

**МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ ПО ОРГАНИЗАЦИИ
МОНИТОРИНГА ИНФЕКЦИОННЫХ И ИНВАЗИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ДИКИХ ХИЩНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

Н.В. ЕСАУЛОВА

кандидат ветеринарных наук

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, e-mail: esaulova@mail.ru

С.В. НАЙДЕНКО

кандидат биологических наук

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

(одобрены секцией «Инвазионные болезни животных РАСХН

19 мая 2011 г., протокол № 2)

Для реализации современных природоохранных проектов требуется комплексный подход, включающий изучение состояния популяции редких видов животных, наличия кормовых ресурсов, репродуктивной биологии животных, а также их зоолого-ветеринарного обследования. Важнейшее значение при изучении состояния здоровья животных имеют исследования на инфекционные и инвазионные болезни. Усовершенствование знаний о зараженности диких хищных млекопитающих возбудителями инфекционных и паразитарных болезней позволит разработать научно-обоснованные мероприятия по охране животных редких видов. Также немалую пользу данная информация может принести при организации питомников и центров реабилитации для животных, занесенных в Красную книгу Российской Федерации.

1. Сбор и консервирование проб от хищных млекопитающих для проведения диагностических исследований на инфекционные и инвазионные болезни.

а) Сбор проб фекалий от хищных млекопитающих осуществляют, в основном, для диагностики гельминтозов и кишечных протозоозов, а также ряда инфекционных болезней (панлейкопении кошачьих, чумы плотоядных, коронавирусного и парвовирусного энтерита). Для обнаружения большинства из вышеперечисленных вирусов необходимо собирать свежие экскременты, сроком давности не более нескольких часов. При сборе проб в зимний период (при постоянных отрицательных температурах) возможно использование образцов двухнедельной давности. Лишь для обнаружения парвовирусов – возбудителей парвовирусного энтерита собачьих и куньих и панлейкопении кошачьих, пригодны экскременты с достаточно большим сроком давности (вирус сохраняется в окружающей среде на протяжении полугода и более).

При сборе проб для гельминтовооскопических исследований допустим сбор образцов различной давности, однако, необходимо помнить, что биология развития некоторых гельминтов связана с выходом личинок из яиц во внешней среде в течение нескольких суток, что может привести к снижению видового разнообразия гельминтов в проанализированных пробах.

Необходимо отметить, что наличие полевых навыков работы, знание повадок животных в значительной степени могут помочь в сборе образцов. Многие хищные оставляют экскременты, перемещаясь по дорогам (тигр, енотовидная собака, лиса), около нор (барсук), в специальных уборных (выдра, барсук), на упавших стволах деревьев (соболь), на водоразделах (рысь, леопард).

Принадлежность экскрементов тому или иному виду млекопитающих определяют на основании следов лап около места сбора образца, размера и формы экскрементов. При наличии сомнений и необходимости четкой идентификации часть экскремента (1–2 г) может быть помещена в 96%-ный эти-

ловый спирт, храниться при комнатной температуре и впоследствии использована для видовой идентификации молекулярно-генетическими методами. Еще одним способом длительного хранения образцов является их заморозка в жидком азоте и последующее хранение до проведения анализа.

У иммобилизированных животных фекалии берут из прямой кишки. Собранные образцы экскрементов этикетировать: дата сбора, координаты места сбора (регистрируют с помощью GPS), видовой принадлежность оставившей их особи. Для сохранения записей на этикетках необходимо помещать их в отдельный пластиковый пакет, который затем кладут в пакет с экскрементами. Этикетированные таким образом пробы замораживают. При отсутствии условий для замораживания фекалий их можно консервировать в жидкости Барбагалло (3%-ный формалин на физиологическом растворе). Жидкость Барбагалло готовят по следующей схеме: 1000 мл дистиллированной воды, 7,5 г NaCl, 30 мл формалина при соотношении фекалий и жидкости Барбагалло 1 : 1.

б) Взятие проб крови. В большинстве случаев кровь берут у обездвиженных животных. Взятие крови у большинства видов хищных можно проводить из любого из наиболее доступных для исследователя крупных кровеносных сосудов: яремной вены, поверхностной вены плеча, паховой вены, подъязычной вены. Для большинства болезней отделяют сыворотку крови путем центрифугирования (20 минут при скорости 3–6 тыс. оборотов в минуту). Сыворотку крови отделяют пипеткой от клеточных элементов, переливают в виде аликвот в отдельные пробирки (по 100–300 мкл в зависимости от объема собранного материала). Пробирки тщательно этикетировать. Пробы сыворотки немедленно замораживают в жидком азоте, а при невозможности – в обычной морозилке при -18 °С (размораживание и повторное замораживание не допускается). Предпочтительно пробы крови на вирус лейкемии кошачьих анализировать сразу после забора (иммунохроматографический метод), либо хранить их в жидком азоте. Для диагностики кровепаразитарных болезней делают тонкие мазки крови и фиксируют в этиловом или метиловом спирте (15 и 5 мин соответственно).

в) Сбор и фиксация гельминтов. Гельминтов, обнаруженных в фекалиях и при проведении полного гельминтологического вскрытия по К.И. Скрыбину, фиксируют в 70%-ном спирте или жидкости Барбагалло. Фиксация в спирте более предпочтительна, так как в этом случае возможно в дальнейшем окрашивание гельминтов для изучения морфологии или определения ДНК. Перед фиксированием гельминтов хорошо промывают, живых держат в воде, пока они не погибнут. Каждый сбор снабжают этикеткой с указанием вида животного, места и времени обнаружения, локализации паразита. Для диагностики трихинеллеза берут ножки диафрагмы или межреберные мышцы (пробы по 50 г). Пробы мышц этикетировать и замораживают.

г) Взятие соскобов кожи для исследования на саркоптоидозы и демодекоз. Соскобы берут скальпелем со свежепораженного участка или со старого, но на границе со здоровой кожей, так как в эти местах скапливается наибольшее количество клещей. В связи с тем, что клещи могут быть экто- и эндопаразитическими, соскобы следует делать глубокими (скарифицировать до появления капиллярного кровотечения). Полученный материал фиксируют в жидкости Барбагалло.

д) Сбор и фиксация эктопаразитов. Обнаруженных у отловленных или погибших животных эктопаразитов: иксодовых клещей, блох, вшей и власоедов, фиксируют в 70%-ном спирте. Пробирки с членистоногими этикетировать.

2. Методы диагностики основных инфекционных и инвазионных болезней диких хищных млекопитающих (табл. 1, 2).

1. Прижизненная диагностика инфекционных болезней диких хищных млекопитающих

Болезнь	Возбудитель	Вид восприимчивых животных	Материал исследования	Метод исследования
1	2	3	4	5
Чума плотоядных	РНК-содержащий вирус из сем. Paramyxoviridae	Сем. Canidae, Mustelidae, Procyonidae, роды Panthera, Uncia, Lynx	Сыворотка крови (анти-тела, антиген)	ИФА, ПЦР, ИХ*
			Фекалии (антиген)	ПЦР
			Выделения из носа и глаз (антиген)	ПЦР, ИХ
Панлейкопения (инфекционный парвовирусный энтерит кошек)	Virus panleukopenia feline из сем. Parvoviridae	Сем. Felidae	Сыворотка крови (анти-тела)	ИФА
			Фекалии (антиген)	ПЦР, ИХ
Парвовирусный энтерит собачьих и куньих	Парвовирус типа 2 из сем. Parvoviridae	Сем. Canidae, Mustelidae	Сыворотка крови (анти-тела)	ИФА
			Фекалии (антиген)	ПЦР, ИХ
Калицивирусная инфекция кошек (калицивироз)	Calicivirus из сем. Picornaviridae	Сем. Felidae	Смывы с язв ротовой полости, выделения из носа и рта (антиген)	ПЦР
Ринотрахеит (герпес) кошек	ДНК-содержащий вирус из сем. Herpesviridae	Сем. Felidae	Сыворотка крови (анти-тела)	ИФА
			Смывы из носа (антиген)	ПЦР
Герпес собачьих	ДНК-содержащий вирус из сем. Herpesviridae	Сем. Canidae	Сыворотка крови (анти-тела)	ИФА
Вирусная лейкемия кошек	РНК-содержащий ретровирус С-типа из подсем. Oncornaviridae	Сем. Felidae	Сыворотка крови или цельная кровь (антиген)	ИХ
Вирусный иммунодефицит кошек	Lentivirus (РНК-содержащий вирус из сем. Retroviridae)	Сем. Felidae	Сыворотка крови или цельная кровь (анти-тела)	ИХ

1	2	3	4	5
Инфекционный перитонит кошек	РНК-содержащий вирус из сем. Coronaviridae	Сем. Felidae	Сыворотка крови или цельная кровь (антитела)	ИХ
Коронавирусный энтерит собак	РНК-содержащий вирус из сем. Coronaviridae	Сем. Canidae, Mustelidae	Сыворотка крови или цельная кровь (антитела)	ИХ
Хламидиоз	<i>Chlamydomphila felis</i> <i>Chlamidia</i> sp.	Сем. Canidae, Mustelidae, Felidae, Procyonidae	Сыворотка крови (антитела)	ИФА (набор предназначен для анализа антител к родам <i>Chlamidia</i> и <i>Chlamydomphila</i>)
Микоплазмоз	<i>Micoplasma felis</i> <i>M. gatae</i>	Сем. Canidae, Mustelidae, Felidae, Procyonidae	Сыворотка крови (антитела)	ИФА
Грипп А	Вирус сем. Orthomixoviridae	Сем. Canidae, Mustelidae, Felidae, Procyonidae	Сыворотка крови (антитела)	ИФА
Риккетсиоз (эрлихиоз) собак	<i>Ehrlichia canis</i>	Сем. Canidae	Сыворотка крови (антитела)	ИХТ
Болезнь Ауэски	ДНК-содержащий вирус из сем. Herpesviridae	Сем. Canidae, Mustelidae, Felidae, Procyonidae	Сыворотка крови (антитела)	ИФА

* ИФА – иммуноферментный анализ, ПЦР – полимеразная цепная реакция, ИХ – иммунохроматография

2. Прижизненная диагностика инвазионных болезней диких хищных млекопитающих

Болезнь	Возбудитель	Вид восприимчивых животных	Материал исследования	Метод исследования
1	2	3	4	5
Токсоплазмоз	<i>Toxoplasma gondii</i>	Сем. Felidae, Canidae, Ursidae и Mustelidae	Сыворотка крови (антитела)	ИФА
			Фекалии кошачьих (антиген)	ПЦР
Изоспороз собак	<i>Isospora canis</i> , <i>Isospora ohioensis</i> и др.	Сем. Canidae	Фекалии	Мет. Фюллеборна или Дарлинга

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5
Изоспороз кошек	<i>Isospora felis</i> , <i>I. rivolta</i> и др.	Сем. Felidae	Фекалии	Мет. Фюллеборна или Дарлинга
Бабезиоз	<i>Babesia canis</i> , <i>Babesia sp.</i>	Сем. Canidae, Mustellidae	Кровь	Иssl. тонкого мазка крови, окрашенного по Романовскому–Гимза
Лямблиоз кошек и собак	<i>Giardia duodenalis</i>	Сем. Canidae, Felidae и Mustellidae	Фекалии	ИХ
Лейшманиоз собак	<i>Leishmania infantum</i>	Сем. Canidae	Сыворотка крови (антитела)	ИХ
Отодектоз	<i>Otodectes cynotis</i>	Сем. Canidae, Felidae и Mus- tellidae	Поверхностный соскоб кожи из ушных раковин	Мет. Приселковой
Саркоптоз собак	<i>Sarcoptes canis</i>	Сем. Canidae	Глубокий соскоб кожи	Мет. Приселковой
Нотоэдроз кошек	<i>Notoedres cati</i>	Сем. Felidae	Глубокий соскоб кожи	Мет. Приселковой
Демодекоз собак	<i>Demodex canis</i>	Сем. Canidae	Глубокий соскоб кожи	Мет. Приселковой
Демодекоз кошек	<i>Demodex cati</i>	Сем. Felidae	Глубокий соскоб кожи	Мет. Приселковой
Описторхоз	<i>Opisthorchis felineus</i>	Сем. Felidae и Canidae	Фекалии	Гельминтооо-скопия по Котельникову и Вареничеву
Клонорхоз	<i>Clonorchis sinensis</i>	Сем. Felidae и Canidae	Фекалии	Гельминтооо-скопия по Котельникову и Вареничеву
Аляриоз	<i>Alaria alata</i>	Сем. Canidae, Felidae и Mus- tellidae	Фекалии	Гельминтооо-скопия по Котельникову и Вареничеву
Парагонимоз	<i>Paragonimus westermani</i>	Сем. Canidae, Felidae и Mus- tellidae	Фекалии	Гельминтооо-скопия по Котельникову и Вареничеву
Дифиллоботриоз	<i>Diphyllobothrium latum</i>	Сем. Canidae, Felidae и Ur- sidae	Фекалии	Гельминтоскопия, гельминтооо-скопия по Котельникову и Вареничеву
Эхинококкоз	<i>Echinococcus granulosus</i>	Сем. Canidae	Фекалии	Гельминтоскопия, гельминтооо-скопия по Фюллеборну
Альвеококкоз	<i>Alveococcus multilocularis</i>	Сем. Canidae и Felidae	Фекалии	Гельминтоскопия, гельминтооо-скопия по Фюллеборну

1	2	3	4	5
Тениозы	<i>Taenia hydatigena</i> <i>Taenia pisiformis</i> и др.	Сем. Canidae и Felidae	Фекалии	Гельминтоскопия, гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Гидатигероз	<i>Hydatigera taeniaformis</i>	Сем. Felidae	Фекалии	Гельминтоскопия, гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Дипилидиоз	<i>Dipylidium caninum</i>	Сем. Canidae и Felidae	Фекалии	Гельминтоскопия, гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Мезоцестоидоз	<i>Mesocestoides lineatus</i>	Сем. Canidae и Felidae	Фекалии	Гельминтоскопия, гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Токсокароз собак	<i>Toxocara canis</i>	Сем. Canidae	Фекалии	Гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Токсокароз кошек	<i>Toxocara cati</i>	Сем. Felidae	Фекалии	Гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Токсаскариоз	<i>Toxascaris leonina</i>	Сем. Canidae и Felidae	Фекалии	Гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Бейлискарариоз	<i>Baylisascaris transfuga</i>	Сем. Ursidae	Фекалии	Гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Анкилостоматидозы	<i>Uncinaria stenocephala</i> , <i>Ancylostoma caninum</i>	Сем. Canidae, Felidae и Ursidae	Фекалии	Гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Трихоцефалез	<i>Trichocephalus vulpis</i>	Сем. Canidae и Felidae	Фекалии	Гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Капилляриоз ЖКТ	<i>Capillaria putorii</i>	Сем. Canidae, Felidae, Ursidae и Mustellidae	Фекалии	Гельминтоовоскопия по мет. Фюллеборна
Томиноксоз	<i>Thominx aërophillus</i>	Сем. Canidae, Felidae, Ursidae и Mustellidae	Фекалии	Гельминтоовоскопия по Фюллеборну
Дирофиляриоз	<i>Dirofilaria immitis</i> , <i>D. repens</i> <i>D. ursi</i>	Сем. Canidae и Felidae. Сем. Ursidae	Сыворотка крови (антитела)	ИХ
			Кровь	Иssl. тонкого мазка крови, окрашенного по Романовскому–Гимза

3. Посмертная диагностика гельминтозов методом полного гельминтологического вскрытия по К.И. Скрябину. Этот метод позволяет проводить как количественный, так и качественный учет всех гельминтов, которыми заражено животное (табл. 3). После снятия с трупа кожи тщательно осматривают подкожную клетчатку, затем вскрывают грудную и брюшную полости и извлекают все органы систем: пищеварительной, дыхательной, кровеносной, мочеполовой и др. Органы той или иной системы отделяют и исследуют порознь, при этом используют метод последовательных смывов: содержимое органов смешивают с водой и дают смеси отстояться, затем верхний слой жидкости сливают, а к осадку добавляют свежую порцию воды,

так повторяют несколько раз. Таким образом, удаляется большая часть посторонних веществ, а в осадке остаются паразиты. Все трубчатые органы вскрывают по их длине, содержимое помещают в таз, ведро или банку (в зависимости от объема органа), со слизистых оболочек делают соскоб. Паренхиматозные органы (печень, легкие, поджелудочную железу, почки и др.) помещают в отдельную посуду и превращают в гомогенат (фарш), разрезая на мелкие кусочки ножом или ножницами. Детрит, соскобы, содержимое органов отмывают водой или физиологическим раствором, пользуясь методом последовательных смывов. Полученные материалы (осадки) изучают небольшими порциями сначала в черных, а затем в белых кюветах или в чашках Петри на черном и белом фоне. Крупных гельминтов выбирают визуально, а мелких – при помощи ручной лупы с 8–10-кратным увеличением. Собирают гельминтов только кисточками или препаровальными иглами, но не пинцетом и не пальцами.

3. Диагностика основных гельминтозов диких хищных млекопитающих при патологоанатомическом вскрытии

Гельминт	Вид восприимчивого животного	Регион распространения возбудителя	Основные морфологические особенности возбудителя	Исследуемый при вскрытии орган
1	2	3	4	5
<i>Opisthorchis felineus</i>	Сем. Felidae и Canidae	Бассейны рек Оби, Иртыша, Северной Двины, Камы, Днепра, Дона, Волги	Тело сероватого цвета продолговатой формы, суживающееся к переднему концу, длиной 8–13, шириной 1,2–2,5 мм	Желчные ходы печени, желчный пузырь, протоки поджелудочной железы
<i>Clonorchis sinensis</i>	Сем. Felidae и Canidae	Бассейны рек Уссури и Амура, северный Сахалин	Тело сероватого цвета продолговатой формы, суживающееся к переднему концу, длиной 10–20, шириной 2–4 мм	Желчные ходы печени, протоки поджелудочной железы
<i>Alaria alata</i>	Сем. Canidae, Felidae и Mustellidae	Широко распространено	Тело белого цвета, передняя часть плоская, задняя – цилиндрическая, длина 2,4–4,4, ширина 1,2–2,1 мм	Тонкий кишечник
<i>Paragonimus westermani</i>	Сем. Canidae, Felidae и Mustellidae	Амурская область, Хабаровский и Приморский края, Япония, Китай, Корея	Тело краснокоричневого цвета яйцевидной формы, длина 7,5–13, ширина 4–8 мм	Преимущественно мелкие бронхи, иногда плевра, диафрагма, поджелудочная железа, кишечник, мезентериальные лимфоузлы, предстательная железа, печень, кожа, головной мозг, сердце и др.

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5
<i>Diphyllobothrium latum</i>	Сем. Canidae, Felidae и Ursidae	Бассейны рек Енисей, Лены, Индигирки, Оби, Амура; Карелия, Сахалин, Таймыр, Тюмень, Астрахань	Цестода бело-желтого цвета, длиной 1,5–10 м, членики короткие, широкие	Тонкий кишечник
<i>Echinococcus granulosus</i>	Сем. Canidae	Широко распространено (очагово)	Мелкая цестода, состоящая из сколекса и 3–4 члеников, длина 2–6 мм	Тонкий кишечник (между ворсинками слизистой оболочки)
<i>Alveococcus multilocularis</i>	Сем. Canidae и Felidae	Широко распространено (очагово)	Мелкая цестода, состоящая из сколекса и 3–4 члеников, длина 2–5 мм	Тонкий кишечник (между ворсинками слизистой оболочки)
<i>Taenia hydatigena</i> <i>T. pisiformis</i>	Сем. Canidae и Felidae	Широко распространено	Цестода белого цвета длиной до 4–5 м, имеется хорошо развитый сколекс с хоботком и короной крючьев	Тонкий кишечник
<i>Hydatigera taeniaformis</i>	Сем. Felidae	Повсеместно	Цестода белого цвета длиной 15–60, шириной 5–6 мм	Тонкий кишечник
<i>Dipylidium caninum</i>	Сем. Canidae и Felidae	Повсеместно	Цестода белого или розоватого цвета длиной 40–70, шириной 3–5 мм, зрелые членики по форме напоминают огуречное семя	Тонкий кишечник
<i>Mesocestoides lineatus</i>	Сем. Canidae и Felidae	Широко распространено	Цестода длиной до 2,5 м, сколекс невооруженный, зрелые членики по форме напоминают семена арбуза	Тонкий кишечник
<i>Toxocara canis</i>	Сем. Canidae	Повсеместно	Нематода серо-желтого цвета, на головном конце широкие кутикулярные крылья; длина самки 10–18, самца 5–10 см, имеют изогнутый хвостовой конец	Тонкий кишечник

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5
<i>Toxocara cati</i>	Сем. Felidae	Повсеместно	Нематода серо-желтого цвета, на головном конце широкие кутикулярные крылья; длина самки 4–10, самца 3–6 см, имеют изогнутый хвостовой конец	Тонкий кишечник
<i>Toxascaris leonina</i>	Сем. Canidae и Felidae	Повсеместно	Нематода серо-желтого цвета, на головном конце узкие кутикулярные крылья; длина самки 6–10, самца 4–7 см, имеют изогнутый хвостовой конец	Тонкий кишечник
<i>Baylisascaris transfuga</i>	Сем. Ursidae	Широко распространено	Крупная нематода бело-розового цвета, длина самки 11–25, самца 9–10 см	Тонкий кишечник
<i>Uncinaria stenocephala</i> , <i>Ancylostoma caninum</i>	Сем. Canidae, Felidae и Ursidae	Повсеместно	Нематоды светло-желтого цвета длиной 15–20 мм	Тонкий кишечник
<i>Trichocephalus vulpispis</i>	Сем. Canidae и Felidae	Широко распространено	Нематоды белого цвета, передний конец тонкий, задний – утолщенный, длина 3,8–7,5 см.	Слепая и ободочная кишка
<i>Capillaria putorii</i>	Сем. Canidae, Felidae, Ursidae и Mustellidae	Широко распространено	Нитевидные нематоды белого цвета, самки 9–13, самцы 5–7 мм	Тонкий кишечник
<i>Thominx aerophilus</i>	Сем. Canidae, Felidae, Ursidae и Mustellidae	Широко распространено	Нитевидные нематоды белого цвета с утонченным передним концом, самки 18–20, самцы 15–18 мм	Бронхи, трахея
<i>Dirofilaria immitis</i>	Сем. Canidae и Felidae	Широко распространено	Тонкие нематоды белого цвета, самки 25–30 см, самцы 12–18 см	Сердце
<i>Dirofilaria repens</i>	Сем. Canidae и Felidae	Широко распространено	Тонкие нематоды белого цвета, самки 10–17 см,	Подкожная клетчатка, под конъюнктивой

			самцы 5–7 см	глаза
--	--	--	--------------	-------

Окончание таблицы 3

1	2	3	4	5
<i>Dirofilaria ursi</i>	Сем. Ursidae	Широко распространено	Тонкие нематоды белого цвета, длиной 10–20 см	Подкожная клетчатка, мышцы
<i>Diocotophyma renale</i>	Сем. Canidae, Felidae и Ursidae	Дальний Восток, Карелия, Сибирь Закавказье, Средняя Азия, Казахстан	Нематода красного цвета с цилиндрическим телом, самки 20–100, самцы 14–40 см	Лоханка почки, мочеточники, мочевой пузырь, брюшная полость, могут встречаться в печени, кровеносных сосудах и сердце

