



ИНВАЗИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК 616.34-008.3-07:616.993.1:636.2-053

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2020.3.19

АЛГОРИТМ КОПРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ КИШЕЧНЫХ ПРОТОЗООЗОВ ТЕЛЯТ

Н.А. Гаврилова, д.вет.н, профессор, Л.М. Белова, д. биол.н, профессор, Ю.А. Щербина, аспирант, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» Гаврилова Н.А. <https://orcid.org/0000-0001-5651-5976>; Белова Л.М. <https://orcid.org/0000-0003-4473-1940>; Щербина Ю.А.

Ключевые слова: телята, диарея, флотационные исследования, окраска мазков из фекалий, криптоспоридиоз, бластоцистоз.

Key words: calves, diarrhea, flotation tests, staining of faecal smears, cryptosporidiosis, blastocystosis.



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты обследования телят в возрасте до 1 месяца, содержащихся в одном хозяйстве, расположенного на двух фермах в разных районах Ленинградской области. На ферме в д. Осьмино Лужского района диарея выявлена у 45% телят. В условиях лаборатории по изучению паразитарных болезней на кафедре паразитологии им В.Л. Якимова в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» алгоритм копрологического исследования заключался в изготовлении нативного мазка, применении метода Дарлинга с усовершенствованной флотационной жидкостью и окраске мазков фекалий по Романовскому-Гимзе и Цилю-Нильсену по общепринятым методикам. Окраска мазков из фекалий методами Романовского-Гимза и по Цилю-Нильсену позволила обнаружить возбудителей, имеющих размеры 3-5 мкм, которыми обладают *Cryptosporidium sp.* и *Blastocystis sp.* Для обнаружения бластоцист предпочтительным методом диагностики является окраска мазков из фекалий по Романовскому-Гимзе, а для выявления криптоспоридий – по Цилю-Нильсену. Используя данный алгоритм копрологических исследований на животноводческой ферме, расположенной в д. Порожкино, была исключена паразитарная этиология нарушения функции желудочно-кишечного тракта у телят. На животноводческой ферме в д. Осьмино проведенным комплексом копрологических исследований были выявлены возбудители криптоспоридиоза и бластоцистоза и даны рекомендации по проведению лечебно-профилактических мероприятий на данной ферме. Алгоритм диагностики, включающий поэтапное исследование фекалий животных методом нативного мазка, флотационным методом, окраской мазков по Романовского-Гимзе и Цилю-Нильсену позволяет выявить широкий спектр возбудителей и установить не только моно, но и микстинвазию.

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее сложный период сохранения молодняка телят – это первые 10-15 дней их жизни, но в некоторых хозяйствах на этот период приходится до 40-50% потерь животных. Диарея, которая может проявляться от легкого раздражения стула до профузной диареи, сопровождающейся быстрым обезвоживанием, тяжелым нарушением кислотно-основного и электролитного баланса, является одной из причин гибели животных [5, 8]. Установление этиологии нарушения функции желудочно-кишечного тракта крайне важно для назначения специфической терапии и организации профилактики с учетом конкретного патогенна [6, 7].

Диагностика кишечных протозоозов телят основана в первую очередь на выявлении и идентификации возбудителей. Размеры простейших, паразитирующих в органах пищеварения, варьируются в широких пределах [4]. Для обнаружения возбудителей эймериоза необходимо исследование фекалий флотационными методами с дальнейшей микроскопией при увеличении в 400 раз. Видовую принадлежность эймерий возможно установить на основании морфологических особенностей ооцист по Определителю Крылова М.В. (1996) [4]. Для обнаружения особенно мелких простейших, таких как криптоспоридий и бластоцист, необходимо проведение окраски мазков фекалий с последующей микроскопией под иммерсионной системой светового микроскопа при увеличении в 900-1400 раз [1,3,5]. Следует отметить, что сведений о распространении на территории Российской Федерации за последние годы бластоцистоза крупного рогатого скота в научной литературе недостаточно. Однако, эти простейшие – возбудители кишечных протозоозов животных и людей ранее изучались зарубежными исследователями и отечественными учеными [1, 9, 10].

Целью данной работы стала разработка алгоритма лабораторной копрологической диагностики для выявления возбудителей кишечных протозоозов у телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ООО «Племзавод «Бугры» Ленинградской области у телят в возрасте до 1 месяца с симптомами диареи, обезвоживания, истощения и анемии слизистых оболочек отбирали пробы фекалий из прямой кишки. На отделении д. Порожкино Всеволожского района и д. Осьмино Лужского района отобраны пробы фекалий у 20 животных (10 телят на каждом отделении). Копрологические исследования осуществляли в условиях лаборатории по изучению паразитарных болезней на кафедре паразитологии им В.Л. Якимова в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины». Алгоритм исследований каждой пробы фекалий включал изготовление нативного мазка, метод Дарлинга с усовершенствованной флотационной жидкостью [2], окраска мазков фекалий по Романовскому-Гимза и Цилю-Нильсену по общепринятым методикам. Идентификацию возбудителей проводили используя определитель паразитических простейших М.В. Крылова и Л.М. Беловой [4].

Исследование микропрепаратов проводили с помощью микроскопа Carl Zeiss Primo Star при увеличении 8×10, 10×10, 10×40, 10×100.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Обследованием телят в возрасте до 1 месяца в д. Порожкино установлена диарея у 12% поголовья, несмотря на то, что условия их содержания соответствует зоогигиеническим нормам и рацион сбалансирован. Копрологическое исследование, как методом нативного мазка, флотационными методами, так и окраской мазков фекалий по Романовскому-Гимзе и Цилю-Нильсену не выявили возбудителей кишечных инвазий.

На животноводческой ферме, принадлежащей данному хозяйству, но расположенной в д. Осьмино ситуация была иная. При обследовании телят, диарея наблюдалась у 45% поголовья. Установили, что условия содержания животных не соответствовали зоогигиеническим нормам. Телята содержались на глубокой подстилке, которую редко меняли. Кроме

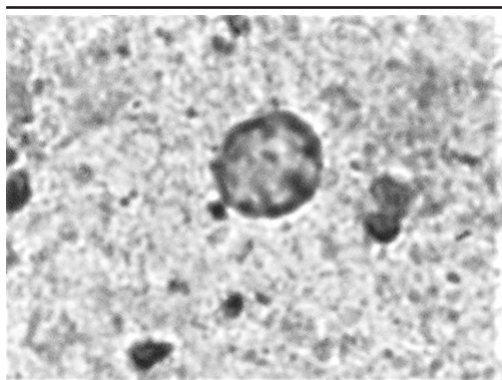


Рис.1. *Blastocystis sp.* в мазке из фекалий. Окраска по Романовскому-Гимзе, ув. 10x100

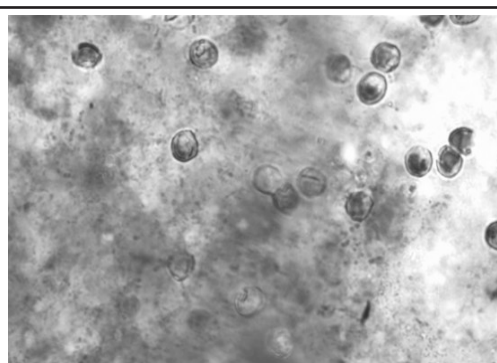


Рис.2. Ооцисты *Cryptosporidium sp.* в мазке из фекалий. Окраска по Цилю-Нильсену, ув. 10x100

Таблица 1

Результаты выявления возбудителей кишечных протозоозов телят различными методами копрологической диагностики

Инв. номер теленка	Возбудители кишечных протозоозов			
	Нативного мазка	Метод Дарлинга	Окраска мазка по Романовскому-Гимзе	Окраска мазка по Цилю-Нильсену
10265	не выявлено	не выявлено	<i>Cryptosporidium sp.</i> <i>Blastocystis sp.</i>	<i>Cryptosporidium sp.</i>
10267	не выявлено	не выявлено		
10318	не выявлено	не выявлено	<i>Blastocystis sp.</i>	<i>Cryptosporidium sp.</i>
10319	не выявлено	не выявлено	<i>Cryptosporidium sp.</i>	<i>Cryptosporidium sp.</i>
10320	не выявлено	не выявлено		
10321	не выявлено	не выявлено	<i>Cryptosporidium sp.</i>	<i>Cryptosporidium sp.</i>
10322	не выявлено	не выявлено		<i>Cryptosporidium sp.</i>
10325	не выявлено	не выявлено	<i>Cryptosporidium sp.</i>	<i>Cryptosporidium sp.</i>
10327	не выявлено	не выявлено	<i>Cryptosporidium sp.</i> <i>Blastocystis sp.</i>	<i>Cryptosporidium sp.</i>
10329	не выявлено	не выявлено	<i>Blastocystis sp.</i>	

того, в первые дни жизни, телятам выпаивали молозиво в объеме 2 литра на голову, что значительно меньше рекомендуемого количества.

Исследованием фекалий методом нативного мазка возбудителей не обнаружили.

Следующим действием стало исследование флотационным методом, которое также не дало положительных результатов.

Далее была проведена окраска мазков из фекалий телят по Романовскому-

Гимзе. Микроскопией при увеличении в 1000 раз были обнаружены включения округлой формы с ядрами, располагающимися полярно от 1 до 4 и окрашенных в темно рубиновый цвет. Они локализовались в узком слое цитоплазмы, располагающейся по периферии клетки паразита. Центральную часть клетки занимала центральная вакуоль. По определителю паразитических простейших М. В. Крылова и Л.М. Беловой [4] возбудители определены как *Blastocystis sp.* (Рис.1).

Кроме того, данным методом был выявлен возбудитель криптоспориоза телят. Следует отметить, что обнаружение ооцист криптоспоридий, окрашенных по Романовскому-Гимзе, затруднительно, так как, имея толстую липидную оболочку они не окрашиваются. Для уверенности в поставленном диагнозе – криптоспориоз, была проведена окраска мазков из фекалий карболфуксином по Цилю-Нильсену. Ооцисты *Cryptosporidium sp.*, окрашенные в разные оттенки красного цвета, имеющие округлую форму и размер около 5 мкм, представлены на рисунке 2.

Результаты копрологических исследований представлены в таблице 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диарея у телят до года является важным клиническим признаком нарушения функции пищеварения, независимо от причин и условий возникновения болезни. В одном хозяйстве на различных отделениях, расположенных в достаточном удалении друг от друга, у телят диарея может быть разной этиологии. Следует отметить, что для подтверждения диагноза на болезни, вызываемые кишечными простейшими, недостаточно проведение метода нативного мазка и флотационных исследований. Окраска мазков из фекалий методами Романовского-Гимза и Циля-Нильсена позволяет обнаружить возбудителей, имеющих размеры 3-5 мкм, которыми характеризуются бластоцисты и криптоспоридии. Для обнаружения бластоцист предпочтительным методом диагностики является окраска мазков из фекалий телят по Романовскому-Гимзе, а

для выявления криптоспоридий – Цилю-Нильсену. Алгоритм диагностики, включающий поэтапное исследование фекалий животных методом нативного мазка, флотационными методами, окраской мазков методами Романовского-Гимза и Циля-Нильсена позволяет выявить широкий спектр возбудителей и установить не только моно, но и микстинвазию.

Используя предложенный алгоритм копрологических исследований, на животноводческой ферме, расположенной в д. Порожкино, была исключена паразитарная этиология нарушения функции желудочно-кишечного тракта у телят. На животноводческой ферме в д. Осьмино проведенным комплексом копрологических исследований были выявлены возбудители криптоспориоза и бластоцистоза и даны рекомендации по проведению лечебно-профилактических мероприятия на данной ферме.

Associative gastrointestinal infection of horses in Leningrad region. N. A. Gavrilo-va, Dr. Habil. (Vet. Sci.), professor, L. M. Belova, Dr. Habil. Biol. Sci.), professor, O. A. Loginova, PhD (Vet. Sci.), assistant, R. S. Sitnikova, PhD student, St. Petersburg State University of Veterinary Medicine
ABSTRACT

The article presents the results of an examination of calves under the age of 1 month, kept in one husbandry located on two farms in different districts of the Leningrad region. Diarrhea was found in 45% of calves at the farm in Osminovillage of, Luga district. In the Laboratory for the Study of Parasitic Diseases at the Department of Parasitology named after V. L. Yakimov at the St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, the scatological study algorithm consisted of making a direct smear, using the Darling's method with an improved flotation fluid and staining fecal smears according to Romanovsky-Giemsa's and Ziehl-Neelsen's techniques. The staining of smears from feces by the Romanovsky-Giemsa's and Ziehl-Neelsen's techniques made it possible to detect pathogens with a size of 3-5 microns, which are typical for *Cryptosporidium sp.* and *Blastocystis sp.* For the detection of blastocysts, the preferred diagnostic method

is the Romanovsky-Giemsa staining of fecal smears, and for the detection of cryptosporidia - Ziehl-Neelsen staining. Using this algorithm of scatological studies on a livestock farm located in the village of Porozhki, the parasitic etiology of dysfunction of the gastrointestinal tract in calves was excluded. At the livestock farm in the village of Osmino, a complex of scatological studies was carried out to identify the causative agents of cryptosporidiosis and blastocystosis, and recommendations were given on the implementation of therapeutic and prophylactic measures on this farm. The diagnostic algorithm, which includes a step-by-step study of animal feces by the direct smear method, flotation method, staining of smears according to Romanovsky-Giemsa's and Ziehl-Neelsen's techniques allows us to identify a wide range of pathogens and establish not only mono, but also mixed infection.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белова, Л. М. Мировая фауна и морфофункциональная организация бластоцист / Л.М. Белова // Зоологический институт РАН – 1992. - 54 С.
2. Белова, Л.М. Новая универсальная флотационная жидкость для комплексных лабораторных исследований / Л.М. Белова, Н.А. Гаврилова, Д.Н. Пудовкин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2012. – №4/1. – 15-17 С.
3. Кириллов, Е.Г. Криптоспориديоз: общая характеристика и особенности его распространения / Е.Г. Кириллов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – Казань, 2014. - №1. - 128-131 С.
4. Крылов, М. В. Определитель паразитических простейших (человека, домашних животных, сельскохозяйственных растений) / М.В. Крылов, Л.М. Белова // Зоологический институт РАН - 1996. - 608 С. / ил.
5. Кряжев, А.Л. Криптоспоридиоз телят в хозяйствах молочной специализации Северо-Запада России: монография / А.Л.Кряжев, П.А. Лемехов. – Вологда. – Молочное: ИЦ ВГМХА, 2010. - 111 с.
6. Никитин, В. Ф. Биолого-эпизоотологические особенности криптоспоридиоза домашних животных и его профилактика / В.Ф. Никитин // Российский паразитологический журнал. - 2007. - №. 1. С.36-38.
7. Никитин, В.Ф. Криптоспоридиоз домашних животных / В.Ф. Никитин // М.: ВИГИС, 2007. 34 - 36 с.
8. Успенский, А. В. Современная ситуация по паразитозам и меры борьбы с ними в России и странах СНГ (по материалам Координационных отчетов) / А.В. Успенский, Е.И. Малахова, Т.А. Ершова // Российский паразитологический журнал - М., 2014. – С. 43-50.
9. Chen X. Q. Description of a *Blastocystis* species from *Rattus norvegicus* / Chen X. Q., Singh ML, Ho L. C., Tan S. W., Ng G. C., Moe K. T., Yap E. H. // Parasitol. Res. 1997. Vol. 83. P. 313—318.
10. Stenze D. J. Morphological differences in *Blastocystis* cysts — an indication of different species? / Stenze D. J., Lee M. G., Boreham P. F. L. // Parasitol. Res. 1997. Vol. 83, N 5. P. 452—457.