Методы диагностики паразитарных болезней животных

***Обучающаяся Терехова Анастасия Алексеевна***

***Руководитель Шидяева Наталья Александровна***

***ГБПОУ «Работкинский аграрный колледж», п. Волжский, Россия***

Аннотация: В статье описываются методы основной и современной диагностики паразитарных заболеваний животных

Ключевые слова: диагностика, методы диагностики, инвазионные, паразитарные, гельминты, личинки, яйца гельминтов.

Своевременная диагностика является основой, на которой держится эффективная система терапии и профилактики паразитарных болезней животных. Основными методами диагностики в ветеринарной паразитологии являются лабораторные методы исследований, которые позволяют обнаружить и дифференцировать возбудителя болезни, изучить его свойства и чувствительность к тем или иным препаратам.

При различных паразитарных болезнях применяют разные методы диагностики, основанные на современных научных достижениях и накопленном опыте. Определение возбудителя может проводиться или прямым путем (при осмотре животных, путем микроскопирования мазков крови, просмотра под микроскопом проб фекалий, соскобов с кожи и т. д.), или косвенным путем (при аллергической диагностике с известным антигеном и др.). При всех известных способах диагностики паразитарных болезней ставится определенная цель — установить возбудителя и определить степень поражённости им животного.

В настоящее время при постановке диагноза на паразитозы важным является выяснить не только экстенс-, но и интенсинвазированность животных паразитами. Не менее важным является также определение состава паразитоценоза, в том числе гельминтов, клещей, насекомых, простейших и других организмов.

Очень важным является изучение зараженности паразитами человека и животных (особенно зоонозами), распространения возбудителей этих болезней в окружающей среде.

Важно изучать закономерности распространения паразитозов, выяснять пути сохранения организмов в постоянно меняющихся условиях среды.

Все это определяет методологические подходы к диагностике паразитарных болезней, в связи с чем, в последнее время все больше внимания уделяется применению современных методов и средств диагностики: электронной микроскопии, внедрению иммуноферментных методов исследований, использованию радиодиагностических наборов и др.

**Диагностика гельминтозов**

Применяют методы прижизненной и посмертной диагностики. В зависимости от цели диагностику гельминтозов проводят для научно-исследовательских или профилактических работ, для установления экстенсивности и интенсивности инвазии, а также для дифференциации возбудителей.

*Прижизненная диагностика гельминтозов*

Диагноз на гельминтозы при жизни животных ставят на основании результатов лабораторных методов исследований и диагностических дегельминтизаций (прямых методов), а также иммунобиологических реакций (косвенных методов). Подсобную роль в диагностике гельминтозов играют данные исследований промежуточных хозяев (при биогельминтозах), клинические и эпизоотологические наблюдения.

Основные методы диагностики — лабораторные исследования, позволяющие часто обнаруживать возбудителей гельминтозов или их яйца и личинки в экскретах (фекалиях, моче, мокроте), секретах (желчи), тканях (крови, мышцах), органах (кусочках кожи), в содержимом пунктатов и абсцессов.

Лабораторные методы диагностики гельминтозов животных легко выполнимы и достаточно точны, поэтому их широко применяют в производственных условиях (в ветеринарных лабораториях и в других ветеринарных учреждениях).

В зависимости от целевого назначения лабораторные исследования подразделяют на гельминтоовоскопические, гельминтоларвоскопические и гельминтоскопические методы исследований.

Гельминтоовоскопические методы исследований позволяют выявлять в экскретах, секретах и соскобах яйца многих паразитических червей. Широко применяется в ветеринарной практике исследование фекалий по методам Фюллеборна, Дарлинга и др.

Гельминтоларвоскопические методы исследований используют для обнаружения личинок гельминтов (диктиокаул, мюллерий и др.). Из этой группы нередко применяют исследование фекалий по методам Бермана — Орлова и Вайда.

Гельминтоскопические исследования применяют с диагностической целью для обнаружения выделяемых наружу гельминтов или их фрагментов (члеников цестод). В практических условиях этим способом устанавливают диагноз на аскаридоз свиней, мониезиоз жвачных и другие гельминтозы.

* Гельминтокопрологические исследования

Большинство гельминтов, паразитирующих у животных, выделяют яйца, личинок и фрагменты тела (членики) во внешнюю среду через желудочно-кишечный тракт. Поэтому гельминтокопрологические исследования являются основными методами прижизненной диагностики гельминтозов. Плановые гельминтокопрологические обследования животных в хозяйствах проводят два раза в год: первый раз в марте—апреле и второй в ноябре — декабре. Для плановых исследований фекалии берут от трех возрастных групп. Например, на свиноферме обследуют копрологически 3—4-месячных поросят, 5—7-месячных подсвинков и взрослых свиноматок. Берут по 20— 25 проб фекалий от каждой группы. Результаты гельминтокопрологических исследований во многом зависят от правильности отбора и упаковки проб фекалий и своевременной доставки их в ветеринарные учреждения. Для упаковки фекалий используют кульки и пакетики из плотной бумаги. Жидкие фекалии можно пересылать в небольших баночках (бактериологические пробирки непригодны).

 Для исследований пригодны пробы только свежих фекалий. Их берут у крупных животных из прямой кишки рукой в резиновой перчатке: от свиней, телят, овец и коз фекалии следует брать средним и указательным пальцами в напальчниках.

Для этих же целей предложен специальный прибор, состоящий из стальных браншей, переходных ветвей и двух прикрепленных к ветвям полусферических поверхностей. Взятие фекалий из прямой кишки животных при помощи этого прибора облегчает труд ветеринарных работников и повышает производственную культуру этой манипуляции.

У кроликов фекалии в количестве нескольких шариков извлекают путем надавливания на брюшную стенку в области прямой кишки.

Иногда допускается взятие проб фекалий с пола, если они свежие. От одного животного берут не менее 10—20 г фекалий. От птиц, пушных зверей, собак, кошек и диких хищников (в зоопарках) фекалии собирают с чистого пола клеток (групповые пробы).

Все пробы фекалий этикетируют: по краю пакета или листа бумаги (где он не будет соприкасаться с экскрементами) простым карандашом пишут номер пробы (иногда и кличку коров). К пробам фекалий прилагают опись, в которой указывают наименование хозяйства, бригады, вид, пол и возраст животных (для взрослых — кличку или инвентарный номер) и дату взятия проб.

В сопроводительной желательно указать цель исследований фекалий (например, для контроля проведенной дегельминтизации).

Необходимо стараться быстрее доставить пробы фекалий в ветеринарную лабораторию и исследовать их без задержки, потому что при комнатной температуре через 16—20 часов из яиц кишечных стронгилят выходят личинки, что затрудняет диагностику диктиокаулеза и протостронгилидозов, а также других гельминтозов.

Если пробы фекалий в день взятия не исследуют, то их помещают в холодильник или подвал при температуре не выше 10°. Дезинфицирующие средства не приостанавливают развитие личинок внутри яиц гельминтов.

Достоверность гельминтокопрологических исследований в значительной степени зависит от качества лабораторного оборудования.

В состав набора стандартного оборудования для массового исследования фекалий на гельминтозы входят стаканчики различной емкости, воронки, конические пробирки, ситечки разных размеров, штатив с пятью планками (каждая на шесть воронок), кювет (по размерам штатива), коробки для хранения посуды, а также резиновые груши, стеклянные палочки и металлические петли.

Различают качественные и количественные методы исследований фекалий.

* Качественные гельминтокопрологические исследования

Качественные методы исследований позволяют установить, какими гельминтами заражены животные.

Гельминтоовоскопические методы. Для прижизненной диагностики гельминтозов предложено большое количество методов гельминтоовоскопии, из которых рассмотрим только те, которыми чаще пользуются в ветеринарной практике.

*Метод нативного мазка* — простой, но наименее, эффективный, позволяющий обнаружить яйца паразитических червей только при высокой и средней интенсивности инвазии. На предметное стекло наносят каплю равных частей воды и глицерина и небольшой кусочек фекалий (с булавочную головку), тщательно перемешивают стеклянной или деревянной палочкой; после удаления твердых частиц на эту смесь кладут покровное стекло и исследуют под микроскопом. Глицерин просветляет препарат и препятствует быстрому высыханию его. Рекомендуют исследовать 5—10 препаратов (капель). Этот метод используют в качестве дополнительного к другим методам.

Большинство гельминтокопрологических методов диагностики основано на разнице удельного веса яиц, личинок гельминтов или их фрагментов, с одной стороны, и жидкости, в которой взвешены исследуемые фекалии, — с другой. В зависимости от соотношения удельного веса этих компонентов различают методы флотации, осаждения.

*Методы флотации*. При методах флотации (всплывания) используют жидкости (насыщенные растворы солей), удельный вес которых больше веса яиц гельминтов. В лабораторной практике наиболее широко применяют насыщенный раствор поваренной соли (удельный вес 1,18). Для приготовления такого раствора в кастрюлю с кипящей водой постепенно добавляют при помешивании хлорид натрия до образования на дне небольшого осадка (на 1 л воды берут около 400 г поваренной соли). Горячий раствор фильтруют в бутыль через несколько слоев марли или вату и применяют после остывания (на дне бутыли должен образоваться кристаллический осадок).

Реже в ветеринарных лабораториях используют насыщенные растворы сульфата мaгния с удельным весом 1,35 (920 г на 1 л горячей воды), гипосульфита натрия с удельным весом от 1,37 до 1,41, в зависимости от температуры окружающей среды (1750 г на 1 л горячей воды) и азотнокислого натрия с удельным весом 1,4 (соотношение селитры и горячей воды 1:1).

*Метод Фюллеборна* характеризуется простотой выполнения и высокой эффективностью при большинстве нематодозов и цестодозов животных, поэтому он занимает первое место среди других гельминтокопрологических методов диагностики.

В стеклянный или пластмассовый стаканчик емкостью 50—100 мл помещают 3—5 г фекалий и при помешивании стеклянной палочкой постепенно добавляют насыщенный раствор поваренной соли из расчета на одну часть фекалий 15—20 частей флотационной жидкости. Плотные фекалии овец предварительно можно растереть с небольшим количеством раствора соли в фарфоровой ступке, после чего суспензию переливают в стаканчик, добавив необходимое количество раствора хлорида натрия. Всплывшие крупные частицы сразу удаляют палочкой, а взвесь фекалий целесообразно профильтровать в другой стакан через сито. После отстаивания заряженной пробы в течение 45— 60 минут металлической петлей снимают три капли поверхностной пленки, помещают их на предметное стекло и микроскопируют без покровного стекла. После каждой пробы, петли промывают в стакане с водой.

*Метод Калантарян* — видоизмененный метод Фюллеборна. В качестве флотационной жидкости используют насыщенный раствор азотнокислого натрия. Время отстаивания взвеси 15—30 минут. Применяют для диагностики трихоцефалеза и акантоцефалезов.

*Методы осаждения*. При методах осаждения используют жидкости с меньшим удельным весом, чем удельный вес яиц.

*Метод* *последовательного промывания*. Небольшое количество фекалий (5 г) размешивают в стаканчике с 10-кратным количеством воды. Смесь фильтруют в большой стакан и доливают воду, после чего фильтрат отстаивают 5 минут. Затем сливают или отсасывают спринцовкой верхний слой жидкости до осадка; к осадку добавляют такое же количество воды, перемешивают и отстаивают снова 5 минут. Эти манипуляции повторяют до просветления верхнего слоя жидкости в стакане. Жидкость последний раз сливают, а осадок наносят на стекло или в бактериологическую чашку и исследуют под микроскопом. Этот метод часто применяют для диагностики большинства трематодозов и акантоцефалезов.

*Метод Горшкова* основан на принципе осаждения с последующей концентрацией яиц гельминтов. 150—300 г фекалий лошади помещают на металлическое сито или марлю в большую стеклянную воронку диаметром в верхней части 15—20 см. На нижний конец воронки надевают резиновую трубку длиной 10—15 см с зажимом на конце. Фекалии разрыхляют и заливают доверху теплой водой. Фекалии в воронке выдерживают от 4 часов до одних суток, после чего зажим осторожно открывают, часть жидкости выпускают в центрифужные пробирки и центрифугируют 3 минуты. Затем жидкость сливают, а осадок исследуют под микроскопом. Этим методом диагностируют драшейоз и габронематоз лошадей.

* Комбинированные методы.

Основаны на принципе осаждения и флотации яиц гельминтов, поэтому более эффективны в сравнении с предыдущими методами исследований. Ввиду сложности эти методы имеют сравнительно ограниченное применение в производственных условиях.

*Метод Дарлинга*. Небольшое количество фекалий (3—5 г) размешивают в стаканчике с 20—30 мл воды, смесь процеживают в центрифужные пробирки и центрифугируют 1—2 минуты, после чего верхний слой жидкости сливают, а к осадку доливают смесь равных частей глицерина и поваренной соли. Смесь в пробирках взбалтывают и вторично центрифугируют. Всплывшие на поверхность яйца снимают вместе с пленкой взвеси проволочной петлей, стряхивают на предметное стекло и микроскопируют. При отсутствии глицерина фекалии можно смешивать перед вторичным центрифугированием с насыщенным раствором поваренной соли.

*Метод Щербовича*. Техника исследования фекалий напоминает предыдущий метод. Отличается от него тем, что перед вторичным центрифугированием к осадку добавляют насыщенный раствор гипосульфита натрия (при макраканторинхозе свиней) или сернокислой магнезии (при метастронгилезе свиней). По сравнению с методом Дарлинга этот метод более эффективен.

*Флотационно-седиментационный метод Демидова* рекомендуют для диагностики фасциолеза, а также других трематодозов жвачных. Пробу фекалий (3 г от овец и 5 г от крупного рогатого скота) помещают в стакан емкостью 200 мл и наливают в него доверху насыщенный раствор поваренной соли и тщательно размешивают стеклянной палочкой, после чего взвесь отстаивают 15—20 минут. Всплывшие на поверхность грубые частицы удаляют бумажным совочком, а надосадочную жидкость отсасывают спринцовкой (при исследовании большого количества проб жидкость можно сливать), оставляя на дне 20—30 мл осадка. К осадку доливают воду до полного объема стакана и тщательно размешивают. Смесь фильтруют в обычный стакан через марлю или металлическое сито и отстаивают 5 минут. Надосадочную жидкость отсасывают, оставляя на дне 15—20 мл осадка, который переносят в конический стаканчик, пропаласкивают обычный стакан и выливают смыв в маленький. Взвесь отстаивают в коническом стаканчике 3—5 минут, а жидкость в последующем отсасывают (эту процедуру повторяют). Просветленный осадок переносят на предметное стекло и микроскопируют. Этот метод эффективнее метода последовательного промывания.

* Гельминтоларвоскопические методы.

*Метод Бермана — Орлова*. Для исследования фекалий используют аппарат, состоящий из средней воронки, резиновой трубки (10—15 см длиной), соединенной верхним концом с воронкой, зажима, укрепленного на нижнем конце резиновой трубки, металлического сита или куска марли и штатива (для одного или нескольких аппаратов). Смонтированный аппарат заполняют теплой водой (35—38°). 10—15 г свежих фекалий кладут на сито или завертывают в марлю и осторожно опускают в воронку. Фекалии от овец выдерживают в аппарате 2—4 часа, а от телят — не менее 6—7 часов. Затем зажим на трубке ослабляют, а вытекающую жидкость собирают в пробирку и центрифугируют в течение 2—3 минут. После этот верхний слой жидкости сливают быстрым опрокидыванием пробирки, а оставшуюся на дне жидкость переносят на предметное стекло и исследуют под микроскопом.

Применение зажимов на резиновую трубку в аппарате Бермана связано с неудобствами, поэтому во многих ветеринарных лабораториях нижние концы резиновых трубок непосредственно соединяют с маленькими пробирками. Перед исследованием осадка под микроскопом жидкость не центрифугируют.

Фекалии жвачных можно исследовать на легочные нематодозы упрощенным методом гельминтоларвоскопии (без использования воронок). Для этой цели применяют небольшие полуконические стаканчики (50 мл). Пробы фекалий помещают на ситечки или завертывают в марлю и опускают в стаканчики с водой. Через несколько часов фекалии удаляют, жидкость из стаканчика отсасывают или сливают, а осадок микроскопируют.

*Метод Вайда*. Несколько шариков фекалий от мелких жвачных помещают в бактериологическую чашку или на часовое стекло и увлажняют их небольшим количеством теплой воды. Через 10—20 минут фекалии удаляют, а оставшуюся жидкость исследуют под малым увеличением микроскопа. Эффективность этого метода значительно ниже в сравнении с предыдущим, поэтому его реже применяют.

*Метод дифференциальной диагностики стронгилятозов по инвазионным личинкам*. Возбудители большинства кишечных стронгилятозов имеют почти одинаковое строение яиц, поэтому при гельминтоовоскопии можно поставить только групповой диагноз (например, стронгилятозы).

Для установления более точного диагноза (родового) в ветлабораториях иногда получают культуру инвазионных личинок стронгилят. Около 5 г фекалий помещают в бактериологическую чашку, закрывают крышкой и ставят ее в термостат при температуре 25—30° на одну неделю. Затем фекалии с личинками исследуют по методу Бермана — Орлова (для выделения инвазионных личинок из фекалий).

Инвазионные личинки разных родов кишечных стронгилят отличаются по величине тела, строению хвостового конца чехлика и по количеству кишечных клеток.

* Гельминтоскопический метод.

При гельминтоскопии (осмотре) фекалий животных можно обнаружить гельминты или их фрагменты, которые выделяются под воздействием медикаментарных средств или самопроизвольно (мониезий и тизаниезий у жвачных, дрепанидотений у гусей и др.). Чтобы обнаружить более мелких паразитических червей у мелких и средних животных, исследуют методом последовательного промывания всю единовременную порцию фекалий, а у крупных животных — часть фекалий. Собранные фекалии после предварительного осмотра помещают в стеклянный цилиндр или большую банку, разбавляют 10-кратным количеством воды и тщательно размешивают. После 10—15-минутного отстаивания верхний слой жидкости сливают, а осадок снова смешивают с водой и отстаивают.

Периодическое промывание и отстаивание фекалий повторяют до просветления верхнего слоя. Верхний слой жидкости последний раз сливают, а осадок малыми порциями просматривают в кюветках с черным и белым дном. Обнаруженных гельминтов собирают при помощи пинцетов, препаровальных игл и кисточек, просматривают под микроскопом, после чего переносят в консервирующую жидкость. Чтобы выявить мелких нематод, осадок дополнительно исследуют по частям при помощи бинокулярной или штативной лупы с 10—20-кратным увеличением.

* Количественные гельминтокопрологические исследования

Количественные методы исследований фекалий позволяют приближенно судить об интенсивности инвазии и об эффективности проводимых дегельминтизаций.

Для учета числа яиц паразитических червей в фекалиях применяют стандартизированный метод Фюллеборна, а также другие методы.

Стандартизированный метод Фюллеборна менее точен в сравнении с методом Столла, но в виду простоты выполнения его широко применяют в ветеринарной практике для контроля эффективности дегельминтизаций животных. По технике выполнения стандартизированный метод напоминает другие методы качественных гельминтоовоскопических исследований. Однако у него имеется ряд особенностей, основными из которых являются следующие: 1) навески фекалий должны быть равными; 2) посуда одного объема, 3) время отстаивания водных взвесей фекалий одно и то же; 4) петли одинакового диаметра, исследование равного количества капель.

Для ориентировочного учета интенсивности диктио-каулезной и протостронгилидозной инвазии у жвачных можно применить стандартизированный метод Бермана— Орлова. Достоверность результатов повышается при увеличении количества и кратности исследований.

**Исследование выделений других органов**

Исследование содержимого конъюнктивальных полостей применяют для диагностики телязиоза крупного рогатого скота. Из спринцовки орошают конъюнктивальные полости водным раствором йода; вытекающую жидкость собирают в кюветку или почковидный тазик и осматривают на наличие телязий. В данном случае водный раствор йода оказывает и лечебное действие.

Исследование истечений из клоаки проводят для прижизненной диагностики простогонимоза птиц. Вытекающую слизь помещают на предметное стекло и исследуют под микроскопом с целью обнаружения яиц возбудителя болезни.

Исследование соскоба с перианальных складок - основной метод диагностики оксиуроза лошадей. Лопатковидной палочкой или спичкой, смоченной смесью равных частей глицерина и воды, делают соскоб с перианальных складок промежности и внутренней поверхности корня хвоста. Соскоб переносят на предметное стекло в каплю глицерина с водой, накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Обнаружение яиц оксиур подтверждает клинический диагноз.

Исследование соскобов кожи из «летних язв» рекомендуется для диагностики кожной формы драшейоза и габронематоза. Соскоб берут со свежеизъязвленной поверхности кожи и помещают в каплю разведенной соляной кислоты (1:1000). Затем препарат расщепляют препаровальными иглами, накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом для обнаружения личинок драшей или габронем.

**Исследование тканей**

Исследование кожи крупного рогатого скота (по Гнединой) применяют для диагностики онхоцеркоза. На нижней брюшной стенке у животного после подготовки операционного поля вырезают небольшой кусочек кожи толщиной 2 мм (с небольшое овсяное зерно), а ранку смазывают настойкой йода. В ветеринарной лаборатории этот кусочек кожи помещают на предметное стекло в физиологический раствор, расщепляют препаровальными иголками, а затем все сливают в центрифужную пробирку и ставят ее на несколько часов в термостат при температуре 37—38°. Затем волокна кожи удаляют, жидкость центрифугируют, а осадок микроскопируют с целью обнаружения подвижных микроонхоцерков.

Исследование кусочков мышц на трихинеллез часто проводят посмертно. Иногда для прижизненной диагностики трихинеллеза используют метод биопсии.

Путем оперативного вмешательства вырезают кусочек мышцы (например, из наружных мышц уха), из которых готовят мелкие срезы (с овсяное зерно). Последние помещают на нижнее стекло компрессория, покрывают верхним стеклом и сближают их винтами до полного расплющивания. Просматривают срезы под трихинеллоскопом, малым увеличением микроскопа, с помощью проекционного трихинеллоскопа или проекционной камеры К.Т.3.

**Диагностические дегельминтизации**

Под диагностической дегельминтизацией понимают такое вмешательство, при котором достигается выделение из желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных хотя бы части паразитических червей для точного установления гельминтологического диагноза. Диагностическую дегельминтизацию проводят в тех случаях, когда клинические признаки дают основание заподозрить наличие болезни у животных, вызванной неполовозрелыми гельминтами. Лабораторные методы диагностики в таких случаях оказываются неэффективными, потому что паразиты в молодом возрасте (преимагинальном состоянии) не выделяют во внешнюю среду яиц или личинок.

Для диагностической дегельминтизации отбирают несколько животных, изолируют от остального поголовья и задают им антгельминтик в терапевтической дозе. Выделенные в течение одних-двух суток фекалии от этих животных собирают и подвергают гельминтоскопическому исследованию на предмет обнаружения возбудителя болезни.

В производственных условиях диагностические дегельминтизации нередко проводят для прижизненной диагностики мониезиоза жвачных, дрепанидотениоза гусей, цестодозов плотоядных, аскаридоза свиней и аскаридиоза кур.

**Исследование промежуточных хозяев гельминтов**

Гельминтологическое обследование животных позволяет только частично выяснить гельминтологическую обстановку в хозяйствах. Оно не вскрывает всех связей животных с внешней средой, часто не позволяет выявить пути циркуляции гельминтозного начала. Поэтому наряду с обследованием животных (дефинитивных хозяев паразитических червей) на гельминтозы большое практическое значение имеет исследование промежуточных хозяев с целью обнаружения в их теле личиночных стадий гельминтов. Это необходимо проводить и потому, что возбудителями большинства гельминтозов сельскохозяйственных животных являются биогельминты, то есть такие паразитические черви, которые развиваются при обязательном участии промежуточных (иногда дополнительных) хозяев. Простота, доступность и высокая эффективность исследования промежуточных хозяев на зараженность их личинками гельминтов позволяют выявлять в хозяйстве наличие определенного гельминтоза и степень его распространения, устанавливать места, где происходит заражение животных, и длительность сохранения инвазионного начала в теле промежуточных хозяев.

Результаты гельминтологического обследования животных всегда должны дополняться данными исследований на гельминтозы промежуточных хозяев. Они позволяют выяснять гельминтологическую ситуацию, прогнозировать появление гельминтозов.

Промежуточными хозяевами гельминтов могут быть моллюски (пресноводные и сухопутные), ракообразные (циклопы, дафнии, бокоплавы, водяные ослики), дождевые черви, насекомые (мухи, мошки, мокрецы, стрекозы, муравьи, жуки), почвенные клещи.

Эпизоотологическое значение имеет плотность (количественный состав) отдельных видов промежуточных хозяев. Чем она выше, тем больше имеется возможностей для заряжения животных гельминтозами. Наземные промежуточные хозяева находятся в разных местах (в навозных кучах, на пастбищных участках и др.). Водные промежуточные хозяева в огромном количестве обитают у берегов стоячих мелких водоемов, в зарослях растений. В этих местах животные (особенно гуси и утки) часто заражаются гельминтозами.

Промежуточных хозяев на наличие личинок гельминтов нужно исследовать в свежем (лучше живом) состоянии под бинокулярной лупой или малом увеличением микроскопа. Личиночные стадии гельминтов в теле промежуточных хозяев находятся на разных стадиях развития, но наиболее заметными являются инвазионные личинки.

В итоге исследований определяется экстенсивность (процент) и интенсивность (количество) инвазированности промежуточных хозяев личинками определенных видов гельминтов.

В производственных условиях исследуют на наличие личинок паразитических червей жуков-носорогов, дождевых червей, моллюсков, водяных осликов, дафний и циклопов.

Орибатидные, или панцирные, клещи (до 1 мм длины). Обитают в верхних слоях почвы. Это промежуточные хозяева мониезий жвачных и других гельминтов. Для обнаружения личинок ленточных червей (цистицеркоидов) предварительно в капле воды на предметном стекле (под контролем лупы) расщепляют на части панцирь орибатидного клеща, затем препарат покрывают покровным стеклом и микроскопируют. Цистицеркоиды мониезий округлой формы (0,15—0,19 мм в диаметре), снабжены четырьмя присосками и хвостовым придатком. Они очень нежные, поэтому не следует применять метод компрессорного исследования клещей.

*Исследование дождевых червей.*

 Дождевых червей по морфологии и условиям обитания разделяют на две группы. Представители одних родов живут под кучами навоза, во влажной почве. Они являются промежуточными хозяевами метастронгилов свиней. В их теле спиралевидные личинки паразита локализуются в тканях пищевода и в кровеносных сосудах. Для обнаружения личинок метастронгилов проводят компрессорное исследование передней четверти тела дождевых червей под микроскопом.

Дождевые черви других родов обитают в водоемах с топкими, илистыми берегами. Они зарегистрированы в качестве промежуточных хозяев возбудителей гистрихоза и поррцекоза уток. Личинка гистрихиса очень крупная (до 3 см длины), беловатого цвета, просвечивает сквозь кожные покровы червя в виде волнистой полосы. Личинки порроцекумов в десять раз меньше предыдущей личинки (2,5—3 мм); они обнаруживаются в кровеносных сосудах при компрессорном исследовании дождевых червей под микроскопом.

*Исследование моллюсков.*

В естественных условиях моллюски часто бывают заражены личинками разных трематод. Излюбленное место паразитирования личинок гельминтов — печень, расположенная в верхушке раковины. Крупных моллюсков (прудовики, живородки) предварительно освобождают от раковины, а мелких берут с раковиной и исследуют компрессорным методом под микроскопом. Церкарии напоминают по форме головастиков лягушек.

Некоторые виды пресноводных моллюсков, являясь резервуарными хозяевами для гименолепидид птиц, могут содержать в пищеварительном тракте личинок (цистицеркоиды) этих паразитических червей, которых можно обнаружить под микроскопом.

*Исследование бокоплавов.*

Бокоплавы достигают длины до 2 см, обитают в морских и пресноводных водоемах. Зарегистрированы они в качестве промежуточных хозяев возбудителей полиморфоза, стрептокароза и тетрамероза птиц. Личинок обнаруживают при компрессорном исследовании этих рачков: личинки (акантеллы) полиморфуса овальной формы, оранжевого цвета, до 1 мм длины, заметны макроскопически.

*Исследование водяных осликов.*

Водяные ослики от 1 до 1,5 см длины, живут в пресноводных водоемах, являются промежуточными хозяевами возбудителя филиколлеза птиц. При компрессорном исследовании можно выявить личинку (акантеллу) белого цвета, овальной формы, 0,7 мм длины.

*Исследование дафний*.

Дафнии в несколько раз мельче бокоплавов. Обитают они чаще в прудах. Зарегистрированы промежуточными хозяевами возбудителей эхинуриоза, а также тетрамероза птиц. Личинки этих паразитов червеобразной формы. Они могут быть выявлены под микроскопом при компрессорном исследовании дафний.

*Исследование циклопов.*

В сравнении с рассмотренными выше ракообразными циклопы значительно меньше их по величине. Они являются промежуточными хозяевами возбудителей цестодозов водоплавающих птиц. Личинки (цистицеркоиды) ленточных червей округлой формы, с хвостовым придатком, локализуются в полости тела над кишечником рачка. Для обнаружения личинок цестод несколько циклопов помещают на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Под средним увеличением микроскопа у личинок паразита можно увидеть присоски и корону крючьев, соответствующие определенным видам взрослых цестод.

Можно также исследовать и других промежуточных хозяев (мошек, мокрецов, мух, стрекоз, жуков, муравьев).

**Инновационные методы диагностики гельминтозов животных**.

Гельминтологические методы исследований часто оказываются неэффективными при гельминтозах сельскохозяйственных животных, вызванных неполовозрелыми паразитами и личиночными стадиями паразитических червей (эхинококками, альвеококками, цистицерками, мышечными трихинеллами, микроонхоцерками). Поэтому все большее практическое значение начинают приобретать иммунологические методы диагностики гельминтозов, базирующиеся на явлениях иммунитета. Иммунологические реакции проявляются при взаимодействии антигена с антителами. Они включают аллергические и серологические методы (реакции преципитации, сколексо-преципитации, агглютинации и связывания комплемента). В настоящее время наиболее приемлемы аллергические методы диагностики. Для проведения их необходимы антигены, обладающие не только иммунизирующим (антигенным), но и сенсибилизирующим действием на организм хозяина (при повторных поступлениях антигенов возможно развитие аллергических реакций). Это свойство гельминтов является основанием для использования с диагностической целью внутрикожной и кожной проб.

*Аллергические кожные реакции* предложены для прижизненной диагностики фасциолеза овец, описторхоза плотоядных, цистицеркоза свиней и крупного рогатого скота, ценуроза овец, эхинококкоза жвачных, мониезиоза овец, аскаридоза свиней, гемонхоза и диктиокаулеза овец, онхоцеркоза крупного рогатого скота и лошадей и трихинеллеза свиней.

На сегодняшний день в паразитологии существует широкий спектр диагностических методов, основанных на молекулярной биологии, а также на биохимии и иммунологии. К ним относятся ПЦР-диагностика, метод ELISA, а также иммуноферментный анализ. Недостатком этих методов являются их высокая цена и невозможность применять в ежедневной ветеринарной практике.

Самый доступный и эффективный анализ крови на паразитов — серологическое исследование. Этот метод позволяет выявить все виды ларвальных (личиночных) гельминтозов.

*ПЦР* – диагностика. Данная технология позволяет выявить в теле животного паразитов, используя специфический анализ ДНК.

Такой инновационный исследовательский метод обнаруживает не только червей, но и простейших, разнообразные вирусы и даже внутриклеточные формы паразитов. Уровень информативности такой диагностики составляет около 90 процентов.

. От гемосканирования он отличается тем, что используемый материал может быть как живой, так и нет. Для ПЦР-анализа подходит не только кровь, но и сыворотка, плазма, другие биологические выделения и жидкости.

*Иммуноферментный анализ (ELISA)* — лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных соединений, макромолекул, гельминтов и пр., в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело. Выявление образовавшегося комплекса проводят с использованием фермента в качестве метки.

*ИФА (иммуноферментный анализ)* — самое распространенное исследование крови на гельминты, смысл которого заключается в изучении характера ответа иммунитета в ответ на воздействие антигена, которым в данном случае выступает паразит. Согласно клиническим испытаниям, эффективность данного теста достигает 90%, что делает его одним из самых специфичных и чувствительных методов диагностики. Материалом для исследования выступает плазма или сыворотка венозной крови. Смысл этого анализа крови на паразитов заключается в выработке определенных видов иммуноглобулинов в ответ на внедрение антигенов в организм. Секреция этих веществ происходит в строгой последовательности, за счет чего можно судить о давности глистной инвазии: Иммуноглобулины M в анализе крови на гельминты бывают видны в течение первых трех суток от начала болезни, что означает начало острой фазы. Иммуноглобулины G начинают вырабатываться через 1-2 месяца после попадания гельминта в организм. Если анализ крови на паразитов показал наличие IgG, можно сделать вывод о переходе процесса в хроническую стадию, либо же животное в прошлом уже переболело этой паразитарной инфекцией. Преимуществами метода ИФА являются малоинвазивность, быстрота получения результатов и возможность наблюдения за ходом болезни в динамике — для этого следует регулярно проверять кровь.

Недостатками иммуноферментного анализа крови на паразитов является то, что он определяет лишь ответ иммунной системы организма животного на конкретного возбудителя, но не выявляет именно наличие самого гельминта. Это означает, что положительная реакция может свидетельствовать и о давнем заболевании, которым животное переболело в прошлом.

*Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)* используется для диагностики альвеококкоза, эхинококкоза, тениоза и аскаридоза при нахождении аскарид в преимагинальной фазе. Смысл исследования заключается в использовании диагностикума — взвеси эритроцитов барана и сенсибилизированной массы паразитов: эхинококковой жидкости при эхинококкозе и альвеококкозе. Свежезамороженные цистицерки при тениозе. Аскаридный компонент при инвазии аскаридами.

*Метод гемосканирования*. Гемосканирование — это инновационный способ исследования крови при многократном увеличении (в несколько тысяч раз). Сканирование крови на гельминты проводится в реальном времени, при этом изображение выводится на монитор компьютера. Материалом для исследования выступает капля капиллярной крови размещенной под объектив микроскопа.

*Общий анализ крови при гельминтозе.*

Внедрение паразита в организм животного вызывает определенные изменения в картине крови, при этом характер изменений будет зависеть от видовой принадлежности гельминта. Нематоды вызывают гипохромную анемию — падение уровня гемоглобина и эритроцитов, а также повышение содержания лейкоцитов (эозинофилов) и СОЭ. Цестоды провоцируют развитие гиперхромной анемии, при которой увеличивается цветовой показатель, но количество эритроцитов и гемоглобина падает. Общий анализ крови не является специфическим методом диагностики гельминтозов, но он может натолкнуть врача на мысль о глистной инвазии.

*РИФ* - реакция иммунофлюоресценции представляет собой лабораторную методику, которая основана на использовании специальных красителей. Этот вид исследования применяют для обнаружения антигенов или выявления антител. Обработанные флуоресцентным красителем они светятся под УФ-излучением.

Кровь на гельминты для такого исследования берут из вены. Взятый анализ на глисты исследуют в 2 этапа. Этот вид диагностики довольно трудоемок.

*РНГА* - реакция непрямой гемагглютинации – исследование поведения эритроцитов в ответ на применение различных антигенов и сывороток. Степень заражения определяют по анализу крови (числу эритроцитов). РНГА превосходит по специфичности и чувствительности прочие серологические методы. Используется для выявления инфекций, вызванных риккетсиями и другими простейшими.

Из серологических методов следует указать на реакцию сколексопреципитации, позволяющую диагностировать ранние стадии эхинококкоза, и реакцию преципитации с использованием живых личинок аскарид и трихинелл для выявления соответствующих гельминтозов.

*Люминесцентная микроскопия*

Метод люминесцентной микроскопии (по В. Г. Эврановой) - новый метод диагностики гельминтозов. Он позволяет дифференцировать однотипные яйца разных видов гельминтов, а также отличать жизнеспособные яйца и личинки от мертвых. Предварительно яйца трематод, цестод и нематод обрабатывают растворами акридина оранжевого и другими флуорохромами. Жизнеспособные яйца и личинки нематод не люминесиируют или слабо люминесиируют, в то время как мертвые ярко светятся и окрашены в оранжевый, желто-зеленый или желтый цвет. При люминесцентной микроскопии можно дифференцировать яйца цестод плотоядных, яйца возбудителей аскаридиоза и гетеракиоза, имеющих сходное строение по величине, форме и окраске, а также различать жизнеспособные и мертвые ооцисты.