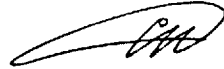


На правах рукописи



Олейников Сергей Николаевич

**ТОКСОПЛАЗМОЗ КОШЕК В УСЛОВИЯХ МЕГАПОЛИСА
(ЭПИЗОТОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА, ТЕРАПИЯ И
ПРОФИЛАКТИКА)**

16.00.03 - ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией
и иммунология

03.00.19 - паразитология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук



Москва-2006

Работа выполнена на кафедре ветеринарной патологии Российского университета дружбы народов.

Научные руководители:

доктор ветеринарных наук, профессор Б.А. Тимофеев
кандидат биологических наук, доцент И.А. Молчанов

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, О.А. Тугаринов
кандидат ветеринарных наук, доцент Д.Н. Шемяков

Ведущее учреждение:

НИИ пушного звероводства и кролиководства

Защита состоится 14 декабря 2006 г. в 12-00 часов на заседании диссертационного совета К 212.203.02 в Российском университете дружбы народов по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Макляя, д.8, корп.2, аграрный факультет.

Адрес электронной почты: v.v. makarov@agro.pfu.edu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Российского университета дружбы народов по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Макляя, д.б.

Автореферат разослан 13 ноября 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат сельскохозяйственных наук,
доцент

В.Н.Гришин

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

Актуальность темы. FAO и ВОЗ рассматривают токсоплазмоз как важную проблему медицины и ветеринарии. Убиквитарное распространение токсоплазм за счёт наличия 3 форм развития (эндозоиты, цистозоиты, ооцисты), их устойчивость к неблагоприятным условиям среды, отсутствие у них хозяйничной специфичности, инвазивность всех стадий жизненного цикла, колоссальная репродуктивная способность и многообразие путей заражения делает указанных простейших опасными для животных и человека. Это подтверждается таким фактом, что около 350 видов позвоночных являются промежуточными хозяевами указанных паразитов (Т.В.Бейер, 1989). Следует также учесть, что токсоплазмы наряду с угрозой здоровья животному, имеют и определённое социальное значение, поскольку миллионы кошек, особенно в крупных городах, находясь в непосредственной близости к человеку, представляют угрозу для здоровья населения, особенно детей.

В условиях антропоургических очагов большое значение в качестве источников токсоплазм имеет домашняя кошка, которая является окончательным хозяином этих паразитов (W.Hutchison, 1965, 1967; L.Jacobs, 1967; J.Dubey 1968,1970; H.Scheffild, 1970; M.Melton, 1969; И.Г.Галузо, 1970 и т.д.) В частности, сообщается, что кошка, съевшая одну инвазированную мышь, выделяет с фекалиями до 20 млн ооцист токсоплазм за одну дефекацию (W.Tadrs, J.Laarman, 1982), хотя количество таких кошек в естественных условиях невелико и обычно составляет в среднем 1% (J.Dubey et al., 1977)

В естественных условиях число реагирующих на токсоплазмоз кошек в иммунологических исследованиях в различных странах неодинаково - от 1 до 96% (J.Dubey, 1968, 1973,1976, V. Svobodova et al., 1998, В.Ф.Новинская, 1966 и др.), что объясняется существованием в природе штаммов неодинаковой вирулентности (Б.А.Тимофеев, 1975; И.И.Вершинин, 1996 и др.).

Следует учесть, что некоторые штаммы, указанных паразитов, циркулируют в природе, минуя своего окончательного хозяина, то есть существуют без прохождения кишечной фазы развития, подтверждая свою факультативную гетерогенность (И.Г. Галузо и др., 1970, 1971, И.И. Вершинин, 1996).

Рассматривая симптоматику токсоплазмоза у кошек, необходимо отметить её разнообразие: общее истощение, истечения из носа и глаз, слабость, депрессию, лихорадку, диарею, различные нервные расстройства и патологию органов зрения (В.Ф.Новинская, 1966; М.Петрас, J.Carpentner, 1965, M.Lappin et al., 1993, M.Chavkin et al., 1994 и др.), хотя существуют другие взгляды – бессимптомное носительство является обычным явлением у кошек (Т.Hagivara et al., 1981, J.Dubey, 1988)

Касаясь последнего, необходимо отметить наличие ряда работ по установлению в глазной жидкости токсоплазменных IgG и IgM, выраженных хориоретинитов, увеитов (M.Chavkin et al, 1994, D.Burney et al. 1998). К сожалению, в литературе очень мало сведений по особенностям этой инвазии у кошек в условиях крупного мегаполиса, хотя паразитарные болезни собак и

кошек в мегаполисе города Москвы занимают 4-5 место среди другой патологии (М.В. Розовенко, 2002).

Как известно, для диагностики токсоплазмоза животных широко используются серологические методы: реакция связывания комплемента, метод флуоресцирующих антител и другие способы, например копрологические, а в последнее время - полимеразная цепная реакция (Э.А.Кузнецова, 2001). Однако их практическая ценность не равнозначна, поэтому до установления связи патологии, наблюдаемой у животных, и положительно реагирующих на токсоплазмоз, необходимо иметь высокочувствительный и простой по технике исполнения метод, который в одинаковой степени был бы приемлем и для практических ветеринарных лабораторий. Очень скудными являются сведения по лечению животных, больных токсоплазмозом, хотя описывается применение с положительным результатом химкокцида и байкокка (А.Н. Крылов, 1982; Е.М.Кузовкин, 2000, О.Hanssp, 1996 и др.). Однако токсические свойства химкокцида и его эффективность при токсоплазмозе кошек в полной мере не изучены.

Таким образом, изучение эпизоотической ситуации и других вопросов токсоплазмоза кошек в условиях крупного мегаполиса на примере Москвы и Московской области, а также разработка мер борьбы с токсоплазмозом является актуальной проблемой.

Цель и задачи исследования. В связи с изложенным, целью наших исследований было изучить эпизоотическую ситуацию, некоторые вопросы иммунитета, диагностики, терапии и профилактики токсоплазмоза плотоядных в г. Москве и Московской области.

Для выполнения поставленной цели нашими задачами было:

- изучить пути распространения токсоплазмоза кошек в условиях мегаполиса на примере г. Москвы и Московской области;
- провести сравнительное изучение жизненных циклов 2-х штаммов токсоплазм – высоковирулентного «RH» и слабовирулентного «3» и их факторов патогенности;
- провести сравнительное изучение следующих методов диагностики токсоплазмоза: РСК (реакция связывания комплемента), РФА (реакция флуоресцирующих антител), ПЦР (полимеразная цепная реакция), копрологический метод исследования;
- изучить семиотику экспериментального токсоплазмоза кошек и пути заражения указанной инвазией;
- изучить токсические и лечебные свойства химкокцида при токсоплазмозе кошек;
- усовершенствовать меры борьбы с токсоплазмозом кошек в условиях мегаполиса.

Научная новизна работы. Изучена роль и место токсоплазмоза в формировании инвазионной патологии у плотоядных, контаминации внешней среды токсоплазмами, уточнена трансмиссия инвазии в современных условиях г. Москвы и Московской области. Установлены различия жизненных циклов

токсоплазм, их вирулентность, а также изучены токсические и лечебные свойства химкокцида для кошек при экспериментальном токсоплазмозе.

Практическая значимость работы. Разработаны «Методические рекомендации «Токсоплазмоз животных и цистозоспороз собак и кошек. Профилактика и меры борьбы». Рекомендации одобрены Секцией инвазионные болезни животных и утверждены Отделением ветеринарной медицины РАСХН 04.03.2005. Разработана методика лечения кошек, заражённых и больных токсоплазмозом.

Апробация работы. Сделаны сообщения на Всероссийской научно-практической конференции (Волгоград, 2004), на ежегодных научных конференциях ветеринарного отделения аграрного факультета РУДН (2002-2006), на научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями», (Москва, 2005).

Положения, выносимые на защиту:

- особенности эпизоотического процесса при токсоплазмозе кошек в условиях г. Москвы;
- семиотика экспериментального и спонтанного токсоплазмоза кошек;
- токсические и лечебные свойства химкокцида при токсоплазмозе кошек.

Объём и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных исследований, их обсуждения, выводов, практических предложений, списка использованной литературы из 229 источников, в том числе 169 иностранных, и приложения. Работа иллюстрирована 15 таблицами, 1 графиком и 14 рисунками.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследования, штаммы возбудителей

Распространение и семиотику токсоплазмоза изучали путём клинических, серологических и копрологических методов исследования кошек, поступивших на приём в ветеринарные учреждения г. Москвы и Московской области в 2000-2004 г. Для изучения жизненного цикла токсоплазм и клинического течения болезни у кошек осуществляли их заражение в лабораторных условиях.

В работе использовали 2 штамма токсоплазм: «РН», выделенный в США из головного мозга умершего ребёнка, по имени которого и назван указанный штамм, и маловирулентный, выделенный от зайца в Чехословакии, условно обозначенный «З». Оба штамма были получены из НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи.

Штаммы поддерживали путём периодических пассажей на белых мышцах. Штамм «РН» перевивали один раз в 7 дней, штамм «З» - один раз в 25-30 дней.

Сравнительное изучение этих штаммов проводили на белых мышцах (200 голов) по следующим показателям: вирулентность при внутрибрюшном введении, наличие у изучаемых штаммов гиалуронидазы и диффузного фактора,

степень инвазированности паренхиматозных органов мышей эндозоидами, наличие цист в головном мозге мышей, содержание паразитов в перитонеальном экссудате мышей, наличие токсоплазменных антител в сыворотке крови и кишечного цикла развития у котят, морфологические показатели: длину и ширину эндозоитов в микронах.

При изучении восприимчивости лабораторных животных (белых мышей и кроликов) к различным дозам токсоплазм (штамм «RH») было проведено 14 опытов на белых мышах и 3 опыта на кроликах. Дозы токсоплазм для мышей составляли от 100 паразитов до 1320 тыс, для кроликов - от 404 тыс до 23 млн. Материал от павших кроликов подвергали патоморфологическому исследованию.

Изучение жизненного цикла развития токсоплазм проводили на 12 новорожденных котятах, которых заражали перорально эндозоидами токсоплазм штамма «RH» из перитонеального экссудата белых мышей. Для изучения жизненного цикла штамма «З» использовали 5 новорожденных котят. Для этой цели приготавливали суспензию из головного мозга мышей, заражённых этим штаммом и вводили животным алиментарным путём. Котят убивали по 1-2 головы через 24, 48, 72, 96 и 144 часов. Из разных отделов тонкого кишечника (12-ти перстной, тощей и подвздошной) делали мазки-отпечатки со слизистой оболочки, а также брали по 2-3 кусочка, которые подвергали гистологической обработке по общепринятой в патологической анатомии методике.

Для получения ооцист токсоплазм 4 взрослые кошки и 9 котят (предварительно исследованных на наличие изоспор и яиц аскарид) заражали алиментарным путём соответственно эндозоидами токсоплазм штамма «RH» (перитонеальный экссудат белых мышей) и штамма «З» (суспензия головного мозга белых мышей). У животных через 2—4 дня брали кал для исследования на наличие ооцист токсоплазм. С этой целью кал обрабатывали с помощью флотационного метода (И.И. Вершинин, 1966).

Изучение инвазивных свойств ооцист токсоплазм штамм «З». В суспензию головного мозга мышей, заражённых штаммом «З», добавляли антибиотики (по 100000 ед. пенициллина и стрептомицина) для обезвреживания посторонней микрофлоры и вводили в этот же день внутрибрюшинно 2-3 белым мышам. Остальную часть собранного материала сохраняли при комнатной температуре (+25, +28°C) в течение 30-40 дней (для споруляции). Этот же материал вводили алиментарным путём в объёме 1 мл 2-3 белым мышам через 33, 34, 37 дней хранения. Через 25-30 дней мышей (если они не погибли) убивали, из органов делали мазки-отпечатки. Затем паренхиматозные органы в ступке измельчали с добавлением стерильного физиологического раствора хлорида натрия и антибиотиков и вводили новой партии из 2-3 мышей. Таким путём были проведены 5 пассажей. Мазки-отпечатки фиксировали в метиловом спирте, окрашивали по Романовскому и исследовали их на наличие токсоплазм.

Для изучения эпизоотической опасности ооцист токсоплазм для животных 5 собакам и 7 кроликам в возрасте 10 мес. была введена алиментарным путём суспензия фекалий кошек, заражённых токсоплазмами штамма «З» и 5 собакам суспензия фекалий кошек, заражённых штаммом «RH»

после флотационной обработки и выдерживания при комнатной температуре в течение 40 дней. Объём вводимой суспензии составлял для кроликов – 0,5 мл (250 тыс ооцист), для собак – 2 мл (около 1 млн ооцист).

Изучение наличия гиалуронидазы и диффузионного фактора у токсоплазм. Для проведения опытов было использовано два штамма токсоплазм: высоковирулентный «РН» и маловирулентный «З». С целью установления диффузионного фактора и гиалуронидазы были испытаны следующие препараты, изготовленные из токсоплазм:

1.Центрифугат перитонеального экссудата белых мышей.

2.Суспензия токсоплазм, полученная из перитонеального экссудата белых мышей, подвергнутая 10-ти кратному замораживанию и оттаиванию (лизат).

3.Лиофилизированный токсоплазмозный антиген для РСК, полученный из института им. Н.Ф.Гамалеи

4.Необработанный перитонеальный экссудат белых мышей, заражённых слабо- и сильновирулентным штаммами токсоплазм.

Для изучения гиалуронидазной активности токсоплазм готовили растворы гиалуроновой кислоты. Растворы гиалуроновой кислоты готовили по методике Смирновой Л.Г. (1951).

Перед постановкой реакции муцинового теста производили титрование гиалуроновой кислоты. Цель титрования: определить наименьшую дозу раствора гиалуроновой кислоты, которая после пребывания в термостате даёт чёткий сгусток с уксусной кислотой. В наших исследованиях рабочая доза гиалуроновой кислоты составила 0,1-0,2 мл.

Кроме того, гиалуронидазную активность у токсоплазм изучали также по методике Бони и Орси (1963).

Кожный метод или метод in vivo. Из штамма «РН» центрифугатов было приготовлено 7 серий, лизатов - 7; из слабовирулентного штамма – 4 серии лизата; токсоплазмозный антиген для РСК-1 серия; перитонеальный экссудат белых мышей, заражённых сильно и слабовирулентным штаммом – по 1 пробе.

При экспериментальном токсоплазмозе кошек - заражали воздушно-капельным, алиментарным и подкожным путями различными дозами токсоплазм (эндозоитами, цистами) 30-40-100-150-400 тыс. паразитов; нанесением перитонеального экссудата белых мышей, содержащих эндозоиты токсоплазм, на конъюнктиву и кожу. Определяли возможность заражения через молоко, а также контактным путём. Под опытом находилось 12 котят, 33 кошки разного возраста и пород. У животных брали кровь из v. saphenoi для серологических исследований, с целью исключения у них спонтанного токсоплазмоза.

Серологические методы исследования.

- Реакция флуоресцирующих антител.

Антивидовые сыворотки кошек приобретали в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи.

Антиген готовили по методу Гольдмана (1957).

- РСК ставили согласно наставлению по применению для диагностики токсоплазмоза животных в РСК № 13-7-2/1107 от 04.12.97.

Постановку ПЦР осуществляли согласно Временному наставлению по применению тест-системы для диагностики токсоплазмоза животных методом полимеразной цепной реакции (ТОКС) №13-5-02/0941, ТУ № 9388-097-06-49-41-09-03 в коммерческих диагностических ветеринарных лабораториях.

Изучение токсических свойств химкокцида изучали на белых мышах при алиментарном введении препарата в дозе от 1500,4 до 6000 мг/кг (в объёме от 0,2 до 0,7 мл). Основные параметры токсичности вычисляли по методу Кербера (1931). Кумулятивные свойства химкокцида изучали по методу Lim (1961).

Лечебную эффективность химкокцида изучали на котятках в возрасте 1,5-2 месяца, которых заражали токсоплазмами штамма «РН» в количестве 50-70 тыс. паразитов суспензией головного мозга мышей, содержащих цисты токсоплазм штамма «З». Химкокцид применяли в дозе 18-24 мг/кг массы тела.

Весь цифровой материал, полученный в работе, обрабатывали статистически по Стьюденту. Оценку среднестатистической ошибки проводили по таблице распределения Стьюдента для малых выборок значимости (Г.Ф.Лакин, 1990).

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Клинико-эпизоотологический мониторинг токсоплазмоза кошек

В течение 2000-2004 гг. в Москве паразитологическому исследованию было подвергнуто 81 кошка различных пород и возраста. У этих животных брали кровь для серологических исследований с помощью РСК, РФА и фекалии на наличие ооцист токсоплазм. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Итоги проверки кошек на токсоплазмоз.

Количество кошек и их возраст	Реагирующие положительно по				Наличие ооцист в фекалиях	%
	РСК	%	РФА	%		
25 кошек до 1 года	0	0	2	2,4	1	1,2
56 кошек старше 1 года	19	23,4	25	30,8	5	6,1

Из таблицы видно, что более чувствительной является реакциями флуоресцирующих антител. Совпадения результатов по 2 реакциям отмечали в 16 случаях. Более высокий титр антител наблюдали в РФА (1:80 ++++). Из клинических признаков у 6 животных отмечены патология глаз (кератиты, увеиты, блефариты и т.д.), у 8 - бронхит, у 10 - диарея, сопровождающая

слабостью, потерей аппетита; у 2 нервный тик головы. Необходимо отметить подобные признаки регистрировали и у кошек с отрицательными серологическими реакциями.

Кроме того, в 2004 году было подвергнуто осмотру 250 кошек разных пород и возраста на наличие патологии глаз (увеиты, катаракта и т.д.) с одновременным исследованиями их глазной жидкости с помощью ПЦР. Ни в одном случае не было выявлено поражение глаз и положительной полимеразной цепной реакции.

2.2.2 Жизненный цикл токсоплазм

При изучении жизненного цикла токсоплазм в наших опытах при заражении котят токсоплазмами «3» (эндоzoиты) было установлено, что препатентный период составлял 9-12 дней, патентный - 34 дня. Выделение ооцист с фекалиями у заражённых кошек регистрировали периодически (на 10, 12, 14 и 18 дни после заражения).

Вместе с тем выделение ооцист токсоплазм у животных при введении им эндоzoитов штамма «RH» не отмечали. Также не обнаружили кишечного цикла развития паразитов этого штамма. Указанные материалы свидетельствуют о факультативной гетероксенности токсоплазм, то есть штамм «RH» существует в природе при отсутствии кишечной фазы развития в окончательном хозяине.

При исследовании гистосрезов кишечника и мазков-отпечатков паренхиматозных органов новорожденных котят, заражённых алиментарным путём штаммом «3» удалось проследить 2 пути развития:

- первый - кишечный, специфически приуроченный к организму кошек
- второй - внекишечный, проникновение мерозоитов из клеток кишечника в другие органы и ткани кошек

Кишечный путь, предшествующий образованию ооцист, протекает по схеме, принципиально сходной с жизненным циклом развития кокцидий рода *Isospora*. Обнаружены различные стадии токсоплазм на всём протяжении тонкого отдела кишечника, и особенно, в тощей и подвздошных кишках.

При гистологическом исследовании кишечника котят, заражённых штаммом «3», установлена гиперсекреция слизи, дистрофия эпителия ворсинок – у одного котёнка в двенадцатиперстной, а у остальных в тощей и подвздошных кишках. В отдельных участках встречаются ворсинки в состоянии некробиоза и некроза. Соединительная ткань собственного слоя слизистой оболочки слабо отёчна и инфильтрирована лимфоидными клетками. В паренхиматозных органах отмечено наличие дистрофии. При гистологическом исследовании кишечника котят, заражённых штаммом «RH», установлено слабовыраженное набухание ворсинок и гиперемия слизистой и подслизистой двенадцатиперстной кишки и чётко выраженной патологией в органах и тканях этих животных, что подтверждает факт не обязательного наличия кишечной фазы развития у некоторых штаммов токсоплазм. (рис. 1, 2)



Рисунок 1. Микрофотография гистосреза подвздошной кишки 2-х дневного котёнка, заражённого алиментарным путём цистами токсоплазм «3». Набухание ворсинок в слизистой оболочке. Дистрофия покровного эпителия, ворсинки с признаками развивающегося некролиза. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение 1:400.



Рисунок 2. Микрофотография гистосреза подвздошной кишки 2-х дневного котёнка, заражённого алиментарным путём эндозонтами токсоплазм «RH». Слабовыраженное набухание ворсинок и гиперемия слизистой и подслизистой оболочек. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение 1:400.

2.2.3. Сравнительное изучение штаммов «RH» и «3»

В числе факторов, определяющих особенности токсоплазмозной инвазии важное значение имеет многоштамдность токсоплазм.

Как было установлено, после внутрибрюшинного введения 100 белым мышам высоковирулентного штамма «RH» все животные погибали через 4-5 дней, после введения слабовирулентного штамма «3» через 25-30 дней из 100 белых мышей пало 15. Высокая вирулентность штамма «RH» по сравнению со штаммами «3» подтверждается высокой степенью инвазированности эндозонтами внутренних органов, их значительно большим содержанием в перитонеальном экссудате мышей.

Цисты токсоплазм обнаружены в головном мозге мышей, заражённых штаммами «3». Паразитемия у животных сопровождалась, как правило, выработкой антител в титре 1:10, свечение в РФА ++++. Морфологические признаки (длина и ширина эндозоитов) исследуемых штаммов были близки друг к другу.

Таким образом, штамм токсоплазм «RH» является более вирулентным, чем штамм «3».

2.2.4 Изучение инвазивных свойств ооцист токсоплазм

Для этой цели фекалии от кошек, заражённых эндозонтами штамма «3», собирали и помещали в чашки Петри, куда для получения суспензии была добавлена водопроводная вода. В дальнейших опытах было определено

развитие инвазивности ооцист токсоплазм штамма «З» при хранении их в условиях внешней среды (при $t +25 - +28^{\circ} \text{C}$).

Степень споруляции и инвазивности ооцист определяли через 33, 34, 37 дней. Для этого к суспензии фекалий, добавляли пенициллин и стрептомицин (по 100 000 ед. на мл) и вводили алиментарным путём по 1 мл белым мышам. После заражения во всех случаях мыши погибли, что указывает на инвазивность спороцист. После гибели мышей из внутренних органов готовили мазки-отпечатки. При их просмотре во всех случаях обнаруживали токсоплазм.

В результате проведённых исследований установлено, что инвазивность ооцист после хранения во внешней среде наступает через 33 дня, что указывает на завершение к этому сроку споруляции.

2.2.5. Эпизоотическая опасность ооцист токсоплазм для животных

Для выяснения эпизоотической опасности токсоплазм штамма «RH» (при предполагаемом наличии ооцист в фекалиях кошек), в опыт было взято 5 собак, которым ввели перорально суспензию фекалий указанных кошек. В течение 40 дней наблюдения за собаками факт их заражения не установили. Двукратное исследование сыворотки крови на наличие токсоплазменных антител собак дало отрицательный результат. При выяснении эпизоотической опасности ооцист штамма «З», суспензию фекалий заражённых им котят, вводили алиментарным путём 5 собакам и 7 кроликам.

Как показали опыты, все кролики после введения суспензии фекалий от котят, заражённых штаммом «З», через 4-5 дней заболели, у них исчез аппетит, развилась депрессия, два из них через 10-16 дней пали. При серологическом исследовании (РФА) через 20 дней у 2 из 5 оставшихся в живых кроликов в крови установили антитела (1:10, в свечении в РФА +++).

У собак с 3-го по 6 день наблюдали повышение температуры тела до $40,4-41,9^{\circ}\text{C}$. Животные были угнетены, малоподвижны, у них отсутствовал аппетит. Впоследствии животные выздоровели.

На вскрытии убитых собак и кроликов (через 30 дней после заражения) во всех случаях наблюдали набухание и гиперемия мезентеральных лимфатических узлов. В лёгких – участки застойной гиперемии, ателектаза, печень была плотной консистенции, нервномерно окрашена в красно-коричневые тона. Почки-серовато-красного цвета, плотной консистенции. Граница коркового и мозгового слоёв сглажена. Селезёнка увеличена, пульпа легко соскабливается.

При гистологическом исследовании установлено: в печени – слабо выраженная застойная гиперемия, в отдельных дольках по ходу синусоидов встречаются незначительные скопления клеток пролиферирующего эндотелия и лимфоидных клеток, слабое набухание гепатоцитов, а также очаги некроза и некробиоза паренхимы. В селезёнке – в красной пульпе несколько повышенное содержание лимфоидных элементов, набухание эндотелия сосудов. В почках – слабая зернистая дистрофия эпителия канальцев коркового слоя. В некоторых клубочках – небольшой серозный выпот. В сердце – слабо выраженное

набухание мышечных пучков миокарда, встречаются капилляры с повышенным содержанием лейкоцитов. В лёгких – гиперемия, диапедезные кровоизлияния в альвеолах, серозный отёк, наблюдаются небольшие скопления лимфоидных клеток в отдельных ацинусах, а также в альвеолярных перегородках, последние – набухшие, клетки мезенхимы – активизированы. В мезентериальных лимфоузлах – лимфоидная гиперплазия мягкотных шнуров, крупноклеточные пролифераты по синусам.

На вскрытии павших кроликов установлено: в лёгких – участки бронхопневмонии, селезёнка увеличена, полнокровная пульпа легко соскабливается, печень набухшая, портальные лимфоузлы увеличены, слегка уплотнены. Почки – мягкой консистенции, граница коркового и мозгового слоя сглажена.

2.2.6 Экспериментальный токсоплазмоз кошек

При заражении кошек токсоплазмами штаммы «RH» и «З» получены следующие результаты.

- попытка заразить воздушно-капельным путём кошек оказалась неудачной;
- алиментарный путь заражения возможен только при введении кошкам больших доз токсоплазм (400 тыс паразитов), при скармливании головного мозга белых мышей с цистами токсоплазм или при скарификации слизистой ротовой полости;
- скарификация кожного покрова с последующим нанесением токсоплазм вызывает заражение и появление токсоплазменных антител в сыворотке крови;
- подкожное введение или инстилляция токсоплазм на конъюнктиву сопровождается болезнью животных: повышением температуры тела, потерей аппетита, патологией глаз, появлением в сыворотке крови токсоплазменных антител и даже гибелью животных;
- попытки передачи токсоплазм контактным путём (при совместном содержании) оказались неудачными;
- токсоплазмы передаются с молоком заражённых кошек котятм сосунам.
- Реакция флюоресцирующих антител является более чувствительной, чем РСК.

2.2.7 Сравнительное изучение реакции флуоресцирующих антител, полимеразной цепной реакции и копрологического метода исследования на токсоплазмоз

С целью выяснения диагностической ценности вышеуказанных методов анализа были заражены алиментарным путём эндозонтами штамма RH две кошки в возрасте 2 лет (беспородные). У этих животных брали кровь и фекалии для исследования каждые 7 дней в течение 2 месяцев.

Серологическая реакция показала рост титра антител до титров 1:1024 на 21 день. У разных кошек серологическая реакция была разной.

Ооцист токсоплазм в фекалиях не установлено. ПЦР при исследовании фекалий кошек была положительной у обеих кошек через 7 дней и далее все дни исследований.

Рассматривая указанные материалы, следует отметить, что ПЦР выявляет наличие ДНК исследуемых объектов без чёткого определения живых или мёртвых паразитов.

2.8. Опыт по химиотерапии и химиопрофилактике токсоплазмоза кошек

Опыт по химиотерапии котят, экспериментально заражённых токсоплазмами, оказались положительными при назначении химкокцида в течение 7 дней в дозе 18-24 мг/кг массы тела.

Изучение токсических свойств химкокцида

Для работы использовали 15% концентрацию химкокцида на приготовленной выше суспензии натрия карбоксиметилцеллюлозы. Для этой цели его тщательно растирали в фарфоровой ступке, постепенно добавляя указанную суспензию. Для дальнейших опытов использовали белых мышей с массой тела от 18 до 20 грамм.

Расчёт среднелетальной дозы рассчитывают по Керберу.

Всего испытано 4 дозы – по 10 белых мышей на каждую дозу. Летальной дозой для всех опытных животных была доза 5607.4 мг/кг массы тела, а ЛД₅₀ - 3335.5 мг/кг.

Кумулятивные свойства химкокцида

Для выявления кумулятивных свойств химкокцида использовали метод субхронической токсичности (Lim, 1961). Опыт проводили в течение 24 дней. В соответствии с данным методом в первые 4 дня вводили белым мышам 0,1 ЛД₅₀, на следующие сутки дозу увеличивали в 1,5 раза и вводили следующие 4 дня и.т.д.

Опыт был поставлен на 60 белых мышах с массой тела 19-20 грамм, которые по принципу аналогов были разделены на 2 группы, по 30 мышей в каждой. Животные первой группы получали испытуемый препарат, вторая группа служила контролем. Препарат вводили ежедневно, индивидуально, при помощи шприца с оливой, пероральным путём в виде водной суспензии в объёме 0,6 мл.

В зависимости от коэффициента кумуляции Л.И. Медведь (1974) делят вещества на 4 группы. В нашем опыте этот коэффициент равен 8,16, что даёт основание отнести химкокцид к 4 группе со слабовыраженной кумуляцией.

3. ВЫВОДЫ

1. Проведенные в 2000-2004 гг. обследования кошек клинико-сериологическими и копрологическими методами в условиях мегаполиса показали, что положительно реагировало на токсоплазмоз по РФА и РСК соответственно 33,8% и 23,4%. При копрологической проверке выявлено 7,3% кошек, выделяющих ооцисты.

2. Изучение путей возможного заражения кошек токсоплазмами показало, что оно наиболее легко осуществляется через слизистые оболочки ротовой полости, глаз, при алиментарном введении, через молоко и скарифицированную кожу. Ооцисты токсоплазм (штамм «З»), выделенные от кошек, при заражении цистными формами паразитов и введенные алиментарным путем собакам и кроликам вызывают кратковременные переболевания у собак и тяжелое с гибелью у кроликов.

3. У штамма токсоплазм, выделенного от зайца «З», установлено наличие кишечного цикла развития в организме кошек с образованием ооцист токсоплазм. Споруляция этих форм осуществляется во внешней среде. У токсоплазм штамма «РН» половой цикл в кишечнике кошки выявить не удалось. При сравнительном исследовании вирулентных свойств штаммов «РН» и «З» показано более высокая выраженность признака у штаммов «РН». Наличие гиалуронидазы и диффузионного фактора у них не установлено.

4. Реакция флуоресцирующих антител для диагностики токсоплазмоза кошек является более чувствительная, чем РСК.

5. Полимеразная цепная реакция при экспериментальном заражении кошек штаммом «РН» выявляет ДНК токсоплазм при исследовании фекалий.

6. Химкокцид обладает лечебным действием при его алиментарном введении в дозе 18-24 мг/кг массы тела кошки, 1 раз в день в течение 7 дней. Назначения препарата сопровождалось прекращением выделения ооцист.

7. ЛД₅₀ химкокцида составляет 3335.5 мг/кг массы тела, что позволяет отнести его к 3 классу опасности (ГОСТ 12.1.007-76). Коэффициент кумуляции равен 8.16, что свидетельствует о его слабо выраженной кумуляции.

4. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ НАУЧНЫХ ВЫВОДОВ

1. На основании проведённых исследований разработаны методические рекомендации «Токсоплазмоз животных и цистоизоспороз собак и кошек. Профилактика и меры борьбы» Рекомендации одобрены Секцией инвазионных болезней животных и утверждены Отделением ветеринарной медицины РАСХН 04.03.2005. В методических рекомендациях большое значение уделено вопросам профилактики инвазии среди животных природного биоценоза, которые включают в себя мероприятия организационного, зооигиенического и ветеринарно-санитарного порядка с учётом особенностей эпизоотического процесса. Предупреждение заражения человека и животных токсоплазмозом включает:

- Ограничение популяции кошек, регулирование их содержания и дегельминтизация, в том числе и против токсоплазмоза. Бродячих кошек уничтожают.
- Охрана кошек от заражения. Для предупреждения заражения кошек необходимо строго соблюдать правила убоя сельскохозяйственных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса.
- Кошек, находящихся в личном пользовании работников животноводства, а также в животноводческих помещениях, подвергают профилактической обработке химкокцидом в дозе 24 мг/кг корма 1 раз в день 7 дней подряд 1 раз в полгода или байкоксом в дозе 7 мл на 1 кг массы тела 3 раза в день двумя 3-х дневными курсами с интервалом 3 дня с питьевой водой.
- Больных токсоплазмозом сельскохозяйственных животных подвергают убою. Мясо от них используют после проварки или глубокого замораживания согласно п.134, литеров «а» и «б» «Правила ветеринарно-санитарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясopодуkтов». Субпродукты уничтожают.
- Подозрительных по заболеванию животных ставят на учёт. Молоко от таких животных разрешается использовать только после пастеризации.
- За всеми подозрительными по заболеванию животными ведут ветеринарные наблюдения и через 2-3 недели (в течение 3-х месяцев) проводят исследования сыворотки крови на токсоплазмоз с помощью РСК, или РФА. При отсутствии повышения или снижении титра антител этих животных переводят в группу здоровья.
- Мёртворожденные и абортированные плоды направляют для исследования в лабораторию.
- При дифференциальной диагностике у кошек необходимо исключить вирусный энтерит, ринотрахеит и панлейкопении.

- Шкуры, полученные после убоя больных или подозрительных по заболеванию токсоплазмозом животных, выпускают без ограничения после их консервирования (посолка, высушивание и др.)
- Личная профилактика. Поскольку заражение возможно при проглатывании ооцист с загрязнёнными фекалиями продуктов питания нельзя употреблять их в пищу в невымытом виде, а также пить некипяченую воду из природных водоёмов.
- Дезинфекция. Помещение, где находились больные и подозрительные по заболеванию животные, дезинфицируют одним из следующих дез. растворов: 3%-ным раствором едкой щёлочи, 2%-ным раствором формальдегида, 2%-ным раствором формалина, суспензии хлорной извести с 5% активного хлора.

2. Разработана методика химиопрофилактики токсоплазмоза кошек с помощью химкокцида, который оказался малотоксичным препаратом со слабовыраженной кумуляцией.

5. СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. С.Н. Олейников, М.И. Кошелева, И.А. Молчанов. Зоонотические аспекты токсоплазмоза. «Продовольственная безопасность XXI век эколого-технические аспекты» Сб.науч. трудов, Екатеринбург, 2000, т.1, 394-398.
2. С.Н. Олейников, М.И. Кошелева, И.А. Молчанов и др. Ветеринарно-социальные аспекты заболеваемости животных токсоплазмозом. Материалы 1-й Международной юбилейной конференции, посвященной 110-летию со дня открытия проф. К.И.Виноградовым сибирской двуустки у человека. «Актуальные проблемы инфектологии и паразитологии», Томск, 1991, 125.
3. С.Н. Олейников. Серологическая диагностика токсоплазмоза собак «Производство пищевых продуктов в соответствии с требованиями концепции здоровья и другие вопросы». Материалы Всероссийской практической конференции, Волгоград, 2004, 257-258.
4. Олейников С.Н., Молчанов И.А. Токсоплазмоз и патология органов зрения у кошек «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». Материалы докладов научной конференции ВИГИС, Москва, 2005, 267-268.
5. Тимофеев Б.А., Олейников С.Н.Токсоплазмоз животных и цистоизоспороз собак и кошек. Профилактика и меры борьбы. Методические рекомендации. Труды Всероссийского института гельминтологии им. К.И.Скрябина, 2006, 42.
6. Олейников С.Н., Тимофеев Б.А. Токсоплазмоз кошек, Ветеринария, 10, 2006, 35-37.

Олейников Сергей Николаевич (Россия)
Токсоплазмоз кошек в условиях мегаполиса
(эпизоотология, диагностика, терапия и профилактика)

Работа посвящена изучению вопросов эпизоотологии токсоплазмоза кошек. Установлено различие вирулентных свойств изучаемых штаммов токсоплазм «RH» и «Z». Показано отсутствие кишечного цикла развития штамма «RH» у кошек и преимущественное латентное течение токсоплазмоза у этих животных. Подтверждена высокая лечебная эффективность химкокцида при указанной патологии.

Sergey N. Oleinikov (Russia)
Toxoplasmosis of cats in the condition of modern megapolis (epizootology,
diagnosis, therapy and prophylaxis)

This work is dedicated to the study of the epizootological situation on Toxoplasmosis of cats. The differences between virulent properties of studying strain of toxoplasma «RH» and «Z» are determined. The absence of intestinal cycle of development of strain RH in cats and latent process of toxoplasmosis in these animals is demonstrated. High therapeutic efficiency of chimcocid on toxoplasmosis of cats is confirmed.

Отпечатано в ООО «Оргсервис—2000»
Подписано в печать 10.11.06 Объем 1,00 п.л.
Формат 60х90/16. Тираж 100 экз. Заказ № 10/11—2т
115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 3

