

седьмой день на 9,2% после введения СКК, в это время достоверной разницы между группами не отмечали.

Количество тромбоцитов в период исследования в подопытной группе достоверно изменялось начиная с 7-го дня и имело тенденцию повышения в пределах референтных физиологических норм, так на 21-й день после введения СКК их количество было на 8,7% больше, чем до введения. В контрольной группе их достоверное повышение отмечалось на 3-й день, $p > 0,001$. Достоверных отличий количества тромбоцитов между группами не отмечалось.

Следует отметить, что в период исследования достоверных изменений скорости оседания эритроцитов в обеих группах не отмечали.

В период исследования не отмечали вероятных изменений количества лейкоцитов как в подопытной, так и контрольной группах. В то же время отмечено достоверное повышение количества лейкоцитов в подопытной группе животных после введения СКК по отношению к контрольной группе, что составило 6,6% на третий и 7,6% на седьмой дни соответственно.

В период исследования в обеих группах отмечали изменения в лейкограмме. Достоверных изменений палочкоядерных нейтрофилов в первой и второй группе не происходило. Количество сегментоядерных нейтрофилов в период исследования достоверно не изменялось как в подопытной, так и в контрольной группах, однако отмечалась достоверная разница между группами на третий и четырнадцатый дни и составили 9,5%.

В период исследования количество моноцитов в группах достоверно не изменялось.

Количество лимфоцитов в первой группе достоверно не изменялось, одновременно во второй группе отмечалась достоверная разница их количества на третий день. Следует отметить, что на третий и седьмой дни отмечали достоверную разницу количества лимфоцитов между подопытной и контрольной группами.

Количество эозинофилов в первой и второй группах в период исследования находилось в пределах физиологической нормы и достоверно не изменялось.

Заключение. В период исследования при использовании сыворотки кордовой крови отмечали ее влияние на эритропоз, что выражалось повышением количества эритроцитов на 9,6%. Введение СКК клинически здоровым животным вызывало повышение концентрации гемоглобина на 11,3%.

Литература. 1. Bianchi, F. Potential advantages of acute kidney injury management by mesenchymal stem cells / F. Bianchi, E. Sala, C. Donadei [et al.] // *World J Stem Cells*. – 2014. – № 26. – P. 644-650. 2. Improving umbilical cord blood processing to increase total nucleated cell count yield and reduce cord input wastage by managing the consequences of input variation / M. W. Naing, D. A. Gibson, P. Hourd [et al.] // *Cytotherapy*. – 2015. – P. 58-67. 3. Мошко, Ю. О. Кріоконсервування сироватки кордової крові, визначення її біологічної активності та клінічної ефективності в терапії хронічних салпінгоофоритів. Автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.35 / Ю. О. Мошко. – Харків, 2003. – 20 с. 4. Umbilical cord blood serum therapy for the management of persistent corneal epithelial defects / E. Erdem, M. Yagmur, J. Harbigeli [et al.] // *Int. J. Ophthalmol.* – 2014. – № 5. – P. 807-810. 5. Нардид, Э. О. Биологическая активность криоконсервированной сыворотки кордовой крови в экспериментальной модели постгастрэктомиического синдрома: Автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.35 / Э. О. Нардид. – Харьков, 2010. – 22 с. 6. Влияние предварительного введения фракции до 5кДа из кордовой крови на процессы сопряженного дыхания в митохондриях печени крыс / А. К. Гулевеный, А. Ю. Никольченко, А. Ю. Сомов [и др.] // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2012. – № 1 (91). – С. 104-106. 7. Диэлектрические свойства сыворотки кордовой крови человека после длительного низкотемпературного хранения / О. В. Липина, О. А. Горобченко, О. А. Нардид, О. С. Ясунова [и др.] // *Біофізичний вісник*. – 2013. – № 30(2). – С. 102-105. 8. Clinical trials for stem cell therapies / A. Trounson, R. G. Thakar, G. Lomax [et al.] // *BMC Medicine*. – 2011. – P. 2-7.

Статья передана в печать 09.02.2016 г.

УДК 636.7.09:616.995.132–07(477.52)

ДИНАМИКА И ДИАГНОСТИКА ДИРОФИЛЯРИОЗА СОБАК В Г. СУМЫ, УКРАИНА

*Решетило А.И., **Никифорова О.В., *Турченко О.Н.

*Сумской национальной аграрный университет, г. Сумы, Украина,

**Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

В центральном и прилегающих районах г. Сумы сохраняется устойчивая тенденция заболеваемости собак дирофиляриозом, экстенсивность инвазии составила 9,4%. Чаще болели собаки в возрасте 4-10 лет – 59,5%. Более восприимчивы собаки породы немецкая овчарка – 35,4%. Методом ПЦР установлено, что дирофиляриоз собак вызывают возбудители *Dirofilaria repens* и *Dirofilaria immitis*, хотя до декабря 2015 года регистрировали дирофиляриоз собак, вызванный только *Dirofilaria repens*. Микрофиляриемия у собак регистрировали на протяжении весенне-летне-осеннего периода.

In the central and nearby urban districts in Sumy has preserved steady tendency of dog's dirofilariosis, extensiveness of invasion compound 9,4%. More often be ailing dogs from 4 to 10 years old – 59,5%. More susceptible was breed German shepherd – 35,4%. By PCR method has revealed that dogs' dirofilariosis

causing by *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis*, although up to December 2015 recorded that dogs' dirofilariosis caused only *Dirofilaria repens*. Microfilaremia in dogs has registered during spring-summer-autumn period.

Ключевые слова: диروفилариоз, *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria immitis*, собаки, ПЦР, микроскопия, г. Сумы, Украина.

Keywords: dirofilariosis, *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria immitis*, dogs, PCR, microscope, city Sumi, Ukraine.

Введение. Диروفилариоз (*Dirofilariosis*) – природно-очаговое, облигатно-трансмиссивное, широко распространенное как во многих странах [1, 2, 11], так и на территории Украины, а именно в Киевской, Одесской, Харьковской, Полтавской и др. областях [3, 4, 6, 8, 10], нематодозное заболевание собак, кошек и диких представителей семейства *Canidae* и *Felidae*, других плотоядных, а также человека, вызывается нематодами подотряда *Filariata*, которые паразитируют в подкожной клетчатке (*Dirofilaria repens*, Railliet et Henry, 1911), а также в сердце, легочной артерии, других кровеносных сосудах (*Dirofilaria immitis*, Leidy, 1856). Заболевание сопровождается тяжелой патологией всех систем организма, включая головной мозг и глаза.

Распространение диروفилариоза собак отмечается не только в южных регионах Украины, но и на территориях с умеренным климатом, где много рек и водоемов – мест выплода промежуточных хозяев – кровососущих комаров родов *Culex*, *Aedes*, *Anopheles* [5], которые передают микродиروفиларий от животных к животному, от животного человеку.

Существующие на сегодня методы диагностики диروفилариоза в Украине несовершенны. Они базируются на выявлении микрофилярий в периферической крови. Однако, у многих больных животных микрофилярии могут отсутствовать (сезонные и суточные колебания появления микрофилярий в крови, однополая инвазия, интенсивная иммунная реакция организма против микрофилярий и др.) [12].

В связи с малоспецифичностью клинических признаков при диروفилариозе, актуальным остаются поиски эффективных методов лабораторной диагностики с возможностью точного определения видовой принадлежности возбудителя.

Материалы и методы исследований. Материалом исследований были клинически больные собаки разных пород и возрастных групп, поступившие в частную клинику ветеринарной медицины «Ветсервис», г. Сумы, а также кровь от этих животных. Кровь отбирали у собак из подкожной вены предплечья в период с 19 до 22 часов. Исследовали кровь микроскопическим методом нативного мазка с окрашиванием по Романовскому краской Гимзе (15X90).

Параллельно кровь исследовали «Способом детекции *Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens* в биологических образцах с помощью полимеразной цепной реакции» [9]. Исследования методом полимеразной цепной реакцией (ПЦР) проводили в лаборатории молекулярной диагностики и клеточных биотехнологий «Вирола» Харьковской академии последиplomного образования в период 2013–2015 гг.

Праймеры и условия проведения ПЦР приведены в таблице 1. Для выделения специфической ДНК использовали набор для выделения ДНК из цельной крови «ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь-плюс» производства ООО НПФ «Литех», Россия.

Таблица 1 - Праймеры и условия проведения ПЦР на присутствие ДНК возбудителей рода *Dirofilaria*

Название возбудителя	Местоположение гена	Т° отжига	Размер продукта, пн
<i>Dirofilaria repens</i>	12S rRNA	52	152
<i>Dirofilaria immitis</i>	12S rRNA	52	472

Результаты исследований. В результате проведенных исследований на протяжении 2013–2015 годов установлено, что диروفилариоз регистрируется у собак в центральном и прилегающих микрорайонах г. Сумы. За период исследований было клинически исследовано 1682 собаки в возрасте от 6 месяцев до 15 лет, выявлено микрофилярий в крови микроскопическим методом нативного мазка у 170 собак, 158 собак были больны диروفилариозом, экстенсивность инвазии составила 9,4%.

Так, в 2013 году диروفилариоз регистрировали у 45 собак, в 2014 – у 55 собак, в 2015 – у 58 собак. По сравнению с предыдущими годами (2010-2012 гг.) наших исследований [7] количество заболевших собак уменьшилось, хотя и не значительно, однако в период 2013-2015 гг. сохраняется устойчивая тенденция к стабильному возрастанию количества заболевших собак (рисунок 1). Экстенсивность инвазии за предыдущий период составила 8,9%.

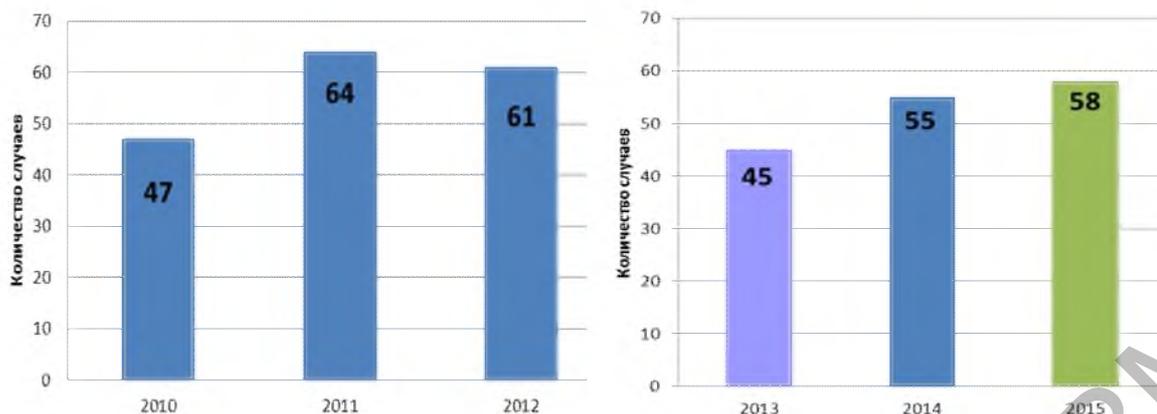


Рисунок 1 - Динамика диروفилариоза собак в г. Сумы в 2010-2015 гг.

Возрастная динамика заболеваемости собак диروفилариозом остается в тех же возрастных категориях, а именно часто заболевание регистрировали у собак в возрасте 4-10 лет.

Довольно часто болели собаки в возрасте 1-4 года, реже - собаки старше 10 лет, и только у собак в возрасте до года диروفилариоз регистрировали в единичных случаях или вообще не регистрировали (2015 год). Данные возрастной динамики приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Возрастная динамика диروفилариоза собак в г. Сумы за 2013-2015 гг.

Возраст собак, лет	2013 год		2014 год		2015 год		Всего за 2013-2015 гг.	
	Гол.	%	Гол.	%	Гол.	%	Гол.	%
До года	1	2,2	2	3,6	-	-	3	1,9
1-4 года	11	24,4	15	27,3	17	29,3	43	27,2
4-10 лет	29	64,5	35	63,6	30	51,7	94	59,5
Старше 10 лет	4	8,9	3	5,5	11	19,0	18	11,4
Всего	45	100	55	100	58	100	158	100

Породная динамика диروفилариоза собак характеризуется расширением спектра пород, у которых регистрировали данное заболевание. В предыдущий период исследований (2010-2012 гг.) диروفилариоз регистрировали у 10 пород собак [7], а в текущий у 16. Данные породной динамики представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Породная динамика диروفилариоза собак в г. Сумы за 2013-2015 гг.

Порода	Голов	%
Немецкая овчарка	56	35,4
Беспородные	55	34,8
Ротвейлер	10	6,3
Стаффордширский терьер	7	4,4
Лайка	6	3,8
Кавказская овчарка	4	2,5
Иоркширский терьер	4	2,5
Среднеазиатская овчарка	3	1,9
Далматин	3	1,9
Лабрадор-ретривер	2	1,3
Английский коккер-спаниель	2	1,3
Английский бульдог	1	0,6
Американский бульдог	1	0,6
Дратхаар	1	0,6
Курцхаар	1	0,6
Ризеншнауцер	1	0,6
Хаски	1	0,6
Всего	158	100

Восприимчивость и частота заболеваемости собак породы немецкая овчарка остается на первом месте как в предыдущий период исследований (2010-2012 гг.), так и в текущий (2013-2015 гг.) – 45,9 и 35,4%, соответственно. Беспородные собаки по частоте заболевания диروفилариозом занимают второе место – 34,8%, а у собак пород английский бульдог, американский бульдог, дратхаар, курцхаар, ризеншнауцер и хаски диروفилариоз диагностировали в единичных случаях.

Сезонная динамика диروفилариоза собак связана с активностью комаров – промежуточных хозяев, однако микрофилярии обнаруживали в крови собак на протяжении года. В наших

исследованиях наибольшее количество собак, инвазированных микрофиляриями, регистрировали в весенне-летне-осенний период (рисунок 2).

Максимальное количество выявленных животных с микрофиляриями в крови регистрировали в апреле-мае, наименьшее в 2013 году – в январе, марте, сентябре, декабре; в 2014 году – в феврале, марте, декабре; в 2015 году – в январе, марте, сентябре.

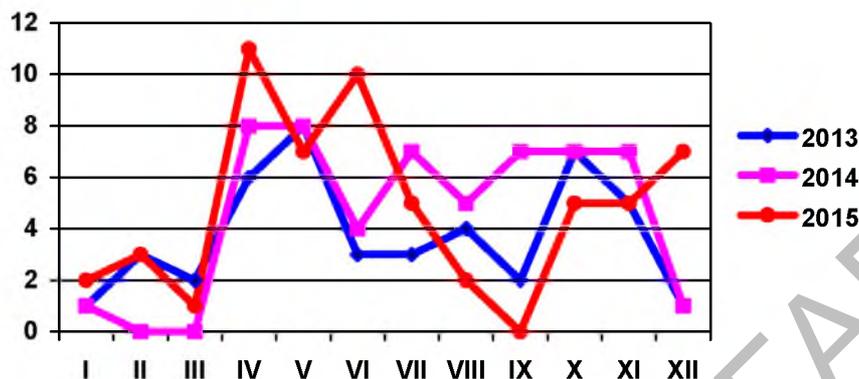


Рисунок 2 - Сезонная динамика выявления микрофилярий в крови собак, больных дирофиляриозом в г. Сумы

Нестабильность подъемов и спадов выявления микрофилярий в крови собак, вероятно, связана и зависит от количества и активности комаров, а также количества осадков и температурного режима в течение теплого периода года, что в свою очередь влияет на выклад комаров.

Клинические признаки дирофиляриоза собак малоспецифичны и разнообразны, поэтому решающее значение для подтверждения диагноза имеет лабораторная диагностика болезни.

В результате микроскопических исследований нативных мазков или капли крови, окрашенных методом Романовского краской Гимзе, обнаруживали микрофилярий (рисунок 3).

Для диагностики дирофиляриоза и определения видового состава возбудителя применяли метод полимеразной цепной реакции.

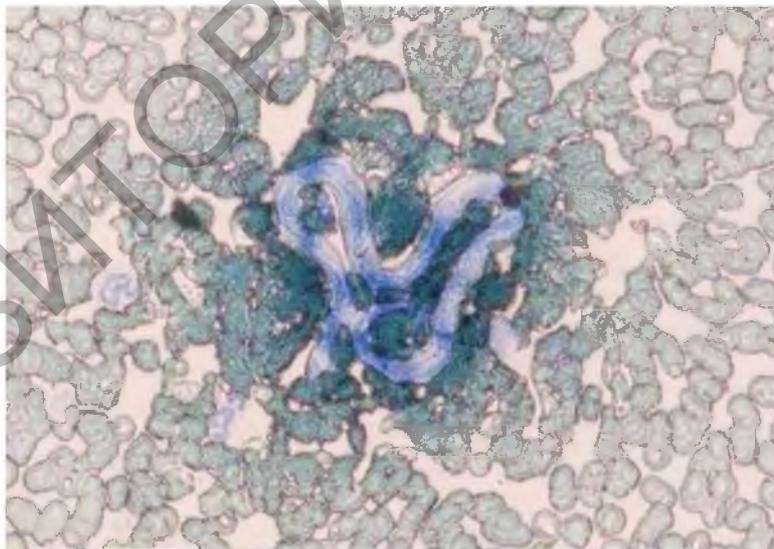


Рисунок 3 - Микрофилярия в мазке крови, окрашенной методом Романовского, (15x90)

За период с 2013 по 2015 год была исследована кровь 1682 собак разных пород и возрастных групп. Микрофилярии методом микроскопии нативного мазка выявлены у 170 собак. Параллельно кровь от этих же 170 собак была проанализирована методом ПЦР для подтверждения диагноза и видовой идентификации (таблица 4).

Полимеразная цепная реакция - более чувствительный и точный метод диагностики дирофиляриоза собак по сравнению с методом микроскопии [7], при котором установить видовую принадлежность возбудителя дирофиляриоза затруднительно, поэтому ПЦР позволяет не только поставить диагноз на дирофиляриоз, но и идентифицировать возбудителя, что очень важно для дальнейшего лечения.

Таблица 4 - Идентификация микрофилярий в крови методом ПЦР

Собаки, у которых обнаружены микрофилярии в нативном мазке крови, гол	Идентифицированы в ПЦР как микрофилярии		Микрофилярии, не идентифицированные в ПЦР
	<i>Dirofilaria immitis</i>	<i>Dirofilaria repens</i>	
170	2	156	12

До декабря 2015 года в наших исследованиях методом ПЦР диагностировали дирофиляриоз собак, вызванный *Dirofilaria repens*. С декабря 2015 года исследованиями по установлению видовой принадлежности возбудителя дирофиляриоза собак установлено, что в 2 случаях микрофилярии идентифицированы как микрофилярии *Dirofilaria immitis* у немецкой овчарки в возрасте 8 лет и беспородной собаки в возрасте 6 лет.

В 12 случаях микрофилярии в ПЦР не идентифицированы, что указывает на возможность циркуляции среди поголовья собак г. Сумы дипеталонем. Вопросы циркуляции дипеталонем, видового состава, дифференциации микрофилярий, выявленных в крови микроскопически, требуют более детальных исследований.

Заключение. В г. Сумы регистрируется дирофиляриоз собак, что вызывается возбудителями *Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens*. В центральном и прилегающих микрорайонах г. Сумы сохраняется устойчивая тенденция заболеваемости собак дирофиляриозом, экстенсивность инвазии составила 9,4%. Чаще болели собаки в возрасте 4-10 лет – 59,5% случаев, довольно часто болели собаки в возрасте 1-4 года – 27,2%, реже болели собаки старше 10 лет – 11,4% случаев, а у собак до года регистрировали единичные случаи дирофиляриоза, что составило 1,9% от общего количества диагностированных животных. Более восприимчивы к дирофиляриозу собаки породы немецкая овчарка, а также беспородные собаки – 35,4 и 34,8%, соответственно. Микрофиляриемия у собак регистрировали на протяжении весенне-летне-осеннего периода. Полимеразная цепная реакция является более чувствительным и точным методом диагностики дирофиляриоза собак, позволяющим диагностировать заболевание даже при невозможности обнаружения микрофилярий в нативном мазке крови, а также идентифицировать видовую принадлежность возбудителя.

Литература. 1. Red fox (*Vulpes vulpes*) as a wild life reservoir for vector-borne filariae / Z. Hurnikova, M. Miterpkova // XIV Конференція Українського наукового товариства паразитологів, Ужгород, 21-24 вересня 2009 р. : Тези доповідей. – Київ, 2009. – С. 141. 2. Slovakia – a country with new endemic foci of canine dirofilariosis / M. Miterpkova, D. Antolova, Z. Hurnikova, P. Dubinsky // XIV Конференція Українського наукового товариства паразитологів, Ужгород, 21-24 вересня 2009 р. : Тези доповідей / відп. ред. І. А. Акімов. – Київ, 2009. – С. 149. 3. Бодня, К. І. Дирофіляріоз в Україні (2006) : Ветеринарні статті. – Харківська медична академія післядипломної освіти, 2006. – 14 с. 4. Величко, С. В. К диагностике дирофиляриоза собак в Украине / С. В. Величко, Н. С. Василик, А. В. Мисюрин // Матер. VI Міжн. наук.-практ. конф. – К., 2001. – С.15–18. 5. Дирофиляриоз собак в Юго-Восточной части Украины / И. С. Дахно [и др.] // Матер. III Междунар. науч.-практ. конф. – Киев, 1998. – С. 97–99. 6. Заболеваемость дирофиляриозом в Донецкой области / Агаркова Л.Л. [и др.] // XIV Конференція Українського наукового товариства паразитологів, Ужгород, 21-24 вересня 2009 р. : Тези доповідей / відп. ред. І. А. Акімов. – Київ, 2009. – С. 5. 7. Никифорова, О. В. Эпизоотологические особенности и эффективность применения полимеразной цепной реакции в диагностике дирофиляриоза собак в г. Сумы, Украина / О. В. Никифорова, А. И. Решетило, Е. Н. Михайличенко // Современные проблемы зоологии и паразитологии: матер. VI Междунар. науч. конф. «Чтения памяти проф. И. И. Барабаш-Никифорова», г. Воронеж, 25 марта 2014. – Воронеж : Изд. Дом Воронежского государственного университета, 2014. – С. 121-125. 8. Особливості епідеміології дирофіляріозу у Придніпров'ї / Т. М. Павліковська [та ін.] // XIV Конференція Українського наукового товариства паразитологів, Ужгород, 21-24 вересня 2009 р. : Тези доповідей / відп. ред. І. А. Акімов. – Київ, 2009. – С. 85. 9. Пат. 98472 UA, МПК C12Q 1/68 (2006.01). Спосіб детекції *Dirofilaria immitis* та *Dirofilaria repens* у біологічних зразках за допомогою полімеразної ланцюгової реакції / О. В. Нікіфорова [та інш.] // Патент на корисну модель. – № 98472. Заявл. 01.12.2014. Опубл. 27.04.2015 Бюл. № 8. 10. Ситуація по дирофіляріозу у Полтавській області та заходи профілактики / В. Ф. Шаповал, Н. В. Горбенко, В. З. Дорфман, М. І. Ковзач // XIV Конференція Українського наукового товариства паразитологів, Ужгород, 21-24 вересня 2009 р. : Тезиси доповідей / відп. ред. І. А. Акімов. – Київ, 2009. – С. 119. 11. Ястреб, В. Б. Особенности патогенеза при дирофиляриозах собак, вызываемых *Dirofilaria immitis* и *D. repens* / В. Б. Ястреб // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : матер. докл. науч. конф. – М., 2009. – С. 448–452. 12. Архипов, И. А. Дирофиляриоз / И. А. Архипов, Д. Р. Архипова. – Москва, 2004. – 194 с.

Статья передана в печать 17.02.2016 г.