часовое стекло или в чашку Петри и микроскопируют.



Метод культивирования личинок. В желудочно-кишечном тракте жвачных и лошадей паразитирует большое количество гельминтов из подотряда Strongylata. Яйца этих гельминтов по своим размерам и строению идентичны. Поэтому гельминтоовоскопическими методами можно поставить лишь групповой диагноз на стронгилятозы. Дифференциально диагностируют стронгилят по инвазионным личинкам, которые имеют характерные для каждого рода и даже вида морфологические особенности и размеры. Для культивирования личинок берут небольшое количество свежих фекалий, помещают в стакан или банку. Пробы фекалий увлажняют, закрывают марлей или стеклом, ставят в теплое место или термостат при 25–27° на семь дней или на 10–12 дней при комнатной температуре. За этот период фекалии периодически увлажняют водой. После культивирования фекалии исследуют по методу Бермана.

Методика обнаружения личинок гельминтов в кале методом Бермана

На узкий конец стеклянной воронки надевают резиновую трубку с зажимом и укрепляют ее на металлическом штативе. В воронку помещают металлическую сетку, па которой находится 5—10 г кала. Приподняв сетку, заполняют воронку подогретой до 40—50 °С водой таким образом, чтобы нижняя часть сетки с калом была погружена в воду. Личинки из кала активно переходят в теплую воду и скапливаются в нижней части резиновой трубки, надетой на воронку. Через 4 ч зажим на трубке открывают и спускают жидкость в одну-две центрифужные пробирки. После центрифугирования в течение 2—3 мин надосадочную жидкость быстро сливают, а осадок переносят на предметное стекло и исследуют под микроскопом.

В осадке отыскивают личинки **стронгилоида**.

Исследование проводят при подозрении на стронгилоидоз.

Дифференциальная диагностика личинок диктиокаулюсов. В тех случаях, если в материале, исследуемом по Берману, Вайду или седиментацией, обнаружены личинки разных стронгилят, проводят дифференциальную диагностику по избирательной способности живых личинок к окраске. К осадку (в пробирке или на часовом стекле) добавляют 1–2 капли 0,1%-ого водного раствора метиленового синего. Через 20–30 с препарат микроскопируют. Личинки диктиокаулюсов окрашиваются в сиреневый цвет. Личинки других нематод не окрашиваются.

Методы гелминтоларвоскопии тканей животных.

При некоторых гелминтозах личинки возбудителей концентрируются в различных органах и тканях. Гелминтоларвоскопией тканей уточняют диагноз на подозреваемый гелминтоз. Исследование крови по Фюллеборну. Из яремной вены берут кровь в пробирку и отстаивают. Полученную сыворотку центрифугируют 10 минут, затем осадок каплями исследуют под микроскопом. Исследование крови по Куликову. Из яремной вены набирают 20 мл крови и добавляют 2 мл 3,8%-ого водного раствора лимоннокислого натрия и отстаивают в течение 20–25 минут. При отстаивании образуются три слоя: нижний – осевшие эритроциты, средний – лейкоциты и личинки нематод и верхний – сыворотка. Тонкой пипеткой берут содержимое среднего слоя, наносят его каплями на предметное стекло и просматривают под микроскопом.

Исследование кожи крупного рогатого скота по Стюарду (с дополнениями по М.П. Гнединой). На 1 см² брюшной стенки животного удаляют волосы, а место это дезинфицируют. Затем пинцетом оттягивают кожу и отрезают кривыми ножницами поверхностный слой его объемом 3х3х2 мм. Кусочек кожи помещают на предметное стекло в каплю физиологического раствора и тщательно расщепляют препаровальными иглами. Частицы кожи удаляют, а жидкость исследуют под микроскопом.

Исследование кожи лошадей по Р.С. Чеботареву. На холке, плече, передних конечностях выбривают участок кожи размером 5 см² и дезинфицируют его спиртом. После этого кожу захватывают в складку и бритвой или ножницами отрезают кусочек толщиной 3–4 мм и площадью 2–3 см². Срезы помещают в пробирку, заливают 2–3 мл физиологического раствора (можно смешанного пополам с сывороткой крови) и оставляют на несколько часов в термостате при 36–37° или при комнатной температуре. Затем содержимое пробирки выливают на часовое стекло и исследуют под микроскопом с целью обнаружения личинок онхоцерк.

Исследование мышц для диагностики трихинеллеза

Диагностика трихинеллеза проводится методом компрессорной трихинеллоскопии мышечной ткани животных после убоя животного. От каждой туши берут две пробы по 60 г из ножек диафрагмы или из межреберных мышц. Из каждой пробы изогнутыми ножницами делают 24 среза мышц величиной с овсяное зерно. Каждый срез кладут на нижнюю стеклянную пластинку компрессориума, покрывают другим стеклом и сжимают винтами так, чтобы через расплющенные срезы можно было читать газетный текст. В таком виде срезы рассматривают под малым увеличением микроскопа или под трихинеллоскопом с целью обнаружения личинок возбудителя (обычно инкапсулированных). Капсула имеет округлую, овальную или лимоновидную форму, более или менее одинаковой величины – 0,68 мм длины и 0,37 мм ширины; как правило, в одной капсуле находится одна личинка, реже две, свернутые в спираль. Довольно часто встречаются личинки с обызвествленными капсулами. Для их просветления срезы помещают на 1–2 ч в 10%-ный раствор соляной кислоты, а затем исследуют в капле глицерина. Однако более эффективным методом трихинеллоскопии является метод ускоренного переваривания мышц в искусственном желудочном соке по П.А. Владимировой. Пробу мышц (10 г) измельчают в мясорубке, опускают в стаканчик или банку, заливают 250 мл искусственного желудочного сока (пепсин медицинский 3 г, соляная кислота 1 г, вода 100 мл), тщательно перемешивают и ставят в термостат при 42–47°. Через 4–5 ч верхний слой осторожно сливают, а осадок наносят на предметные стекла тонким слоем и исследуют под микроскопом. В настоящее время на мясокомбинатах применяют метод исследования свинины на трихинеллез путем переваривания проб мышц, из ножек диафрагмы (от 20 или 100 туш свиней одновременно) в искусственном желудочном соке с помощью аппарата для выделения личинок трихинелл (АВТ).



Методы диагностики конкретных гельминтозных заболеваний животных

1. Яйца гельминтов класса трематод (фасциол, парамфистом, дикроцелий и др.) обнаруживают в фекалиях животных гельминтоовоскопическими методами последовательного их промывания (метод осаждения – седиментации), Демидова, Котельникова и Хренова с целлофановыми пленками или раствором азотнокислого свинца.

2. Яйца гельминтов класса цестод – ленточных червей (тений, аноплоцефалид) в фекалиях животных выявляют методами Фюллеборна, Дарлинга, Котельникова и Хренова, Щербовича.

Членики цестод в фекалиях обнаруживают макроскопическим методом гельминтоскопии.

3. Яйца гельминтов класса нематод – круглых червей из подотряда оксиурата, обнаруживают в зависимости от их локализации методом исследования соскобов с перианальных складок.

4. Яйца кишечных стронгилят жвачных, лошадей, плотоядных и птиц обнаруживают в фекалиях гельминтоовоскопическими методами Фюллеборна, Дарлинга, Котельникова и Хренова.

МОРФОЛОГИЯ ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ

Нематоды

Цестоды

Трематоды



5. Для выявления яиц нематод из подотряда аскаридата, трихоцефалята, а также яйца лентецов и акантоцефал (яйца их обладают более высоким удельным весом) обнаруживают в фекалиях животных методами Дарлинга, Щербовича, Котельникова и Хренова, реже методом Фюллеборна.

6. Яйца стронгилоидов у поросят, ягнят и жеребят в первый день взятия пробы фекалий обнаруживают гельминтоовоскопическими методами Фюллеборна, Дарлинга или Котельникова и Хренова. На второй день, когда в фекалиях из яиц стронгилоидов выходят личинки, для гельминтоларвоскопических исследований применяют методы Вайда, Бермана-Орлова или Поповой.

7. Диагностика легочных гельминтозов жвачных (диктиокаул, мюллерий, протостронгилид) осуществляется гельминтоларвоскопическими методами Вайда, Бермана-Орлова, экспресс-методами Котельникова, Корчагина и Хренова, методами Мачульского, Шабаяева и Фоминой.

8. Диагностика легочных гельминтозов свиней (метастроонгилид) проводится гельминтоовоскопическими методами Щербовича, Котельникова и Хренова.

9. Для диагностики онхоцеркоза у лошадей и крупного рогатого скота используют дермоларвоскопические методы Чеботарева, Стюарда и Гнединой, Мачульского, Шабаева и Фоминой.

10. Прижизненная диагностика сетариоза у крупного рогатого скота и лошадей проводится гельминтолارвоскопическими методами Куликова или Фюллеборна; исследуются пробы крови животных на наличие личинок сетарий.

11. Исследование мышц всеядных и плотоядных животных (посмертно) на наличие личинок трихинелл проводится компрессорным методом или перевариванием мышц в искусственном желудочном соке.

12. Для прижизненной диагностики тканевых гельминтозов (эхинококкоза, ценуроза, цистицеркозов) используют аллергические и серологические методы исследования.