Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

3.2. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ. ПРОФИЛАКТИКА ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Профилактика дирофиляриоза

Методические указания
МУ 3.2.3469—17

Издание официальное

Москва • 2018

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

3.2. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ. ПРОФИЛАКТИКА ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Профилактика дирофиляриоза

Методические указания
МУ 3.2.3469—17

ББК 55.17
П78

П78 **Профилактика** дирофиляриоза: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—32 с.

ISBN 978–5–7508–1611–8

1. Разработаны Научно-исследовательским институтом медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Е. Н. Морозов, М. Н. Лебедева, Л. А. Ганушкина, А. М. Бронштейн, Н. И. Тумольская, М. В. Мазманян, В. М. Ракова, В. Г. Супряга, Л. В. Федянина, А. А. Фролова, К. Ю. Кузнецова, Е. Н. Жиренкина, Е. В. Степанова, М. С. Максимова), Кафедрой тропической медицины и паразитарных болезней медико-профилактического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (В. П. Сергиев, В. Д. Завойкин, О. П. Зеля, Л. Ф. Морозова), ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора (Т. И. Твердохлебова, С. А. Нагорный, Е. Ю. Криворотова, Л. А. Ермакова), Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Т. М. Гузеева), ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора (Т. Г. Сыскова, М. М. Асланова), ФБУН «Тюменский НИИ краевой и инфекционной патологии» Роспотребнадзора (Т. Ф. Степанова, И. В. Бакштановская, К. Б. Степанова), ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора (О. Е. Троценко, И. Б. Иванова), ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России (А. С. Довгалев, Т. И. Авдюхина, А. Е. Беляев, Т. Н. Константинова), ФГБНУ «Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина» (А. В. Успенский, В. Б. Ястреб, В. В. Горохов, И. А. Архипов, В. М. Шайтанов), ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии в городе Москве» (Н. И. Тимошенко, М. В. Гузеева).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 декабря 2016 г. № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 27 апреля 2017 года.

4. МУ 3.2.3469—17 введены взамен МУ 3.2.1880—04 «Профилактика дирофиляриоза».

ББК 55.17

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 12.02.18

Формат 60x88/16 Печ. л. 2,0

Тираж 100 экз. Заказ 9

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2018

Содержание

I. Область применения 4
II. Общие сведения 4
III. Биологический цикл 5
IV. Эпизоотология дирофиляриоза 6
V. Эпидемиология дирофиляриоза 7
VI. Мероприятия при осуществлении государственного санитарно-эпидемиологического надзора за дирофиляриозом 9
VII. Мониторинг заболеваемости дирофиляриозом 10
VIII. Профилактические мероприятия 11
IX. Гигиеническое воспитание населения 13
Приложение 1. Морфологическая характеристика дирофилярий 14
Приложение 2. Расчет длительности сроков развития личинок дирофилярий в организме комаров до инвазионной стадии 20
Приложение 3. Диагностика дирофиляриоза 24

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
27 апреля 2017 г.

3.2. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ. ПРОФИЛАКТИКА ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Профилактика дирофиляриоза

Методические указания МУ 3.2.3469—17

I. Область применения

1.1. Настоящие методические указания предназначены для специалистов федерального органа исполнительной власти, осуществляющего федеральный государственный санитарно-эпидемиологический надзор, для специалистов органов государственной власти субъектов Российской Федерации в сфере охраны здоровья и медицинских организаций, а также могут быть использованы организациями, занимающимися профилактикой дирофиляриоза, и носят рекомендательный характер.

1.2. В методических указаниях изложены основные принципы и порядок проведения эпидемиологического надзора за дирофиляриозом, направленные на предупреждение возникновения и распространения дирофиляриоза среди населения Российской Федерации.

II. Общие сведения

2.1. **Дирофиляриоз** – природно-очаговый биогельминтоз, вызываемый паразитированием нематод рода *Dirofilaria* в подкожной клетчатке различных частей тела, слизистых и конъюнктиве органа зрения, реже – во внутренних органах человека, характеризуется длительным (от 6 до 8 месяцев) инкубационным периодом и хроническим течением.

Заражение человека происходит трансмиссивным путем через укусы кровососущих комаров семейства *Culicidae* – родов *Anopheles, Ochlerotatus, Aedes, Stegomyia, Culex, Culiseta и Coquillettidia.* Около 70 видов комаров способны поддерживать развитие личинок дирофилярий до инвазионной стадии (личинки 3-го возраста).

2.2. Источником заражения комаров являются окончательные хозяева – инвазированные домашние собаки, реже кошки, дикие плотоядные (например, волки, лисицы). Имеются данные, что человек является облигатным дефинитивным хозяином *D. repens* и при определенных условиях он может быть источником инвазии.

Возбудители дирофиляриоза относятся к классу круглых червей *Nematoda*, отряду *Spirurida*, подотряду *Filariata*, семейству *Onchocercidae*, роду *Dirofilaria*. Распространенные на территории России *D. repens* и *D. immitis* являются облигатными паразитами плотоядных семейств псовых и кошачьих, *D. ursi* – бурого медведя и амурского тигра (прилож. 1).

III. Биологический цикл

3.1. **Дирофилярии** – раздельнополые, живородящие, нитевидные нематоды, развивающиеся с двойной сменой хозяев: собака-комар-собака/человек. Половозрелая оплодотворенная самка отрождает в просвет кровеносных сосудов дефинитивного хозяина микрофилярий, которые, не меняясь морфологически, могут циркулировать в кровеносной системе млекопитающего в течение 2,5 лет или до того момента, когда будут заглочены кровососущим насекомым. Вместе с кровью они попадают в кишечник комара, затем мигрируют в полость тела и развиваются до инвазионной стадии (личинки 3-го возраста) в мальпигиевых сосудах, где дважды линяют и увеличиваются в размере до 1,2 мм. Развитие личинок в теле комара происходит при температуре окружающей среды выше 14 °С, при этом скорость их формирования возрастает при повышении температуры (от 20 °С до 28 °С и выше), и срок развития личинок до инвазионной стадии сокращается в 2—3 раза.

3.2. Инвазионные личинки 3-го возраста мигрируют в головной и грудной отделы насекомого. В момент последующего кровососания зараженного комара личинки активизируются, реагируя на тепло и через нижнюю губу ротового аппарата насекомого активно внедряются в кожу любого теплокровного животного. Дальнейшее развитие инвазионных личинок происходит только в организме плотоядных животных и человека. Личинки дважды линяют – через 9—12 и 60—70 дней после проникновения в дефинитивного хозяина. После первой линьки формируется личинка IV стадии, у которой открывается ротовое и анальное отверстие, а размеры увеличиваются до 18 мм.

Развитие дирофилярий после второй линьки (V стадия) до половозрелой особи размером 120—160 мм завершается в течение 26—27 недель, во время которых заканчивается формирование внутренних органов гельминта.

В эксперименте установлено, что микрофилярии в крови у собак появляются приблизительно через 193—200 дней. Продолжительность жизни половозрелых особей у собак достигает 5—7 лет, в этот период происходит накопление дирофилярий в крови за счет повторных заражений дефинитивного хозяина.

IV. Эпизоотология дирофиляриоза

4.1. Основным резервуаром дирофилярий служат домашние, служебные и бродячие собаки, реже кошки. Дополнительными источниками инвазии на разных территориях могут быть лисы, волки, медведи, тигры и другие хищные плотоядные животные.

4.2. По результатам обследования служебных собак, проведенных на разных территориях России в 1995—2012 гг., установлено, что от 10 до 43 % животных были инвазированы дирофиляриями. Обследование популяций городских собак на дирофиляриоз, которое проводилось на юге Европейской части России в 2009—2014 гг., показало, что в г. Анапа уровень их зараженности составлял свыше 20,5 %, г. Майкопе – 8,3 %, г. Ростове-на-Дону – 8,9 %.

Высокая пораженность собак наблюдается в Волгоградской, Воронежской, Липецкой, Самарской, Московской областях, в Краснодарском, Ставропольском, Алтайском и Хабаровском краях, в Республиках Кабардино-Балкарской, Северной Осетии – Алании, Чеченской.

Климатогеографические зоны различаются по видовому составу переносчиков и срокам развития инвазионных личинок дирофилярий в переносчике в зависимости от температурных условий.

В средней полосе Европейской части России во второй половине мая первыми появляются перезимовавшие комары рода *Anopheles* и холодолюбивые (олиготермофильные) *Aedes* и *Ochlerotatus*. Численность комаров в этот период невысокая. Весь июнь идет ее нарастание за счет выплода мезотермофильных и термофильных видов рода *Aedes, Ochlerotatus, Anopheles, Stegomyia, Culiseta и Culex*. Максимум численности потенциальных переносчиков отмечается в июле–августе, когда регистрируется активность комаров всех вышеуказанных 6 родов. В передаче возбудителей дирофиляриоза могут участвовать разные виды комаров, сменяя друг друга в течение сезона передачи.

4.3. Заражение человека и животных происходит в период активности различных видов комаров, как правило, в весенне-летний период. В городских условиях передача дирофилярий (при наличии источника инвазии) может происходить круглогодично, за счет «подвальных» популяций комаров *Culex pipiens molestus*.

4.4. Зараженность комаров микрофиляриями на различных территориях Российской Федерации варьирует в разные годы от 0,01 до

13,6 %. На территориях устойчивого риска передачи инвазии, в частности в Ростовской области, среднемноголетние показатели зараженности комаров рода *Aedes* составляют 5,0 %, *Culex* – 4 % и *Anopheles* – 0,6 %.

V. Эпидемиология дирофиляриоза

5.1. Дирофилярии – единственные гельминты с трансмиссивным путем передачи, которые вызывают заболевания человека в странах умеренного климата.

5.2. Источником инвазии являются домашние и дикие животные. Наибольшее эпидемиологическое значение имеют собаки. Человек также может быть источником инвазии, так как имеются достоверные данные обнаружения микрофилярий в его крови.

На территории Европейского региона и в Российской Федерации наиболее часто у людей регистрируется инвазия *D. repens*. В Японии, Южной и Северной Америке, Австралии чаще регистрируется *D. immitis*, а в Северной Америке кроме *D. repens* и *D. immitis* встречается и *D. tenuis*.

5.3. В Российской Федерации выделены три зоны потенциального заражения дирофиляриозом в зависимости от географического положения и температурных условий – это зоны низкого, умеренного и устойчивого риска. Природные границы не всегда совпадают с административными территориями.

Зона низкого риска передачи возбудителя инвазии расположена в пределах широты 54—580° с.ш. и характеризуется наиболее малым температурным периодом – в течение 60—90 дней – выше 14 °С, т. е. минимальными условиями для развития возбудителя.

Зона умеренного риска расположена на широтах 51—550° с.ш., число дней с температурой выше 14 °С насчитывает 90—105.

Зона устойчивого риска передачи возбудителя инвазии расположена на юге России до 52° с.ш., где имеют место наиболее благоприятные условия для распространения дирофиляриоза, которые определяются высокими показателями температуры – среднесуточная температура выше 14 °С регистрируется до 150 дней. Границы ареала и зоны риска передачи возбудителя инвазии могут меняться в зависимости от изменений температуры в разные годы. Вероятный период передачи возбудителя инвазии составляет 3 месяца и более.

При увеличении среднесуточной температуры воздуха сокращается время, необходимое для формирования инвазионных личинок *D. repens* 3-го поколения в переносчике (прилож. 2).

По данным оперативного мониторинга, осуществляемого Роспотребнадзором с 2006 года, отмечается тенденция к увеличению числа

случаев заболевания среди населения. Так, за трехлетний период (2006—2008 гг.) зарегистрирован 101 случай дирофиляриоза, а за следующий аналогичный временной период (2009—2011 гг.) – 186 случаев (в 1,8 раза больше). В 2014 году зарегистрировано 169 случаев дирофиляриоза (0,1 на 100 тыс. населения) в 31 субъекте Российской Федерации.

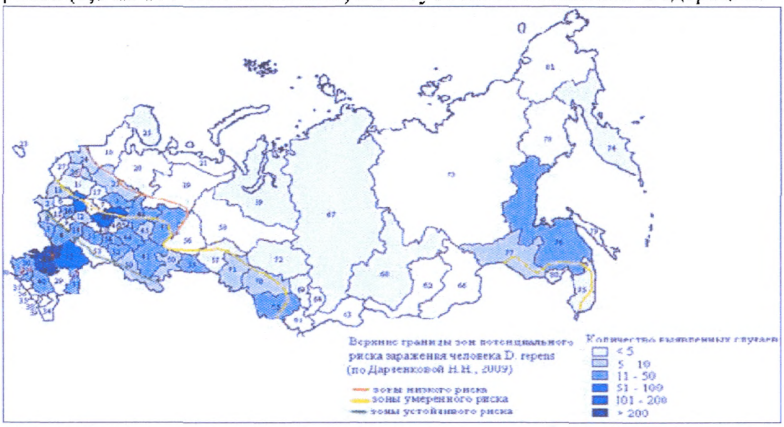


Рис. 1. Распространение дирофиляриоза на территории Российской Федерации

Наибольшее число случаев дирофиляриоза зарегистрировано в г. Москве, Нижегородской, Пензенской, Ивановской областях.

Случаи дирофиляриоза выявлялись среди лиц разных возрастных групп – от 1 года до 87 лет. Большинство случаев выявлено в возрастной группе 50—59 лет – до 25 %.

На долю городских жителей приходится до 97 % случаев дирофиляриоза, что, вероятно, связано с более эффективными мероприятиями по выявлению дирофиляриоза среди городского населения, а также возможностью круглогодичной передачи возбудителя инвазии в условиях городской квартиры при наличии больной собаки и «подвальных комаров» рода *Culex*.

В социально-профессиональной структуре среди инвазированных преобладали служащие, пенсионеры и рабочие. Таким образом, вероятность заражения *D. repens* существует в различных социальных группах и не связана с определенной профессиональной деятельностью.

Расчет длительности сроков развития личинок дирофилярий до инвазионной стадии 3-го поколения в комарах необходим для оценки потенциала очага и степени риска возникновения местных случаев дирофиляриоза на контролируемой территории независимо от географической широты.

VI. Мероприятия при осуществлении государственного санитарно-эпидемиологического надзора за дирофиляриозом

6.1. При осуществлении федерального государственного санитарно-эпидемиологического надзора (далее – эпидемиологический надзор) за дирофиляриозом проводится непрерывное наблюдение за эпидемическим процессом, целью которого является оценка ситуации и разработка адекватных санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, направленных на предупреждение возникновения, распространения дирофиляриоза среди населения и формирования эпидемических очагов с групповой заболеваемостью.

6.2. Задачами эпидемиологического надзора за дирофиляриозом являются:

– постоянная и объективная оценка масштабов, характера распространенности и социально-экономической значимости дирофиляриоза;

– выявление тенденций эпидемического процесса;

– выявление регионов, областей, населенных пунктов с высоким уровнем заболеваемости и риском заражения;

– выявление причин и условий, определяющих уровень и структуру заболеваемости дирофиляриозом на территории, контроль и обоснованная оценка масштабов их распространенности;

– оценка качества и эффективности осуществляемых профилактических и противоэпидемических мероприятий для их оптимальной корректировки;

– планирование последовательности и сроков их реализации;

– разработка прогнозов эпидемиологической ситуации.

6.3. Основным инструментом эпидемиологического надзора за дирофиляриозом является эпидемиологическая диагностика, которая осуществляется с помощью ретроспективного и оперативного эпидемиологического анализа заболеваемости.

6.4. Многолетний ретроспективный эпидемиологический анализ проводится не менее чем за последние 5 лет и предусматривает:

– анализ многолетней динамики заболеваемости;

– анализ заболеваемости по территориям;

– анализ заболеваемости по возрастным группам, полу, контингентам населения.

Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости дирофиляриозом должен проводиться ежегодно.

6.5. Оперативный эпидемиологический анализ проводится при условии эпидемического подъема заболеваемости дирофиляриозом. Он включает: постоянное наблюдение за динамикой заболеваемости с учетом определенного этиологического агента, оценку санитарно-эпидемио-

логической ситуации, формулирование предварительного и окончательного эпидемиологического диагноза с установлением причин и условий подъема заболеваемости или формирования эпидемического очага.

6.6. Мероприятия по борьбе с дирофиляриозом проводят комплексно (медицинскими, ветеринарными организациями). Между медицинскими и ветеринарными работниками должно быть обеспечено взаимное информирование о каждом случае заболевания дирофиляриозом человека и выявлении инвазии собак.

6.7. Комплексный план по борьбе с дирофиляриозом составляется совместно с территориальными органами и учреждениями Роспотребнадзора, территориальными отделами ветеринарии и органами местного самоуправления.

VII. Мониторинг заболеваемости дирофиляриозом

7.1. Выявление больных и лиц с подозрением на дирофиляриоз осуществляется специалистами медицинских организаций независимо от организационно-правовой формы собственности при всех видах оказания медицинской помощи:

– при обращении населения за медицинской помощью;

– при оказании медицинской помощи на дому;

– на приеме у частнопрактикующих врачей;

– при профилактических, плановых, предварительных и периодических обследованиях.

7.2. Отбор биологических проб для исследования на дирофиляриоз проводится медицинскими работниками.

7.3. Доставка биологического материала в лабораторию производится в герметичных контейнерах, обеспечивающих его сохранность и безопасность транспортирования в соответствии с регламентирующими документами.

7.4. Лабораторные исследования проводятся в клинико-диагностических лабораториях медицинских организаций и других лабораториях, осуществляющих деятельность по диагностике паразитарных заболеваний и имеющих необходимые документы на работу с патогенными биологическими агентами (ПБА) III—IV групп патогенности.

7.5. Руководителем медицинской организации назначается ответственное лицо за организацию работы по выявлению, лечению, диспансерному наблюдению за больными паразитарными болезнями, ведению отчетно-учетной документации и мероприятий по профилактике паразитозов.

7.6. О каждом случае дирофиляриоза медицинские работники в течение 12 часов направляют экстренное извещение по установленной форме в территориальный орган Роспотребнадзора (по месту выявления больного).

7.7. При регистрации дирофиляриоза специалист Роспотребнадзора проводит эпидемиологическое расследование с заполнением карты эпидемиологического расследования случая паразитарного заболевания.

7.8. Медицинские организации, изменившие или уточнившие диагноз, в течение 12 часов направляют экстренное извещение по установленной форме в территориальный орган Роспотребнадзора (по месту выявления больного).

7.9. Каждый случай дирофиляриоза подлежит регистрации в журнале учета инфекционных заболеваний по месту их выявления в медицинских, детских, подростковых, оздоровительных организациях независимо от организационно-правовой формы собственности, а также по месту жительства/диспансеризации.

7.10. Случаи дирофиляриоза учитываются в формах государственного статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» в установленном порядке.

7.11. Инвазированные лица подлежат лечению в амбулаторных или стационарных условиях на основании их информированного добровольного согласия и с учетом права на отказ от медицинского вмешательства. Перечень паразитарных заболеваний, представляющих опасность для окружающих и требующих обязательного лечения, определяется в установленном порядке.

7.12. Все выявленные инвазированные подлежат диспансерному наблюдению в медицинских организациях по месту жительства и/или выявления.

7.13. На каждого инвазированного заполняется форма диспансерного наблюдения по установленной форме (форма 030/у).

7.14. Ответственность за полноту, достоверность и своевременность регистрации и учета случаев паразитозов, а также оперативное и полное информирование о них органов и учреждений Роспотребнадзора несет руководитель медицинской организации, независимо от организационно-правовой формы собственности, по месту выявления/жительства больного.

VIII. Профилактические мероприятия

8.1. Мероприятия в очаге инвазии направлены на снижение численности комаров и популяции бродячих собак, кошек и других плотоядных. Профилактика заражения людей и животных дирофиляриозом основывается, в первую очередь, на прерывании трансмиссивной передачи возбудителя инвазии и складывается из нескольких направлений: истребление комаров, выявление и дегельминтизация инвазированных домашних собак, предотвращение контакта комаров с домашними животными и человеком.

8.2. Очаги дирофиляриоза формируются возле водоемов с чистой водой вблизи населенных пунктов при наличии в радиусе одного–двух километров большого количества бродячих собак и диких плотоядных животных.

8.3. Мероприятия осуществляют на территориях, где существуют условия циркуляции дирофилярий (парковая зона, зона отдыха и выгула собак, питомники собак, животноводческие фермы, охраняемые собаками).

8.4. На основании систематических наблюдений за фенологией и экологией переносчиков определяются места выплода и массового вылета комаров, видовой состав и численность личинок в водоемах. Проводится расчет длительности сроков развития личинок филярий до инвазионной стадии личинок 3-го поколения в комарах (прилож. 2).

8.5. Мероприятия по снижению численности переносчика должны быть направлены на предупреждение заселения водоемов личинками комаров, проведение осушительных мероприятий, истребительных дезинсекционных обработок против личинок и имаго.

8.6. Предупреждение заселения водоемов личинками достигается проведением работ по благоустройству водоемов и прибрежной территории: очистка водной поверхности от растительности, систематический покос травы в прибрежной полосе. Выбор инсектицидов для обработки объектов и кратность обработок определяют специалисты, выполняющие дезинсекцию, в зависимости от типа объекта, климатической зоны, времени года.

8.7. Уничтожение имаго комаров проводят путем обработки территории вокруг питомников собак, подвальных помещений, залитых водой.

8.8. Для защиты населения от нападения комаров целесообразно использовать репелленты и для уничтожения потенциальных переносчиков в помещениях – электрофумигаторы.

8.9. Мероприятия по предупреждению заражения собак дирофиляриозом включают: регистрацию и контроль за регистрацией и перерегистрацией собак, оформление ветеринарных свидетельств при продаже и транспортировании собак и кошек; регулирование численности безнадзорных животных; соблюдение правил содержания и выгула домашних животных; лабораторную диагностику дирофиляриоза у собак.

8.10. Дегельминтизацию инвазированных домашних и служебных собак проводят в весеннее-летний период. Сроки профилактической дегельминтизации собак устанавливают в соответствии со сроками сезона передачи дирофиляриоза для конкретной территории в зависимости от климатических условий. Антигельминтную терапию собак в зоне устойчивого риска передачи проводят с середины апреля до начала нояб-

ря, в зонах умеренного и низкого рисков – с середины мая по конец августа.

IX. Гигиеническое воспитание населения

9.1. Гигиеническое воспитание населения – важнейший элемент в комплексе мероприятий по борьбе и профилактике гельминтозов.

9.2. Основной задачей санитарно-просветительной работы является повышение уровня знаний населения о дирофилляриозе.

9.3. Санитарно-просветительная работа направлена:

– на профилактику заражения дирофиляриозом;

– на своевременную обращаемость населения для обследования;

– на подготовку общественного мнения к проведению лечебно-оздоровительных мероприятий;

– на мобилизацию населения и специалистов других служб на усиление мер общественной профилактики.

9.4. Планы санитарно-просветительной работы, направленной на борьбу с дирофиляриозом, должны быть разделом гигиенического обучения в программе всеобщей диспансеризации населения на территориях, где регистрируются случаи заболеваний людей этим гельминтозом. Санитарно-просветительные мероприятия включаются в комплексный план борьбы с дирофиляриозом, который представляет собой составную часть плана социально-экономического развития административных территорий.

9.5. Планы гигиенического воспитания разрабатываются с учетом особенностей производственной и социальной структуры обслуживаемых групп населения. Это обусловливает направленность санитарно-просветительных мероприятий на определенные контингенты (охотники, работники животноводческих предприятий, лица, содержащие свиней на откорм).

9.6. Органы и учреждения Роспотребнадзора разрабатывают основные направления и обеспечивают методическое руководство санитарно-просветительной работой учреждений здравоохранения в зоне обслуживания. Для достижения эффекта санитарного просвещения используются все доступные средства и формы массовой информации: научно-популярные фильмы, интернет-ресурсы, лекции по радио и телевидению, статьи в местной печати с изложением в популярной форме цикла развития, основных факторов передачи возбудителя инвазии, вреда здоровью, основных доступных мер профилактики; издание достаточным тиражом плакатов, брошюр, листовок; выпуск бюллетеней.

Приложение 1

Морфологическая характеристика дирофилярий

Морфологическая характеристика *Dirofilaria repens*

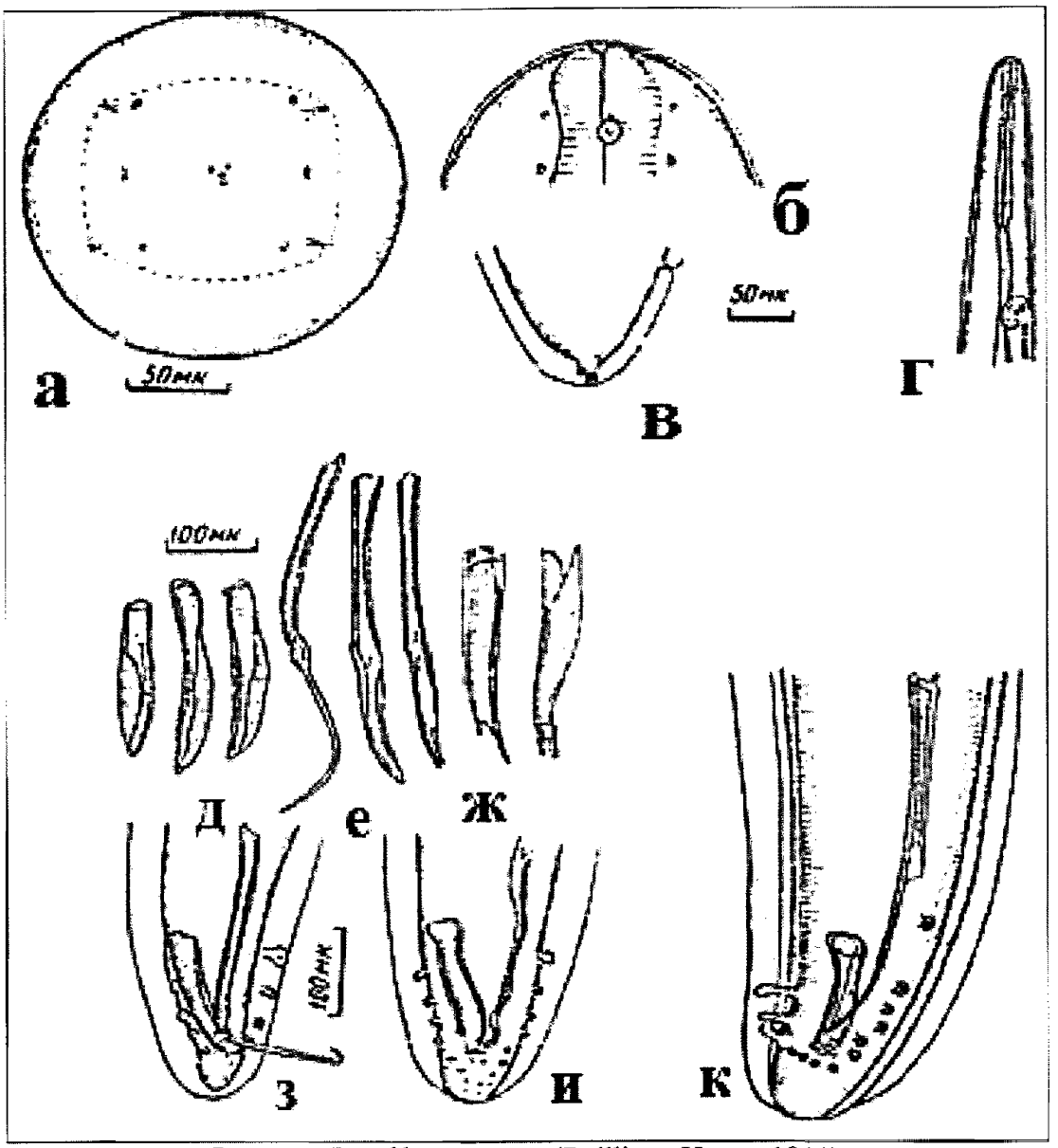


Рис. 1.1. *Dirofilaria repens* (Raillietet Henry, 1911)
а – самка, головной конец, апикально; **б** – то же, латерально; **в** – самка, хвостовой конец, латерально; **г** – самка, передний конец; **д** – правые спикулы, вентрально; **е** – то же, левые спикулы; **ж** – дистальные концы спикул; **з, и, к** – самец, хвостовой конец, вентрально (а—и – по Le, Le, 1971; к – по Петрову, 1941)

Размеры	**Самка:** длина тела – 100—170 мм, ширина – 0,46—0,65 мм. Вульва – 1,16—1,92 мм от головного конца. Анальное отверстие – на 0,1 мм от вершины хвостового конца. Нервное кольцо 0,27—0,368 мм от головного конца. Длина пищевода 0,91—1,53 мм. **Самец:** длина тела 48—75 мм, ширина – 0,37—0,45 мм. Хвостовой конец – 0,08 мм, слегка загибается на вентральную сторону. Нервное кольцо на расстоянии 0,24 мм от головного конца. Длина пищевода 0,75 мм. Спикулы: длина левой – 0,456—0,590 мм, правой – 0,185—0,206 мм. **Микрофилярии:** 0,30—0,36 × 0,006—0,008 мм
Морфологическая характеристика	Нитевидные нематоды белого цвета. Кутикула очень толстая и имеет отчетливую продольную и нежную поперечную исчерченность. Ротовое отверстие не имеет губ, окружено сосочками. Хвостовой конец самки слегка сужен позади анального отверстия, округлый. Хвостовой конец самца тупо закруглен, слегка закручен, снабжен крыльями. Половые сосочки имеют характер вздутий, сидящих на стебельках. Спикулы неравные и разной структуры. Рулек отсутствует. Микрофилярии не имеют чехлика. Головной конец светлый, тупой и короткий, задний – нитевидный, заостренный, ядерный столбик не доходит до конца хвоста
Локализация	Подкожная клетчатка, реже конъюнктива, глазное яблоко, легкие, печень, сальник, стенка кишечника

2. Морфологическая характеристика *Dirofilaria immitis*

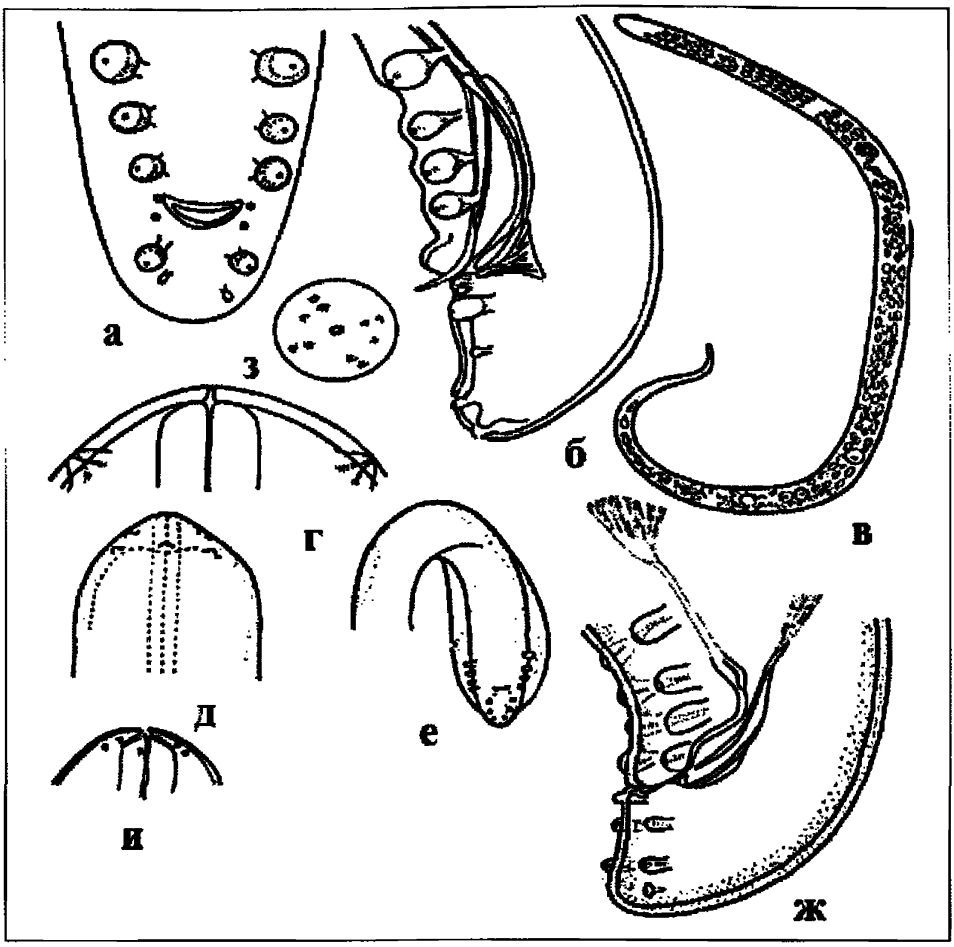


Рис. 1.2. *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)
а, е – самец, хвостовой конец, вентрально; **б, ж** – то же, анальное отверстие, расположение сосочков и спикул латерально; **в** – микрофилярия; **г, д, и** – самка, головной конец, латерально; **з** – то же, головной конец, апикально (а—в – по Faust, 1937, г—ж – по Faust et. al, 1941, з, и – Anderson, 1958)

Размеры	**Самка:** длина тела – 250—300 мм, максимальная ширина – 0,75—1,514 мм, в области пищевода – 0,48—0,91 мм, в области вульвы 0,64—1,02 мм, близ конца хвоста 0,14—0,19 мм. Длина пищевода 1,084—1,625 мм, ширина – 0,12—0,14 мм. Хвосто-

	вой конец закруглен. На расстоянии 1,65—2,27 мм от головного конца располагается вульва. Анальное отверстие открывается субтерминально. Нервное кольцо на расстоянии 0,252—0,281 мм от головного конца. **Самец:** длина тела – 120—230 мм, максимальная ширина – 1,124—1,286 мм, в области конца пищевода – 0,877 мм, в области клоаки – 0,192 мм. Хвостовой конец – 0,136 мм. Спикулы разной длины: длина левой – 0,216—0,375 мм и ширина в передней части – 0,032 мм, правой – 0,188—0,229 мм, максимальная ширина 0,029 мм. Нервное кольцо на расстоянии 0,3—0,4 мм от головного конца. **Микрофилярии:** 0,26 × 0,0045 мм
Морфологическая характеристика	Тело белого цвета, покрыто тонко исчерченной продольно и поперечно, но довольно гладкой кутикулой. Губ нет, рот круглый, окружен 6 маленькими медианными сосочками и парой латеральных амфид. Хвостовой конец самца спирально закручен и снабжен двумя маленькими латеральными крыльями. Прианальных сосочков 3—4 пары, постанальных – 3—6 пар. Хвостовые сосочки варьируют в числе и по месту расположения. Дистальный конец спикулы перепончатый, суживающийся в виде конуса, вооружен стилетом. Хвост тонкий, длинный, прямой заострен на конце. Микрофилярии без чехлика. Головной конец светлый, тупой и короткий, задний – нитевидный, заостренный, ядерный столбик не доходит до конца хвоста
Локализация	Полость сердца, левый желудочек, аорта, легочная артерия, полые вены. Описаны случаи локализации под кожей

3. Морфологическая характеристика *Dirofilaria ursi*

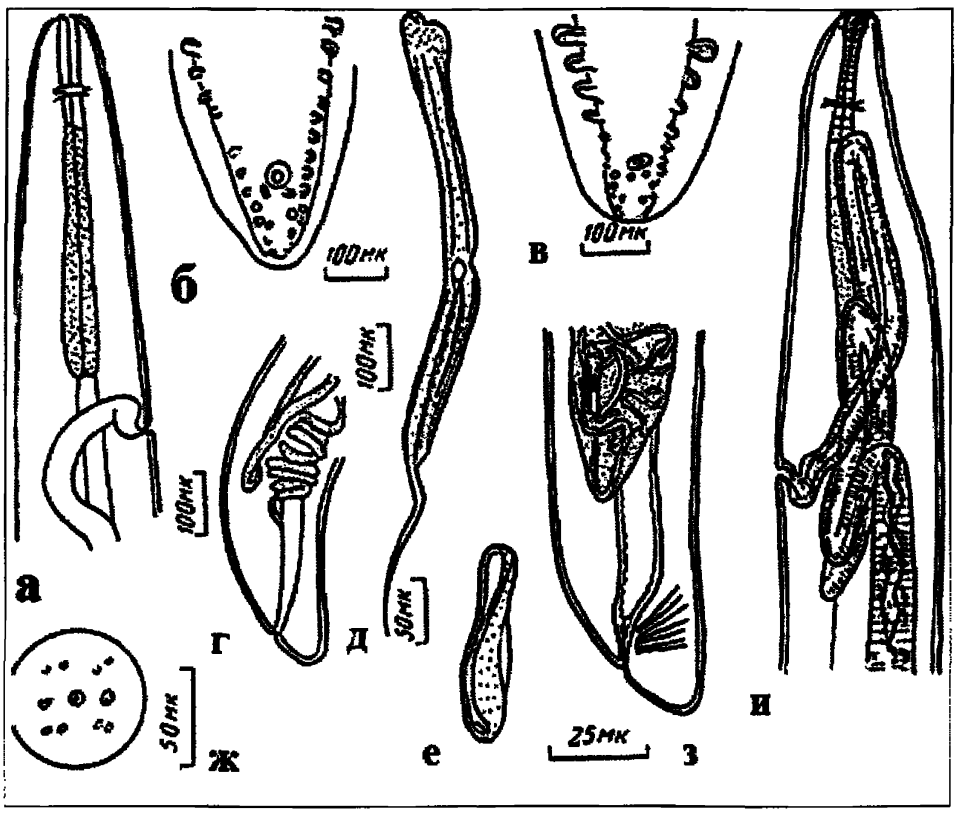


Рис. 1.3. *Dirofilaria ursi* (Yamaguti, 1941)
а, и – самка, передний конец, латерально; **г, з** – самка, хвостовой конец, латерально; **б, в** – самец, хвостовой конец, вентрально; **д** – левая спикула; **е** – правая спикула; **ж** – головной конец, апикально (а—ж – по Anderson, 1952; и – по Yamaguti, 1941)

Размеры	**Самка:** длина тела – 117—224 мм, максимальная ширина на уровне вульвы – 0,49—0,76 мм, на уровне пищевода – 0,33—0,48 мм, на уровне ануса – 0,12—0,23 мм. Общая длина пищевода 1,1—1,6 мм, мышечной части – 0,42—0,61 мм; железистой – 0,65—1,10 мм. Нервное кольцо на расстоянии 0,29—0,41 мм от головного конца, длина хвостового конца 0,072—0,20 мм. **Самец:** длина тела 51—86 мм, ширина на уровне нервного кольца – 0,19—0,28 мм, на уровне пищевода – 0,33 мм, в области клоаки – 0,192 мм. Хвостовой конец

	– 0,058—0,076 мм. Спикулы: длина левой – 0,40—0,48 мм, правой – 0,14—0,18 мм. Соотношение длины спикул 1 : 2,5—3,1. **Микрофилярии:** 0,185—0,293 × 0,004—0,006 мм
Морфологическая характеристика	**Самка:** тело белое, кутикула с продольной гребневидностью и нежной поперечной исчерченностью, пересекающей гребни, создающие впечатление, что кутикула усеяна бусинками. Кутикула имеет 70—72 продольных гребня. Ротовое отверстие окружено нежным циркуморальным кольцом, 4 субмедиальных сосочка расположены в 2 круга. Фазмиды – на вентрально-латеральном кончике хвоста. Вульва выступающая, находится на расстоянии 1,3—3,1 мм от переднего конца. Хвостовой конец загнут дорзально. **Самец:** хвостовой конец имеет 58—62 продольных гребня, разделенных промежутками в 0,014—0,030 мм; задний конец тела закручен и снабжен хорошо развитыми крыльями. Проксимальная треть левой спикулы в виде формы трубковидного ствола с неправильным утолщением головки; дистальная часть которой состоит из пластины с двумя латеральными утолщениями: из них правое латеральное образование вытянуто в виде бичевидного отростка. Правая спикула толстая, ладьевидная, суживающаяся к тупому концу. Хвостовой конец имеет крупные стебельчатые сосочки, число которых варьирует, с правой стороны – 8—10 шт., с левой – 5—9, размеры которых уменьшаются по направлению к хвостовому концу. Микрофилярии без чехлика. Головной конец светлый, тупой и короткий, задний – нитевидный, заостренный, ядерный столбик состоит из трех рядов более или менее отчетливых ядер, большинство из которых овальной формы. Кутикула личинки имеет нежную поперечную исчерченность
Локализация	Подкожная клетчатка

Приложение 2

Расчет длительности сроков развития личинок дирофилярий в организме комаров до инвазионной стадии

Развитие личинок в теле кровососущих комаров и передача возбудителя инвазии дефинитивному хозяину происходит в теплое время года. Личинки достигают инвазионной стадии в разные сроки в зависимости от условий окружающей среды (в первую очередь, от температуры). По данным Schrey S.F., длительность развития в организме промежуточного хозяина одной генерации инвазионных личинок связана с пороговой температурой 14 °С, выше которой происходит развитие личинок, и суммой тепла 130 градусо-суток, которая складывается из суммы разностей среднесуточной температуры и пороговой температуры каждых суток.

Вариант 1. Определение срока одного оборота инвазионных личинок дирофилярий в комарах при колеблющихся температурах можно представить следующим образом:

1 оборот: Σ[T°C среднесуточная – T°C пороговая (14°C)] = 130 градусо-суток

Пример расчета продолжительности развития инвазионных личинок дирофилярий в комарах в Московской области в сезоне 2011 г. представлен в табл. 2.1. Дата достижения суммы эффективных температур 130 °С является датой завершения развития инвазионных личинок и начала передачи их дефинитивным хозяевам. При этом следует учитывать фенологические данные на каждой конкретной территории: время появления комаров различных родов. Так, например, в Московской области вылет имаго комаров обычно начинается в первых числах мая.

Таблица 2.1

Расчет начала возможной передачи комарами инвазивных личинок дирофилярий дефинитивным хозяевам, 2011 г.

Дата	Среднесуточные температуры воздуха, °С	Эффективные температуры, °С
1	2	3
01.05	9	–
02.05	11,5	–
03.05	17,5	3,5
04.05	20	6,0
05.05	19	5,0
06.05	14	–
07.05	18	4

Продолжение табл. 2.1

1	2	3
08.05	18	4
09.05	16	2
10.05	18,5	4,5
11.05	16	2,0
12.05	16,5	2,5
13.05	13	–
14.05	8	–
15.05	12	–
16.05	14,5	0,5
17.05	10	–
18.05	16,5	2,5
19.05	16,5	2,5
20.05	21	7,0
21.05	19,5	5,5
22.05	21,5	7,5
23.05	22	8,0
24.05	17	3,0
25.05	20,5	6,5
26.05	13	–
27.05	17	4,0
28.05	21	7,0
29.05	24	10,0
30.05	22,5	8,5
31.05	22	8,0
01.06	24	10
02.06	25	11
		Σ 135,5*
* 02.06.2011 – начало передачи дирофилярий дефинитивным хозяевам		

Срок развития первой генерации инвазионных личинок дирофилярий в комарах – это число дней между датой первого превышения пороговой температуры (А) и датой когда сумма разностей достигает 130 °С(В).

Срок последующего развития личинок будет исчисляться заново от даты В до даты С, когда сумма разностей температур вновь достигнет 130 °С, от даты С и т. д.

По этому принципу расчет числа генераций инвазионных личинок нужно проводить до конца лета, пока температура воздуха превышает 14 °С (табл. 2.2).

Таблица 2.2

Расчет числа циклов развития инвазионных личинок дирофилярий в комарах за сезон передачи в Московской области, 2011 г.

Месяц / Дата	май	июнь	июль	август	сентябрь
	Эффективные температуры, °С				
01.	–	10	14,5	6,5	2,5
02.	–	11 Σ 135.5	10	–	2,5
03.	3,5	7,5	11,5	4	0
04.	6	4,5	12	5,5	0,5
05.	5	8,5	6	5	–
06.	–	5,5	9	7,5	–
07.	4	5,5	10 Σ 133	8	1
08.	4	6	8,5	11,5	–
09.	2	7	8	11	–
10.	4,5	8,5	9,5	1,5	–
11.	2	6,5	12,5	0,5	–
12.	2,5	6,5	13,5	6	–
13.	0	6,5	9,5	11,5	–
14.	0	2	10	13,5	2,5
15.	0	5	13	14	2
16.	0,5	6,5	15	14,5	–
17.	–	3,5	8	12 Σ 134,5*	–
18.	2,5	7,5	10,5	8,5	–
19.	2,5	9	12,5	6	–
20.	7	9,5	11 Σ 130,5	4,5	3,5
21.	5,5	5	10,5	2,5	–
22.	7,5	6,5	12,5	2,5	0,5
23.	8	7,5	15,5	4,5	–
24.	3	7,5 Σ 133,5	14	3	–
25.	6,5	8,5	16	4	–
26.	–	9,5	16	4.5	–
27.	3	12,5	16	7	–
28.	7	12	12,5	8	–
29.	10	11,5	11	9,5	–
30.	8,5	14,5	12 Σ 136,0	10	–
31.	8,0	8,0		6,5	Σ <130
* Окончание сезона заражаемости комаров дирофиляриями					

С середины августа и в сентябре в 2011 году сумма эффективных температур не достигла 130 °С.

Таким образом, сезон передачи возбудителя инвазии продолжался от начала июня до середины августа. Продолжительность сроков развития личинок филярий в комарах колебалась от 10 до 30 дней в зависимости от температуры. После завершения последнего цикла развития личинок дирофилярий, они будут инвазивны до конца жизни комаров.

Приложение 3

Диагностика дирофиляриоза

Диагностика дирофиляриоза основана на клинических признаках, данных эпидемиологического анамнеза и результатах лабораторных исследований.

1. Клинические признаки

Дирофиляриозы (дирофиляриатозы) (шифр по МКБ-10 — B74.8) — группа трансмиссивных зоонозных биогельминтозов, проявляющихся у человека, как правило, образованием подвижной опухоли под кожей на различных участках тела, включая подкожную клетчатку, параорбитальной области, верхнего и нижнего век глаза, мошонки, грудных желез, реже под конъюктивой глаза, внутри глазного яблока, в плевре, легком, печени, брызжейке, сальнике, стенке кишечника, маточной трубе, слизистой полости рта.

Клинически инвазия *D. repens* человека проявляется появлением мигрирующего образования. Иногда возникает отек в местах локализации филярий в коже и подкожной клетчатке и во многом напоминает отек Квинке. При надавливании на место отека ямки не остается, ощущается зуд и жжение. Локализация отеков непостоянна. Возникнув на одном участке кожи, через 2—3 дня он исчезает и через несколько дней или недель вновь появляется на другом участке. Перемещение отеков определяется миграцией филярий. В ряде случаев дирофиляриоз проявляется в виде плотного неподвижного образования по типу фибромы размером с фасолевое зерно или появлением под кожей нитеобразного гельминта, извилистые движения которого хорошо заметны и являются патогномоничным симптомом этого заболевания (рис. 3.1). Некоторые больные предъявляют жалобы на ощущение «ползания» под кожей или внутри образования.



Рис. 3.1. *D. repens* под кожей верхнего века левого глаза

При поражении конъюнктивы часто развивается конъюнктивит. При проникновении взрослой дирофилярии в пе-

реднюю камеру глаза паразит виден по характерным движениям. Наличие дирофилярии в глазном яблоке часто протекает бессимптомно, больной жалуется на «видение в глазу гельминта».

Почти у 60 % больных паразит локализуется в области головы и шеи, у 25 % – в области конечностей, у 11 % – туловища и у 4 % – наружных половых органах. Активная миграция паразита в подкожную клетчатку наблюдается у 35 % больных дирофиляриозом. При обследовании пациентов в периферической крови в 33 % случаев определялась эозинофилия от 6 до 22 %.

По данным эпиданамнеза, длительность инкубационного периода дирофиляриоза у людей составляет от 6 до 8 месяцев. Заболеваемость носит сезонный характер с двумя пиками – весенний (март–апрель) и осенний (сентябрь–октябрь). Риск заражения человека приурочен к периоду максимальной активности комаров, например, на юге России это конец весны и начало осени, когда погодные условия сезона передачи наиболее благоприятны как для переносчика, так и для развития инвазионной личинки в нем.

В дооперационной диагностике дирофиляриоза в случаях внутриорганной локализации паразитов клиническое значение имеют рентгенологические, ультразвуковые и другие инструментальные методы обследования.

2. Лабораторная диагностика

Лабораторная диагностика дирофиляриоза проводится в медицинских организациях, испытательных лабораторных центрах и специализированных научно-исследовательских институтах, имеющих лицензию на работу с возбудителями паразитарных болезней.

В лабораторию доставляются следующие биологические материалы для исследований:

– взрослые особи дирофилярий или их фрагменты, выделенные хирургическим путем или самопроизвольно вышедшие из пораженных тканей;

– гистологические препараты внутренних органов и тканей;

– кровь, пунктаты подкожных образований;

– удаленные подкожные образования (инфильтраты, гранулемы, кисты).

2.1. Макроскопическое исследование

При макроскопическом исследовании визуально идентифицируют взрослых гельминтов, поместив их на большую стеклянную пластину,

которую предварительно смачивают водой или 50%-м раствором глицерина. На этой пластине производят измерение длины гельминтов.

Взрослые гельминты – дирофилярии – имеют нитевидное тело, покрытое тонко исчерченной кутикулой. Самки от самцов отличаются размерами (самки в 2,5—3 раза длиннее самцов).

2.2. Микроскопические исследования

Морфологические исследования

Наличие кутикулярной орнаментации в виде продольных гребней на поверхности тела гельминтов – основной диагностический признак нематод рода *Dirofilaria*. При микроскопии (увеличение 400) на теле дирофилярий просматривается также нежная поперечная исчерченность кольцевидной формы, благодаря которой дирофилярии активно продвигаются под кожей (*D. repens*).

Морфологические признаки распространенных на территории Российской Федерации взрослых дирофилярий, паразитирующих у плотоядных животных, – *D. repens, D. immitis, D. ursi* – приведены в прилож. 1.

Дифференциальными признаками видового отличия являются:

– длина и ширина тела самцов и самок;

– наличие на поверхности кутикулы продольной и кольцевидной исчерченности у *D. repens* и *D. ursi*;

– поверхность кутикулы *D. immitis* – гладкая, но под ней просматривается продольная рельефность, наличие латеральных крыльев на хвостовом конце;

– строение пищевода (наличие железистого и мышечного отделов);

– соотношение и расположение относительно переднего конца тела внутренних органов (нервное кольцо, половые трубки, вульва), экскреторного и анального отверстий;

– морфология и число половых сосочков у самцов;

– структура, размеры и расположение спикул у самцов.

Гистологические исследования

При микроскопическом исследовании гистологических препаратов часто обнаруживается очаг хронического воспаления, в центре которого находится свернутая в клубок нематода – круглый червь, многократно срезанный в поперечном или косом направлении. Дифференциальным признаком при морфологическом определении дирофилярий является наличие кутикулярных «шипов», соответствующих вершинам продольных кутикулярных гребней (рис. 3.2). Для дирофилярии *D. repens* они являются одним из диагностических признаков. В гистологических срезах хорошо просматриваются внутренние органы, в том числе и половые трубки гельминта.

а) б)

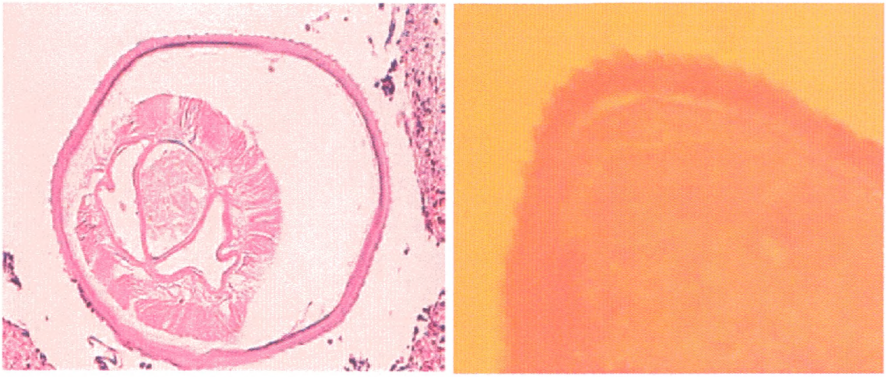


Рис. 3.2. Поперечный срез *D. repens* в гистологическом препарате человека: (а) – нематода, (б) – кутикулярные шипы

В гистологических препаратах может наблюдаться картина острого аллергического воспаления при условии относительно свежего заражения и сохранения жизнедеятельности гельминта. При длительном развитии патологического процесса нематода находится в зоне некроза. В инфильтрате преобладают эозинофилы (до 70 % клеточного состава), лимфо-гистиоцитарные клетки и макрофаги.

2.3. Исследование крови на наличие микрофилярий

Метод концентрации микрофилярий в осадке по Кнотту

1. В центрифужную пробирку собирают 1 мл крови из вены, гемолизируют в 9 мл 1%-го раствора уксусной кислоты.

2. Пробирки центрифугируют при 2 000 об./мин в течение 3 мин.

3. Полученный осадок (0,5—1,0 мл) переносят на обезжиренные предметные стекла и микроскопируют в нативном виде.

4. Препараты с обнаруженными личинками высушивают, фиксируют и окрашивают по Романовскому-Гимза.

Идентификация вида личинок проводится под иммерсией (увеличение 900, 1 000).

Примечание. Методика исследования может быть упрощена за счет того, что для гемолиза эритроцитов используют дистиллированную воду в соотношении 1 : 10.

В осадке концентрируются живые подвижные микрофилярии.

Метод мембранной фильтрации микрофилярий по Беллу, модифицированный Супрягой и Андреенковым

1. В центрифужную пробирку собирают 1 мл крови, гемолизируют в 9 мл 1—3%-го раствора уксусной кислоты или 2%-го раствора формалина.

2. Фильтруют гемолизированную кровь и смывы 2—3 раза с пробирки на мембранные фильтры под вакуумом.

3. Полученный осадок на фильтре под вакуумом фиксируют 20—30 мл крутого кипятка, и фильтры вынимают из фильтродержателя.

4. Фильтры высушивают и окрашивают по Романовскому-Гимза.

5. Контроль качества окраски личинок в препаратах проводится по степени окрашивания ядер лимфоцитов.

6. Окрашенные фильтры тщательно споласкивают водой и высушивают.

7. Микроскопирование фильтров проводят на предметном стекле, предварительно покрыв всю поверхность фильтра тонким слоем иммерсионного масла, при малом увеличении с применением препаратоводителя.

8. Идентификацию окрашенных микрофилярий проводят под иммерсией (90×, 100×), их количество учитывают отдельно по видам.

Примечание. Метод упрощается, если вместо специального аппарата использовать шприц с фильтродержателем, мембраной «Миллипор» диаметром 25 мм и размером пор 5 мкм, который поддерживается снизу мягкой прокладкой.

Микрофилярии на окрашенных фильтрах, пропитанных иммерсионным маслом, сохраняют морфологические признаки в течение 5 лет и более (рис. 3.3).



Рис. 3.3. Микрофилярия *D. repens* в крови

Размеры. Длина 274,6—361,9 мкм, ширина 5,8—7,3 мкм

Морфологическая характеристика. Чехлик отсутствует. Головной конец прямоугольной формы, задний сужается постепенно позади анальной поры, тонкий к вершине хвостового конца, не заполнен ядрами, хвостовой конец загнут в виде ручки зонтика

2.4. Молекулярно-биологические методы диагностики дирофиляриоза

Методом ПЦР можно исследовать самих паразитов, в том числе их фрагменты, кровь, нативный биопсийный материал от больных, а также переносчиков (комаров) с целью обнаружения ДНК дирофилярий (качественный анализ). Для ПЦР-идентификации дирофилярий разработано несколько пар видоспецифичных праймеров. К примеру, для идентификации *D. repens* можно использовать праймеры DIR3 F-5' – CCGGTAGAC CATGGCATTAT-3' и DIR-4 R-5' – CGGTCTTGGACGTTTGGTTA-3'. Режимы амплификации: 94 °С – 5 мин, 48 циклов (94 °С – 30 с, 50 °С – 30 с, 72 °С – 1 мин) и 72 °С – 5 мин. Праймеры амплифицируют фрагмент размером в 246 нуклеотидных пар.

Для идентификации *D. immitis* можно использовать праймеры: COI intF - 5'-TGATTGGTGGTTTTGGTAA-3' и COI intR 5'-ATAAGTACGAG TATCAATATC-3' с режимами 94 °С – 30 с, 30 циклов (94 °С – 1 мин, 50 °С – 2 мин, 72 °С – 3 мин) и 72 °С – 5 мин. Праймеры амплифицируют фрагмент размером в 656 нуклеотидных пар (рис. 3.4).

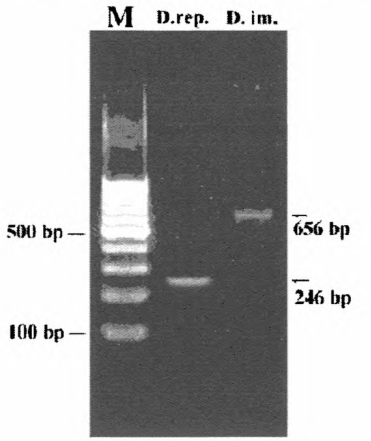


Рис. 3.4. Электрофореграмма ПЦР-анализа *Dirofilaria spp.*

Обозначения: М – набор маркеров молекулярной массы ДНК;
D. im. – D. immitis;
D. rep. – D. repens;
bp – длина фрагмента, выражаемая в количестве нуклеотидных пар

При пробоподготовке – выделении ДНК из комаров-переносчиков – необходимо провести предварительное механическое измельчение биологического материала (при исследовании комаров в 1 пул входит 5—10 особей) в лизирующем растворе согласно инструкции, прилагающейся к набору для выделения ДНК.

2.5. Исследование комаров на наличие личинок дирофилярий

Подготовку комаров к лабораторному исследованию на зараженность дирофиляриями проводят согласно нормативным документам.

Перед вскрытием живых самок комаров обездвиживают эфиром или в морозильной камере (–18 °С) в течение 10—15 минут. После этого погружают на несколько секунд в этиловый спирт, промокают на фильтровальной бумаге и помещают в каплю физиологического раствора на предметное стекло. Под стереоскопическим микроскопом (объектив 3—4×) препарируют комара, первоначально отсекая крылья и конечности, а затем разделяют на 3 части: голову с ротовым аппаратом, грудной отдел и брюшко. Из брюшка выделяют желудок и мальпигиевы сосуды. Для этого острием препаровальной иглы надрывают хитиновый покров между седьмым и восьмым члениками брюшка. Затем концом одной иглы фиксируют хитин первого членика брюшка комара, а другой иглой осторожно вытягивают содержимое брюшка за обнажившуюся часть кишечника в месте разрыва хитина. При этом освобождается желудок комара вместе с мальпигиевыми сосудами. Из хитиновой оболочки головы комара и грудного отдела извлекают содержимое, надавливая сверху иглой, расположенной горизонтально. При препарировании хоботка хорошо отделяется нижняя губа, в которой могут быть обнаружены личинки третьей стадии (L3). Подготовленный нативный препарат закрывают покровным стеклом и просматривают под микроскопом (объектив 10×, а для уточнения вида и стадии развития дирофилярии объектив 40×). Личинки первой стадии (L1) могут быть обнаружены в желудке, второй (L2) – в мальпигиевых сосудах и третьей (L3) – в гемолимфе комара и его хоботке. При этом хорошо видно движение дирофилярий.

Перед вскрытием мертвых комаров, собранных в течение сезона их активности, предварительно помещают в 96° этиловый спирт на 30—60 минут, затем вскрывают по вышеописанной методике. Препарату дают подсохнуть и без дополнительной фиксации окрашивают по Романовскому-Гимза. После этого препарат просматривают под микроскопом и регистрируют наличие или отсутствие личинок дирофилярий в комаре (рис. 3.5—3.8).

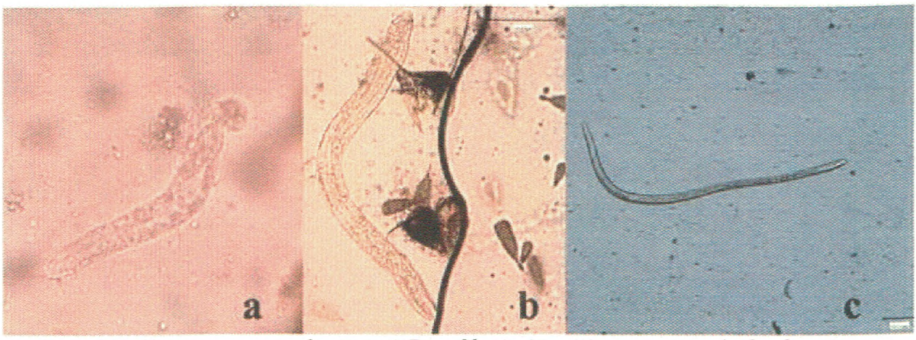


Рис. 3.5. Личинки дирофилярий *Dirofilaria immitis* в комаре *Aedes koreicus*: a) L1 (40×); b) L2 (10×); c) L3 (5×) (По Montarsi F. и соавторы, 2015)

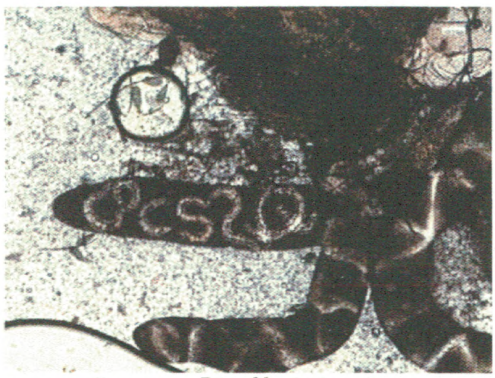


Рис. 3.6. Личинка второй стадии *Dirofilaria immitis* в мальпигиевых сосудах *Aedes koreicus* (5×) (По Montarsi F. и соавторы, 2015)

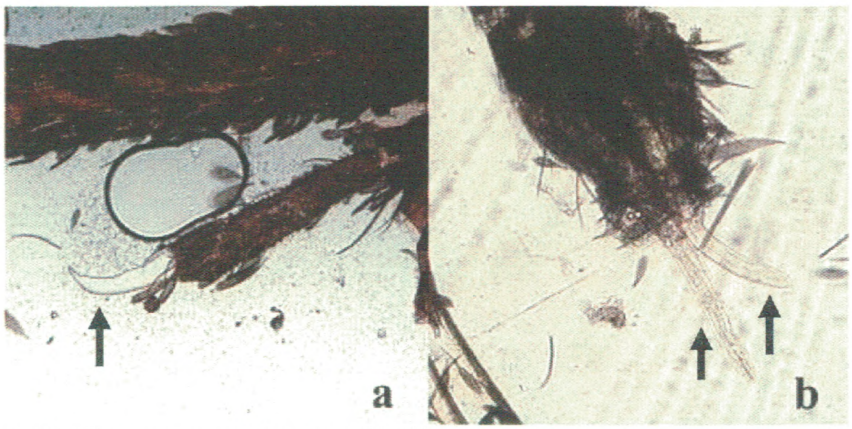


Рис. 3.7. Личинки третьей стадии *Dirofilaria immitis* в голове *Aedes koreicus* (10×). Личинки выходят из пальпы (a) и хоботка (b) (По Montarsi F. и соавторы, 2015)

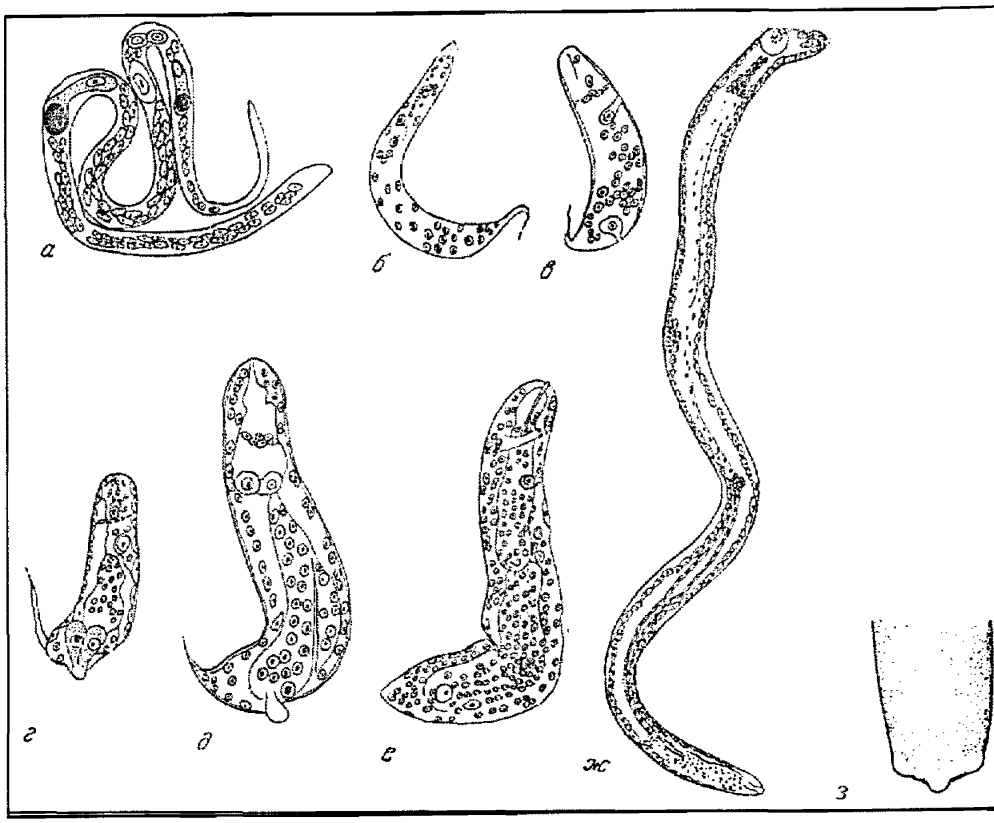


Рис. 3.8. Морфологические признаки стадий развития личинок *D. repens и D. immitis* в комарах

а – микрофилярии в содержимом кишечника комара; **б, в, г, д** – личинки L1 в мальпигиевых сосудах, проходящие линьку (так называемая «стадия сосиски»: неподвижные, длина 150—160 мкм, ширина – 21—22 мкм); **е** – личинка L2 в просвете мальпигиевых сосудов (слабо подвижные, размером 217—221 мкм при ширине 34—36 мкм); **ж** – личинка L3 в головном отделе (длина 1,015—1,300 мм, ширина 25—28 мкм). В теле инвазионных личинок под большим увеличением обнаруживаются зачатки внутренних органов: нервное кольцо на расстоянии 160 мкм от головного конца, половой зачаток (12 клеток) – 535 мкм и анальная пора – 1,220 мм; **з** – личинка L3 (на хвостовом конце личинки имеются один терминально расположенный и два латеральных каудальных сосочков).

gost.e-ecolog.ru