

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
УДК 636.7.09:616.36-07**

«ПОГОДЖЕНО»
Декан факультету ветеринарної
медицини
Цвіліховський М.І.
(підпис) (ПШБ)

«ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ»
Завідувач кафедри біохімії і фізіології
тварин ім. академіка
М.Ф. Гулого
д.вет.н., професор Томчук В.А.
(ПШБ, науковий ступінь та вчене звання)

« 2021 р. (підпис)
» 2021 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА
(Пояснювальна записка)
на тему: «ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ДИРОФІЛЯРІОЗУ В СОБАК»**

Спеціальність 211 Ветеринарна медицина
Спеціалізація «Ветеринарна медицина»
Освітня програма Ветеринарна лабораторна діагностика
Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

Керівник магістерської роботи
Доктор ветеринарних наук, доцент
(науковий ступінь та вчене звання)
Кладницька Л.В.
(підпис) (ПШБ)

Виконав
Кисилиця В.В.
(підпис) (ПШБ студента)

Консультант з економічних питань
к.вет.н., доцент
(науковий ступінь та вчене звання)
Київ – 2021
(підпис) (ПШБ)

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Завідувач кафедри біохімії і фізіології
тварин ім. акад. М. Ф. Гулого
Томчук В. А. д. вет. н., професор
(ПІБ, науковий ступінь та вчене звання)

(підпис)

« » 20 р.

ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ МАГІСТЕРСЬКОЇ РОБОТИ
СТУДЕНТУ
Києлиці Владислави Василівни

(Прізвище, ім'я та по-батькові)

Спеціальність Ветеринарна медицина
Магістерська програма Ветеринарна лабораторна діагностика
Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна
Тема кваліфікаційної магістерської роботи: **«ЛАБОРАТОРНА
ДІАГНОСТИКА ДИРОФІЛЯРІОЗУ В СОБАК»**

затверджена наказом ректора НУБіП України від «01» грудня 2020р. №
Термін подання завершеної роботи на кафедру «15» листопада 2021р.
(рік, місяць, число)

Вихідні дані до магістерської роботи – Дослідження проводили на кафедрі
біохімії і фізіології тварин імені академіка М. Ф. Гулого, клініці ветеринарної
медицини Величка С. В. «WSW clinic» у м. Києві. Було проведено аналіз та
лабораторну діагностику 65 клінічних випадків дирофіляріозу в собак.

НУБіП України

НУБІП України

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

- 1) Провести лабораторну діагностику дирофіляріозу в собак;
- 2) Порівняти методи лабораторної діагностики за дирофіляріозу;
- 3) Визначити найефективніші методи лабораторної діагностики за дирофіляріозу;
- 4) Визначити ефективність електрокардіографічних досліджень та хірургічного втручання за дирофіляріозу

НУБІП України

Перелік графічного матеріалу (за потреби) _____

НУБІП України

Дата видачі завдання «15» вересня 2020 р.

Керівник кваліфікаційної магістерської роботи _____

Кладницька Л.В.

(підпис)

(ПШ)

НУБІП України

Завдання прийняв до виконання _____

О Кисилиця В.В.

(підпис)

(ПШ)

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РЕФЕРАТ

Магістерська робота викладена на 52 сторінках комп'ютерного тексту,

містить 4 таблиці, 21 рисунок, використано 45 літературних джерел, з них 23

латинською мовою.

Дирофіляріоз – це зоонозне захворювання людини та м'ясоїдних тварин, яке спричинюється круглими нематодами: *Dirofilaria immitis* і *Dirofilaria repens*,

які частіше локалізуються в серці, кровоносних судинах та в підшкірній клітковині, калитці, матці. Захворювання реєструються у різних країнах світу де переважає теплий і вологий клімат. Зараження тварин відбувається трансмісивно під час активного льоту комарів родів *Aedes*, *Culex*, *Anophies*, які є проміжними хазяями. Дефінітивними хазяями є більше 30 видів тварин, але найчастіше

вважаються собаки.

Діагностика дирофіляріозу досить ускладнена, тому при дослідженні тварин на наявність цього захворювання використовують різні методи

прижиттєвої діагностики: лабораторні та додаткові. До лабораторних методів діагностики відносяться: модифікований метод Кнотта, метод Кулікова, метод

Архіпової Д. Р., метод Руже-Мюленса, метод Шуффнера, метод В. Б. Ястреба, аналіз мазка за методом Романовського-Гімза, метод непрямі

імунофлюоресценції, імуноферментний аналіз, пряма мікроскопія краплі свіжої крові, імунохроматографічний експрес-тест, дослідження цільної сироватки

крові, метод фільтрації, метод фарбування на кислу фосфатазу. З додаткових методів застосовують: морфологічні та біохімічні дослідження крові,

дослідження сечі, рентгенографію грудної порожнини, ехокардіографію, електрокардіографію. Важливо своєчасно виявити паразита в організмі тварини.

Не кожна методика забезпечує виявлення паразита в організмі, а деякі з них, застосовані після лікування, дають хибні результати, оскільки реагують на циркулюючі комплекси в крові тварини, що залишаються навіть після знищення

паразита впродовж 6 місяців. Тому визначення ефективності методів дослідження крові на дирофіляріоз є актуальним питанням.

Мета роботи – лабораторна діагностика за дирофіляріозу собак.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Визначити ефективність застосування лабораторних методів досліджень собак за дирофіляріозу.

Визначити зміни у функціонуванні серцевого м'яза за проведення електрокардіографічних досліджень.

3. Дослідити морфологічні та біохімічні показники крові собак за дирофіляріозу.

4. За використання оперативного втручання дослідити новоутворення сім'яника пса.

Об'єкт дослідження – лабораторна діагностика собак за дирофіляріозу.

Предмет дослідження – собаки, кров, метод Кнотта, метод роздавленої краплі крові, метод В.Б. Яструба, метод фарбування на кислу фосфатазу, експрес-тести ІФА, електрокардіографічні дослідження собак за дирофіляріозу, хірургічне дослідження та видалення псевдопухлини.

Методи досліджень – лабораторні (модифікований метод Кнотта, дослідження на циркулюючий антиген *Dirofilaria immitis*, роздавленої краплі, Ястреба В. Б., фарбування на кислу фосфатазу), морфологічні (морфологічне дослідження крові), біохімічні (біохімічне дослідження крові), інструментальні (електрокардіографія), хірургічні (дослідження та видалення псевдопухлини), статистичні (визначення середніх величин та їх похибок, рівня достовірності).

Усі дослідження проведено з дотриманням норм біологічної безпеки та принципів біоетики.

Наукова новизна. Уперше визначено ефективність застосування лабораторних досліджень за дирофіляріозу в собак за методу Кнотта 88,8 %

НУБІП України
($p < 0,05$), методу роздавленої краплі за якого ларви ми виявили у 72,2 % $p < 0,01$, за методу В.Б. Ястреба у 68,5 % і за методу фарбування на кислу фосфатазу у 55,5% ($p < 0,001$) собак у порівнянні з експрес-методом імунохроматографічного аналізу.

НУБІП України
Методом електрокардіографії було виявлено порушення ритму і провідності серця, що проявлялося наступним: синусова тахікардія 54 %, миготлива аритмія передсердь 4 %, екстрасистолія 10%, фібриляція шлуночків 2 %, блокада правої ніжки пучка Гіса 5%.

НУБІП України
Ультразвуковим дослідженнями серця виявили статевозрілих паразитів у порожнинах серця і судин, зокрема в правому шлуночку та легеневій артерії. Хірургічним методом вилучили статевозрілу особину дирофілярії з сім'яного канатика собаки.

НУБІП України
Результати досліджень опубліковані в Сумському науковому віснику «Дослідження чутливості лабораторних методів діагностики дирофіляріозу собак» та апробовані на конференції *Міжнародної науково-практичної конференції «PRIORITY DIRECTIONS OF SCIENCE AND TECHNOLOGY DEVELOPMENT»* 24-26 січня 2021 року. «Лабораторна діагностика дирофіляріозу собак».

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ЗМІСТ
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....9

РОЗДІЛ 1.....10

НУБІП України

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....10
Вступ.....10
1.1. Поширення дирофіляріозу у світі.....11

1.2. Цикл розвитку *D. immitis*.....13

1.3. Методи лабораторної діагностики дирофіляріозу.....16

1.4. Додаткові методи дослідження дирофіляріозу.....18

1.5. Висновки до огляду літератури.....21

РОЗДІЛ 2.....22

НУБІП України

НАПРЯМИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....22
2.1. Матеріали і методи дослідження.....22
2.1.1. Матеріали.....22

2.1.2. Методи.....22

2.2. Характеристика бази.....25

РОЗДІЛ 3.....27

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....27

3.1. Результати лабораторних досліджень крові собак за дирофіляріозу.....27

3.2. Результати електрокардіографічних досліджень собак за дирофіляріозу.....31

3.3. Хірургічне видалення псевдопухлини сім'яника.....34

3.4. Методика лікування дирофіляріозу.....36

РОЗДІЛ 4.....37

НУБІП України

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ ОДЕРЖАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....37
ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....39

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 41
ДОДАТКИ 46
НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ЧСС – частота серцевих скорочень;

НУБІП України

АсАТ – аспаргатамінотрансфераза;

АлАТ – аланінамінотрансфераза;

ГГТ – гамма-глутамілтранспептидаза;

НУБІП України

УЗД – ультразвукова діагностика;

ЕХО – ехографічна діагностика;

ЕКГ – електрокардіограма;

НУБІП України

ІФА – імуноферментний аналіз;

ІХА – імунохроматографічний аналіз

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

ВСТУП

Дирофіляріоз (від лат. «*diro, fi lum*» – «зла нитка») – широко розповсюджене зоонозне захворювання м'ясоїдних тварин, збудниками якого є нематоди, що належать до підряду *Filariata*, родини *Onchocercidae*, роду *Dirofilaria*. У природі існує біля 26 видів дирофілярій, проте у собак і котів на території більшості країн світу частіше виявляють два види збудників: *Dirofilaria repens* – локалізується в підшкірній клітковині і викликає ураження шкіри та *Dirofilaria immitis* – паразитує в правому шлуночку серця та легеневих артеріях і викликає у тварин розлад серцево-судинної діяльності [3;4].

Проміжними хазяями збудників є самки комарів родів *Anopheles*, *Aedes*, *Culex* [11;13]. Дефінітивними господарями гельмінтів є більше 30 видів тварин (собака, домашня і дика кішка, лисиця, вовк, койот, динго, ведмідь, панда, бобр, енот, тхір, носуха, видра і ряд інших ссавців). Сприйнятливі також коні, каліфорнійські морські леви, тюлені, примати та люди. Проте цю групу ссавців відносять до абортивних господарів, у їх організмі гельмінти не досягають статевозрілої стадії [17]. Хвороба має значне поширення, особливо в країнах з тропічним та субтропічним кліматом [Panarese, R., Maria, R. I., Latrofa S., Zatlall A., Ignjatović Čupina, A., Montarsi, F., Pombi, M., Mendoza-Roldan, J. A., Beugnet, F., Otranto, D. 2020], а у зв'язку з глобальним потеплінням реєструється і в Україні. Основне джерело поширення інвазії – хворі м'ясоїдні тварини. Сучасні дані спеціальної літератури засвідчують, що для діагностики дирофіляріозу в собак найбільш часто використовуються системи експрес-тестів. Крім експрес-тестів, нині відомо чимало методик для визначення дирофілярій та мікродирофілярій в організмі собак. Проте не кожна методика забезпечує виявлення гельмінтів в організмі собаки. Деякі з цих методик, застосовані після

лікування тварини, дають хибні результати, оскільки реагують на циркулюючі імунні комплекси, що залишаються у крові упродовж шести місяців, навіть після зникнення паразитів. Крім того, окремі методики передбачають використання

токсичних і небезпечних реактивів [American Heartworm Society. Canine

дирофіляріозу в актуальним питанням [17;28;33].

1.1 Поширення дирофіляріозу у світі

Найчастіше в собак реєструються два збудники дирофіляріозу *Dirofilaria*

immitis і *Dirofilaria repens*. Дирофіляріоз, спричинений нематодой *D. immitis*

широко розповсюджений в Африці, Америці, Середземноморських країнах,

Середньої Азії. Дирофіляріоз, спричинений нематодой *D. repens* розповсюджений

в країнах Європи, Середнього і Близького Сходу, Африки і Азії (рис. 1).

ДИРОФИЛЯРІОЗ У СОБАК
СИТУАЦІЯ В МИРІ

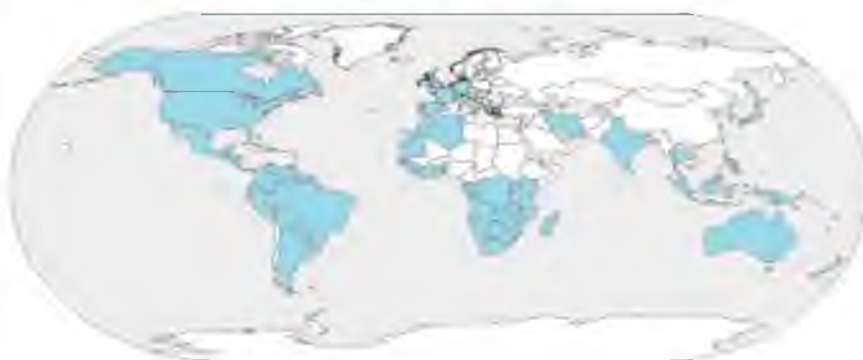


Рис.1 Поширення дирофіляріозу в світі

Збудник *D. Immitis* відомий в Америці понад 160 років (1847). Дж. Лейді у

1856 р. описав перший випадок серцевого дирофіляріозу в собаки, який був

виявлений на території Південної Америки [31]. Починаючи з 90-х років ХХ

століття на території України простежується тенденція зростання випадків

дирофіляріозу у собак та людей [7,11;14]. Його досить активно прогресуюче

поширення в Україні, в країнах Європи пов'язують зі зміною клімату на більш жаркий і вологий й активізацією переносників. Сприяє розвитку гелмінтозу і температурний режим. Щоб комар став заразним, добова температура повітря протягом 10 днів не має опускатися нижче 26 0С. Саме висока температура

сприяє розвитку личинок *Dirofilaria imens* в комарах.

У наші дні дирофіляріоз у собак реєструють в містах Київ, Одеса, Севастополь, Сімферополь, Харків, а також на території Київської, Чернігівської, Сумської, Полтавської, Харківської та інших областей України [6;15;19] (див.

мал. 2)



Рис. 2 Поширення дирофіляріозу в Україні

В центральних регіонах України ураженість собак досягає 45,16%, при інтенсивності інвазії – 122,3 личинок в 1 см³ крові. До дирофіляріозу сприйнятливі собаки всіх вікових груп. Собаки віком від 2 до 13 років уражені дирофіляріями приблизно однаково, тоді як тварини старше 12 років уражаються частіше. Ураженість собак дирофіляріями за результатами досліджень крові дещо відрізняється по сезонах року. Максимальні показники

Н ураженості тварин гельмінтами реєструвалися влітку в червні (36,1%). На початку весни, у березні, показники знижувалися до 27,7%. Восени, у жовтні, ураженість тварин не перевищувала 23,9%, а в зимовий період (січень) – 7,9%. В

залежності від породи та господарського призначення ураженість тварин теж

Н була різною. Більш сприйнятливі до захворювання ротвейлери і середньоазіатська вівчарка їх ураженість досягала, відповідно, 34% та 32,6%, у безпритульних – 32,4%, а у декоративних порід інвазію не реєстрували. За

даними більшості дослідників, на показники екстенсивності та інтенсивності

Н інвазії впливає, насамперед, господарське використання собак: сторожові та мисливські більш сприйнятливі до ураження дирофіляріями, ніж німнатні, через довготривале перебування їх в умовах довкілля і як результат більшої

вірогідності контакту з комарами. Найбільш сприйнятливими до збудників

Н дирофіляріозу були собаки короткошерстих порід (ротвейлер, доберман, боксер, американський стаффордширський тер'єр). Проте, захворювання було поширене

Н також серед тварин довгошерстих порід (спанієль, пудель, кавказька вівчарка, бобтейл, середньоазіатська та південно-російська вівчарки) [20;21]. Залежно від

статі тварин значно вища екстенсивність інвазії реєструвалася у самців, оскільки

Н вони активніші, ніж самки. Встановлена закономірність ураження собак порід німецька та кавказька вівчарки, доберман та різеншнауцер.

1.2 Цикл розвитку *D.immitis*

Н Для успішної діагностики хвороби та лікування тварин важливо чітко розуміти життєвий цикл гельмінтів. *D.immitis* – біогельмінт із транемісивним шляхом передачі. Дорослі нематоди локалізуються у легеневих артеріях собаки.

Самка живородна. Вона відкладає личинки L1 у просвіт кровоносних судин. Чим

Н більша інтенсивність інвазії в легеневих артеріях, тим нижча їхня плодючість [22].

Личинки циркулюють у крові, стаючи інвазійними протягом 2 тижнів. Часто вони мігрують до капілярів легень де, прикріпившись, очікують найбільш сприятливих умов для початку фази циркуляції по кровоносній системі остаточного господаря .

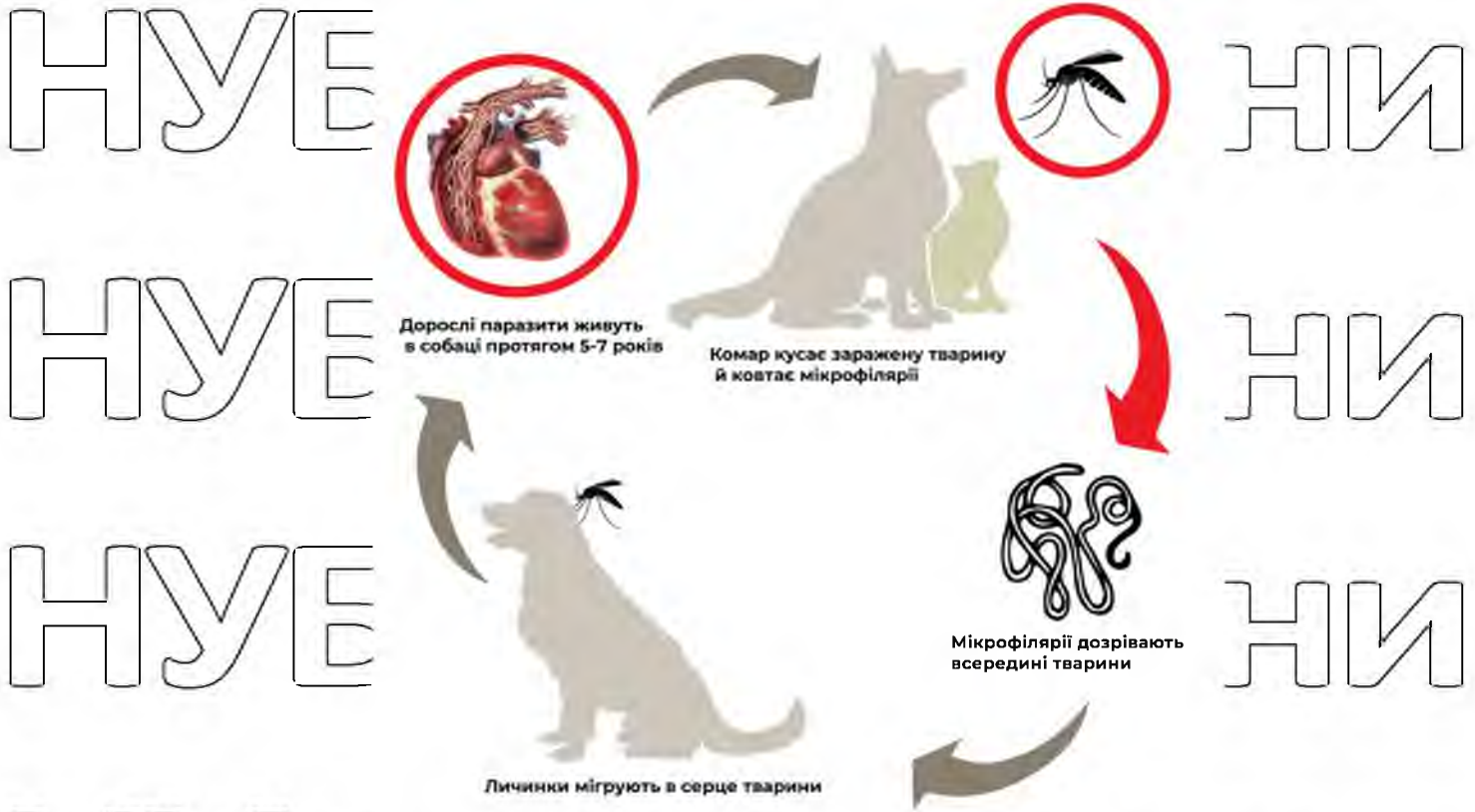


Рис. 3 Цикл розвитку *D. immitis*

Під час кровосання на м'ясоїдних тваринах проміжні хазяї заковтують мікродирофілярії з кров'ю. В організмі комара вони двічі линяють і досягають інвазійної стадії впродовж 8-14 днів. Після цього личинки проникають у ротовий апарат комахи, розривають губи та пальпи і під час кровосання потрапляють в організм дефінітивного хазяїна. В подальшому личинки мігрують лімфогенним і гематоенним шляхами до місця локалізації дорослих гельмінтів [10]. Важливо, що запліднених самок виявляють у собак через 120 - 270, а мікрофіляремію через 190 - 240 днів після зараження. Імаго *D. immitis* живе до 7 років в організмі

господаря. У собак встановлено можливість трансплацентарної передачі *D. immitis*.

Цикл розвитку *D. repens* проходить так само, як у *D. immitis*. Відмінність

полягає в тому, що личинка L3 шкірної дирофілярії, що потрапила при укусі

комара у підшкірну клітковину остаточного господаря, не мігрує в кровеносну систему, а продовжує рости і розвиватися в цій тканині до стадії імаго [16].

Для дирофіляріозу характерна сезонність. Зараженість тварин та людини

корелює з активністю комарів у період їхнього льоту, яка припадає на квітень –

жовтень, з максимальною чисельністю у травні – липні [16;22].

Клінічні ознаки у собак, як правило, ґрунтуються на інтенсивності інвазії.

Чим вища інтенсивність інвазії, тим важчий загальний стан тварини [American

Heartworm Society. Canine guidelines. 2020]. Собаки кашляють і легко

втомлюються після помірних фізичних навантажень, особливо тоді, коли

дирофілярії заподіюють лише легке пошкодження легеневої артерії. По мірі

пошкодження серця рух крові у собак порушується і спричинює серцеву

недостатність та раптову загибель [5].

Статевозрілі *Dirofilaria repens* локалізуються під шкірою в ділянці очей, в

матці, у вигляді псевдопухлин статевих органів собак [25;31]. Мікродирофілярії

становлять небезпеку для здоров'я тварини, оскільки викликають зміни у

внутрішніх органах, а саме, у печінці, нирках, легенях [Mikola, N., Oborina, V.,

Jokelainen, P. 2020].

Зі змінами клімату та глобального потенціалу у світі і в Україні зокрема,

збільшилась тривалість сезонної активності самок комарів і, тому все частіше,

дирофіляріоз реєструється у собак і людини.

Сучасні дані спеціальної літератури засвідчують, що для діагностики

дирофіляріозу в собак найбільш часто використовуються системи експрес-тестів.

Крім експрес-тестів, нині відомо чимало методик для визначення дирофілярій та

мікродирофілярій в організмі собак. Проте не кожна методика забезпечує

виявлення гельмінтів в організмі собаки. Деякі з цих методик, застосовані після лікування тварини, дають хибні результати, оскільки реагують на циркулюючі імунні комплекси, що залишаються у крові упродовж шести місяців, навіть, після

зникнення паразитів. Крім того, окремі методики передбачають використання токсичних і небезпечних реактивів [9;12].

У практиці лабораторій ветеринарної медицини давно набув популярності метод Кнотта, який полягає у центрифугуванні крові з 2% розчином формаліну (1:10) 5 хв за 1500 об/хв. Осад фарбують метиленовим синім і досліджують під мікроскопом [37].

1.3 Методи лабораторної діагностики дирофіляріозу

Фахівці лабораторій ветеринарної медицини використовують і ряд інших методик, які також знайшли своє місце у дослідженнях за виявлення мікрофілярій. За методом Кулікова беруть 20 мл венозної крові, змішують з 2 мл 3,8% водного розчину лимоннокислого натрію (цитрату натрію) і відстоюють 20-30 хв. При цьому в пробірці утворюється три шари: нижній – еритроцити, середній – лейкоцити і мікрофілярії, верхній – плазма крові. Відбирають піпеткою середній шар, краплями наносять на предметне скло, накривають покривним і досліджують під мікроскопом за малого і середнього збільшення [8].

Архіпова Д. Р. розробила кількісний метод зажиттєвої діагностики дирофіляріозу собак, який ґрунтується на підрахунку мікрофілярій у лічильній камері Фукс-Розенталя. Лейкоцитарний меланжер до мітки I заповнюють кров'ю і до мітки II розчином, що складається з крижаної оцтової кислоти, розчину фуксину і дистильованої води в співвідношенні 3:4:93. Для рівномірного змішування меланжер з кров'ю і розчином кладуть на вібратор на 2-3 хв. До чистої і сухої камери Фукс-Розенталя притирають покривне скло, до появи кілець

Ньютона. Розчин у меланжері струшують і краплю розчину (не першу) наносять на середню частину пластинки камери та під мікроскопом (x100) підраховують мікрофілярій у всіх квадратах. Отримане число множать на 6,23 (для 20 мм³

розчину потрібно $6,23 \text{ мм}^3$ обсягу камери). Для визначення кількості мікрофілярій в 1 мл крові, отримане число множать на 50 [1,2].

За методом Руже-Мюленса до крові додають 95 мл 5 % розчину формаліну,

5 мл оцтової кислоти і 2 мл концентрованого спиртового розчину генціанвіолету.

Суміш центрифугують, надосадову рідину вилучають, а осад знову центрифугують з водою і досліджують під мікроскопом. Слід відмітити, що дослідниками запропонована більш спрощена методика, коли краплю крові

поміщають у пробірку з розчином і проводять мікроскопію на наступну добу [35;40].

За методом Шюффнера беруть 10 крапель крові і поміщають у 10 мл фізіологічного розчину, до якого попередньо додають кілька крапель розчину сапоніну. Суміш центрифугують (для гемолізу еритроцитів), а живих і рухливих мікрофілярій виявляють в осаді під мікроскопом [40].

За методом Ястреба В. Б. у пробірку вносять 1 мл стабілізованої антикоагулянтом крові, додають 9 мл дистильованої води і відстоюють 7–10 хв, після чого центрифугують 5 хв за 2000 об/хв. Осад, 0,5 мл, переносять порціями на предметне скло і досліджують під мікроскопом. Виявляють рухливих мікрофілярій [17;22;23].

Існує також метод аналізу мазка, фарбованого за методом Романовського-Гімза, проте його менше застосовують за діагностики дирофіляріозу.

Метод непрямої імуофлюоресценції (МНІФ, ІФА) використовують для виявлення антитіл до мікрофілярій. Крім того, він має специфічну повноцінність за діагностики дирофіляріозу. За імуоферментного аналізу (ІФА, ELISA) можна виявляти антитіла до дирофілярій або сам антиген. Відмічено, що методи МНІФ і ІФА отримали значне поширення у практиці завдяки точності, чутливості, специфічності та швидкості діагностики. Проте після успішного лікування тварини за дирофіляріозу методи ІФА (1 рік) і МНІФ (6 місяців) дають позитивний результат за повторного дослідження [35].

Пряма мікроскопія краплі свіжої крові за малого збільшенням мікроскопа, є найбільш легким, зручним і швидким методом діагностики дирофіляріозу. Рухливі мікрофілярії добре помітні за їх пересуванням між еритроцитами. Цей метод дає надійні результати тільки за високої інтенсивності інвазії [17;40].

Для дослідження сироватки крові в пробірку беруть кілька мл венозної крові. Остання згортається і мікрофілярії мігрують у сироватку. Для цього сироватку із згустком відстоюють у пробірці кілька годин. Потім настеревською піпеткою беруть кілька крапель сироватки з дна пробірки або з місця на межі сироватки і згустку та поміщають на предметне скло, накривають покривним скельцем і досліджують за малого збільшенням мікроскопа. Виявляють рухливих мікрофілярій [18;40].

За методу фарбування на кислу фосфатазу (набір для цитохімічного фарбування препаратів червоного кісткового мозку на кислу фосфатазу «Діакім-Цито-Стейн-КФ») у пробірку з 10 мл дистильованої води додають кілька крапель сироватки крові, перемішують, центрифугують 5 хв за 1000–1500 об/хв. Після чого надосадову рідину вилучають, а осад розміщують на предметному склі, висушують, фіксують в парах формаліну 30 с, фарбують, дотримуючись інструкції до набору для фарбування [18;35;40].

Імунохроматографічний експрес-тест призначений для одноетапного якісного виявлення дирофілярій (CHW Ag) у крові, сироватці, плазмі. Тести виявляють протеїн (антиген), який секретується, дорослими самками *Dirofilaria immitis*. Цей тест є одним з найбільш чутливих методів діагностики. Для цього потрібно звільнити касету з пакета і покласти горизонтально, внести 3 краплі досліджуваного зразка у віконце тест-системи. Облік результатів проводити за 5–10 хв [26].

1.4 Додаткові методи дослідження дирофіляріозу

Для отримання додаткових даних щодо стану здоров'я тварини за дирофіляріозу проводять електрокардіографію, ультразвукову діагностику,

рентгенграфію. За ехографії виявляють дирофілярій у камерах серця, зазвичай у лівому передсерді, легеневій артерії; визначають об'єм камер серця, товщину міжшлуночкової перегородки та міокарда за фаз серцевих скорочень. За високої інтенсивності інвазії, коли гельмінти локалізуються в легневих артеріях, правому шлуночку і правому передсерді, спостерігають гіпертрофію або розширення правого шлуночка, перикардіальний виніт, парадоксальну рухливість міжшлуночкової перегородки, сплюснення потовщення перегородки, недостатність тристулкового клапана, підвищення тиску в легневих артеріях [24].



Рис. 4 Модифікований правий парастернальний доступ по довгій осі лівого шлуночка. Виразене розширення правого передсердя і шлуночка, дорослі особи дирофілярій візуалізуються у вигляді подвійних паралельних гіперехогенних ліній, які заповнюють просвіт правого передсердя

За дослідження біострумів серця визначають електричну вісь серця, зміни в роботі камер серця, провідної системи. Відмічено, що за дирофіляріозу у собак електрокардіографія виявляє синусову аритмію (тахікардію), ознаки розширення правого шлуночка і правого передсердя, порушення провідності [24].

Для вилучення гельмінтів, що локалізуються під шкірою і формують псевдопухлини, застосовують хірургічні методи.

Треба зазначити, що не кожна з запропонованих методик може забезпечувати виявлення мікродирофілярій або дирофілярій в організмі собак, особливо після проведеного їх лікування.

Морфологічні та біохімічні дослідження крові не дозволяють поставити точний діагноз на дирофіляріоз, але допомагають визначити патологічні зміни в органах і тканинах, які можуть бути пов'язані з інвазією. Найбільш часто за

дирофіляріозу відзначають нормоцитарію, нормохромну або гіпохромну анемію (гематокрит <math>< 20-30\%</math>), гемолітичну анемію, нейтрофілію, еозинофілію (85 % випадків), базофілію (60 % випадків), моноцитоз, тромбоцитопенію. У важких випадках, особливо, якщо присутня серцева недостатність, підвищується

активність ферментів АЛАТ і АсАТ, іноді відзначається гіпербілірубінемія. Азотемія може бути не ниркового походження, якщо присутні дегідратація або порок серця, або може бути вторинна за гломерулонефриту, який ускладнює клінічну картину [8].

Рентгенографія грудної порожнини за оцінкою патологічних змін у легенях дозволяє побіжно визначити ступінь інвазії. У собак, хворих на дирофіляріоз, можна виявити потовщення легеневої артерії, її звивистість та гіпертрофію правого шлуночка, ущільнення тканини легені. Для кращої демонстрації змін у судинах можна провести ангіографію.



Рис. 5 Рентгенограма грудної клітки собаки в прямій проекції за дірофіляріозу. Випінання головної легеневої артерії, асиметричне розширення, ущільнення, деформація легеневої артерії каудальних часток.

Слід відмітити, що рентгенографія показує поширеність запального процесу в легенях виявляє хворих тварин з високим ризиком розвитку легеневої тромбоемболії [25].

1.5 Висновок до огляду літератури

Дирофіляріоз – небезпечна гельмінтозна хвороба м'ясоїдних тварин, зокрема собак, а також людини, збудниками якої є круглі черви. Найчастіше у собак ресструються два збудники *Dirofilaria immitis* і *Dirofilaria repens*,

Проміжними хазяями збудників є самки комарів родів *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*.

Хвороба має значне поширення, особливо в країнах з тропічним та субтропічним кліматом, а в зв'язку з глобальним потеплінням – і в Україні.

Вагомим фактором своєчасного виявлення *Dirofilaria immitis* і *Dirofilaria repens* в організмі собак є те, що хворі тварини є резервуаром цих гельмінтів, які небезпечні для людини.

Сучасні дані спеціальної літератури засвідчують, що для діагностики дірофіляріозу в собак найбільш часто використовуються системні скрепес-тестів.

Крім експрес-тестів, нині відомо чимало методик для визначення дирофілярій та мікродирофілярій в організмі собак. Проте не кожна методика забезпечує виявлення гельмінтів в організмі собаки. Деякі з цих методик, застосовані після лікування тварини, дають хибні результати, оскільки реагують на циркулюючі імунні комплекси, що залишаються у крові упродовж шести місяців, навіть, після зникнення паразитів. Крім того, окремі методики передбачають використання токсичних і небезпечних реактивів.

Отже, визначення оптимального алгоритму лабораторного і діагностичного дослідження собак за дирофіляріозу набуває все більшої актуальності в зв'язку з поширенням його на території України.

Отже, визначення оптимального алгоритму лабораторного і діагностичного дослідження собак за дирофіляріозу набуває все більшої актуальності в зв'язку з поширенням його на території України.

Отже, визначення оптимального алгоритму лабораторного і діагностичного дослідження собак за дирофіляріозу набуває все більшої актуальності в зв'язку з поширенням його на території України.

Отже, визначення оптимального алгоритму лабораторного і діагностичного дослідження собак за дирофіляріозу набуває все більшої актуальності в зв'язку з поширенням його на території України.

Отже, визначення оптимального алгоритму лабораторного і діагностичного дослідження собак за дирофіляріозу набуває все більшої актуальності в зв'язку з поширенням його на території України.

Отже, визначення оптимального алгоритму лабораторного і діагностичного дослідження собак за дирофіляріозу набуває все більшої актуальності в зв'язку з поширенням його на території України.

РОЗДІЛ 2

НАПРЯМИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріали і методи дослідження

Дослідження проводили на 65 собаках різних порід, власники яких звернулись за допомогою в клініку ветеринарної медицини Величка С.В.

Дослідження проводили з дотримання вимог Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» відповідно до «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), декларації «Про гуманне ставлення до тварин» (Гельсінкі, 2000) і Національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 2001).

Проводили загальний клінічний огляд собак, відбирали кров з додаткової підшкірної вени передпліччя вранці або ввечері. Кров досліджували лабораторно імуноферментним методом (система експрес-тесту) на наявність антигену

дорослих гельмінтів та за методами Кнотта, роздавленої краплі, центрифугування з дистильованою водою, фарбування на кислу фосфатазу на наявність мікродирофілярій. Морфологічні дослідження крові проводили на аналізаторі для ветеринарних досліджень Exigo (Нідерланди), біохімічні

дослідження крові проводили на біохімічному аналізаторі Vitalab Flexor E (Нідерланди), ультрзвукове дослідження проводили на апараті Esaot 40 (Італія).

За дослідження методом Кнотта до 1 мл крові собак додавали 10 мл 2%-ного розчину формаліну, центрифугували протягом 5 хвилин за 1500 об/хв. Після цього надосадову рідину вилучали, а осад фарбували метиленовим синім і досліджували під мікроскопом [30].

За дослідження методом роздавленої краплі, пробірки з кров'ю струшували, відбирали 3 краплі крові, які наносили на предметне скло, зверху накривали покривним скельцем і одразу досліджували під малим збільшенням мікроскопу [19].

За методом Ястреба В.Б. 1 мл стабілізованої антикоагулянтном крові (цитрат натрію, генарин етилендиметилтетраоцтова кислота) вносили в пробірку, додавали 9 мл дистильованої води і відстоювали 7-10 хвилин, після чого центрифугували протягом 5 хвилин за 2000 об /хв. Осад у кількості 0,5 мл розміщали порціями на предметному склі та проводили мікроскопію [18].

За дослідження методом фарбування на кислу фосфатазу в пробірку з 10 мл дистильованої води додавали кілька крапель сироватки і центрифугували 5 хв. за 1000-1500 об/хв, надосадову рідину вилучали, ресуспендований осад розміщали на предметному склі, висушували, фіксували в парах формаліну 30 с, фарбували, дотримуючись інструкції до набору для фарбування [15,18].

За дослідження експрес-тестом на дослідження наявності антигену *Dirofilaria immitis* в крові собак наносили краплю сироватки крові досліджуваної тварини у спеціальне віконце тест-системи, очікували 5-15 хвилин і враховували результат за наявністю або відсутністю смужки у відповідній зоні тестової системи.

Тест (ІФА) на мікрофілярій зараз розглядаються як додаткові аналізи з наступною метою:

- Підтвердити позитивний тест на антиген;
- Визначити чи є собака потенційним резервуаром інвазії;
- Визначити собак, з ризиком важкої реакції на лікування мікрофіларіцидами.

Методика виявлення антигену: Технологія імуноферментного аналізу (ІФА) (рис. 6) була використана в перших клінічних тестах на антиген *CHW*.

НУБІП Українни

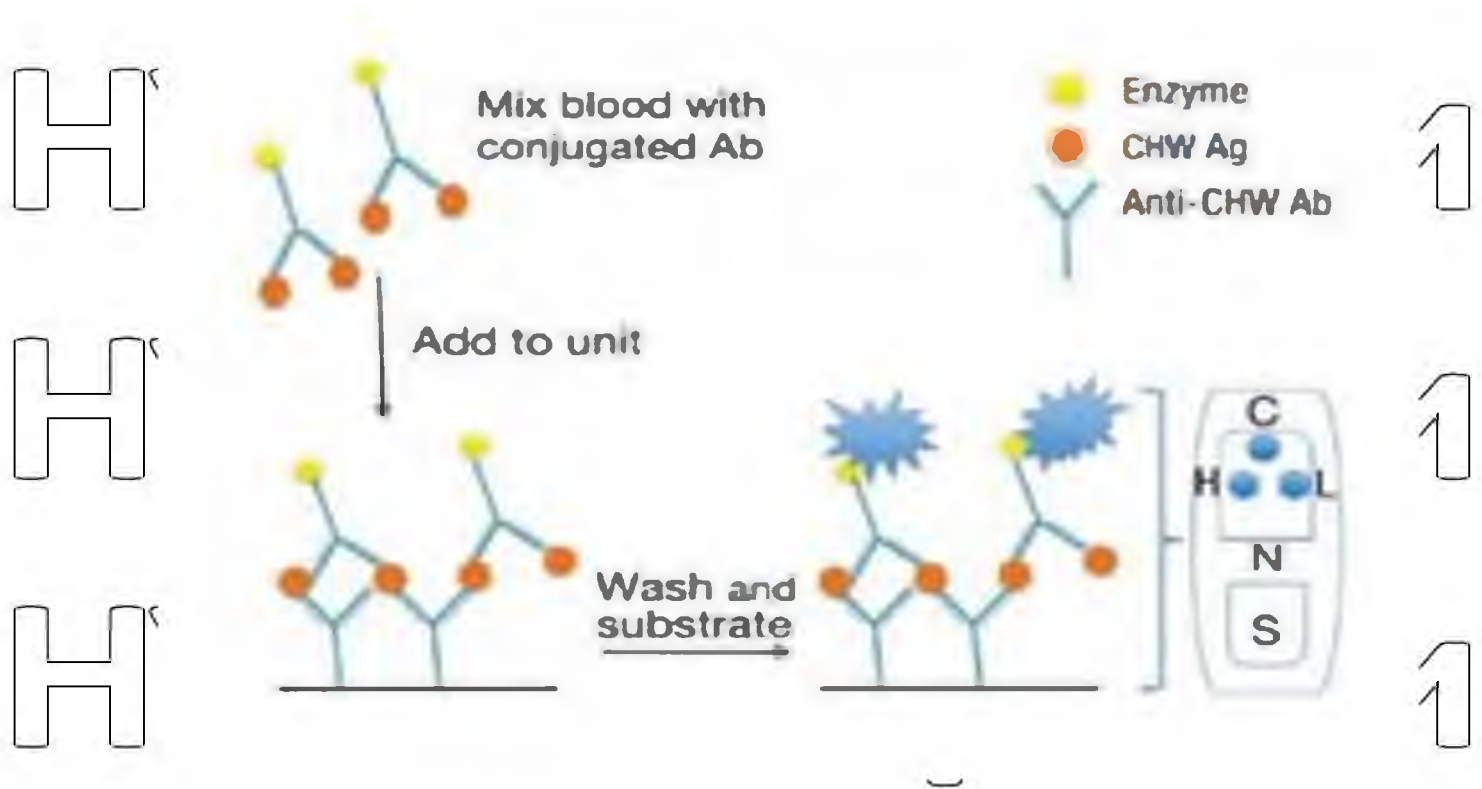


Рис. 6. Схеми проходження реакцій за імуноферментним аналізом

1. Антитіла проти CHW (Ab), зв'язані з ферментом, змішуються з цільною кров'ю, плазмою або сироваткою, що дозволяє їм зв'язуватися з антигенами

дирофіляріозу (Ag) у досліджуваному зразку.

2. Після суміш кон'югат-зразок наносять на порт зразка (S) і дають їй можливість протекти через мембрану, на якій були пов'язані плями додаткових антитіл проти дирофіляріозу Abs для виявлення низького (L) та високого (H) рівнів антигену.

3. Промивний розчин використовується для видалення незв'язаних кон'югатів ферментів. Промивання проводиться розчином субстрату, який діє зі зв'язаним ферментом, викликаючи зміни кольору, що вказує на позитивний тест.

4. Позитивні (С) і негативні (N) контрольні точки також містяться на мембрані. Наявність зміни кольору в позитивному контролі необхідна для дійсного тесту, а точки зразків також повинні мати інтенсивніше забарвлення кольору, ніж негативний контроль.

5. Якщо не утвориться точка позитивного контролю, або негативний контроль має високу реактивність, тест вважається недійсним і його необхідно повторити.

Усіх собак, у яких був позитивний результат за експрес-тесту на антиген в крові, досліджували іншими, вище зазначеними методами, з метою виявлення їх ефективності. Методом електрокардіографії визначали функціональний стан серця [25].

Усіх собак, у яких був позитивний результат за експрес-тесту на антиген в крові, досліджували іншими, вище зазначеними методами, з метою виявлення їх ефективності. Методом електрокардіографії визначали функціональний стан серця [25].

Хірургічним методом досліджували псевдопухлини та вилучали з них статевозрілі дирофілярії [37]. Морфологічні та біохімічні показники крові визначали з використанням загально відомих методик [8].

Отримані цифрові дані опрацьовували статистично з визначенням середньоарифметичної величини (M), її похибки (m). Достовірність різниці середніх значень встановлювали за критерієм Стюдента. Зміни показників вважали достовірними за $p < 0,05$ (у тому числі, $p < 0,01$ і $p < 0,001$).

2.2. Характеристика бази

Магістерська робота виконувалась у ветеринарній клініці доктора Величка С. В. «WSW clinic», яка знаходиться за адресою м. Київ, проспект Голосівський 105 Б

Ветеринарна клініка має два поверхи. На першому поверсі при вході знаходиться хол, рецепція, два терапевтичних кабінети, дві кімнати для інфузійної терапії, хірургічний кабінет, ветеринарна аптека, приміщення для персоналу.

На другому поверсі знаходяться кабінети ультразвукової діагностики, ехокардіографії, лабораторної діагностики, передопераційна кімната, операційні, кімната для медикаментів. В окремій будівлі розміщений наявний рентген-кабінет. Підлога по всій клініці покрита плиткою, у кожному кабінеті є

бактерицидна лампа, рукомийники з холодною і гарячою водою, вентиляція, сухожарові шафи, холодильники для зберігання біологічних препаратів та хімічних реагентів.

У клініці є все необхідне обладнання для повного обстеження домашніх тварин, а саме: ультразвуковий апарат, електрокардіограф, мікроскоп, два автоматичних гематологічних аналізаторів (для загального та біохімічного аналізів крові), тонометр, рентген апарат, столи для терапевтичних і хірургічних маніпуляцій, хірургічні лампи та набори інструментів.

Часи прийому з 9:00 до 20:00.

У клініці працюють такі спеціалісти: головний лікар, кандидат біологічних наук, член української ортопедичної комісії, хірург, ортопед; терапевти, кардіолог, рентгенолог, невролог, інфекціоніст, лікар ультразвукової діагностики, гастроентеролог, лікар дерматолог, лаборант, анестезіолог.

Лікарі надають такі види лікувально-діагностичних послуг:

- Терапія – повний комплекс терапевтичних послуг, вакцинація та чіпування тварин;
- Ультразвукова діагностика – дослідження органів черевної порожнини, органів малого тазу та ехокардіографія серця;
- Лабораторна діагностика – дослідження загального та біохімічного аналізу крові, інфекційні та інвазійні хвороби, дослідження слухового каналу на отодектоз, бактеріальні і грибові ураження, ендоскопія, стоскопія, дослідження загального аналізу калу та сечі.

НУБІП України

- Хірургія – переломи, вилучення стороннього тіла з шлунково-кишкового тракту, пошкодження м'яких тканин, кастрація, розтин абсцесів, катетеризація сечового міхура, діагностика дисплазії ліктьового,

тазостегнового суглобів, кесарів розтин, пластика повік, видалення очного яблука та інше.

НУБІП України

- Стоматологія – зняття зубного каменю, видалення зубів, остеосинтез щелепи, фіксація щелеп при вивихах, розтин флюса та інше.

У ветеринарній аптеці представлений широкий спектр лікарських засобів,

НУБІП України

ветеринарні дієтичні корми для тварин, зоотовари (різні іграшки, аксесуари, шампуні, кондиціонери та спреї, миски і контейнери для годування тварин, наповнювачі для туалету тварин, гребінці та щітки для розчісування, ковтунорізи, кігтерізи), корми різних виробників (сухі і вологі), ласощі, вітаміни та добавки.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Результати лабораторних досліджень крові собак за дирофіляріозу.

Як показали результати досліджень, у сироватці крові собак за дослідження з використанням експрес-тесту позитивні результати на наявність антигену

Dirofilaria immitis отримали у 53 собак, що становило 93,5 % (рис. 7).



Рис. 7. Позитивний результат експрес-тесту на наявність у крові собаки антигену *Dirofilaria immitis*

За використання методу Кнотта виявляли мікродирофілярій у 88,8 % (р<0,05) (рис. 8) випадків порівняно з методом дослідження на циркулюючий антиген за експрес-тестом

За дослідження методом роздавленої краплі мікрофілярії були виявлені у 72,2 % (р<0,01) собак.



Рис. 8. Виготовлення нативного мазка крові собаки за дирофіляріозу

Методом Ястреба В. Б. (рис. 9) виявляли мікрофілярії у 68,5% ($p < 0,001$) випадків, а за фарбування на кислу фосфатазу – у 55,5% ($p < 0,001$). На нашу думку, такі показники обумовлені тим, що бувають випадки паразитування тільки статевозрілих гельмінтів, а мікродирофілярії відсутні внаслідок проведеного попереднього лікування собак.



Рис. 9 Дослідження крові собаки за дирофіляріозу за методом Е.В. Ястреба

НУБІП України

Личинки філярій видовженої форми, мають гостру форму хвоста і голови (рис.10, 11).

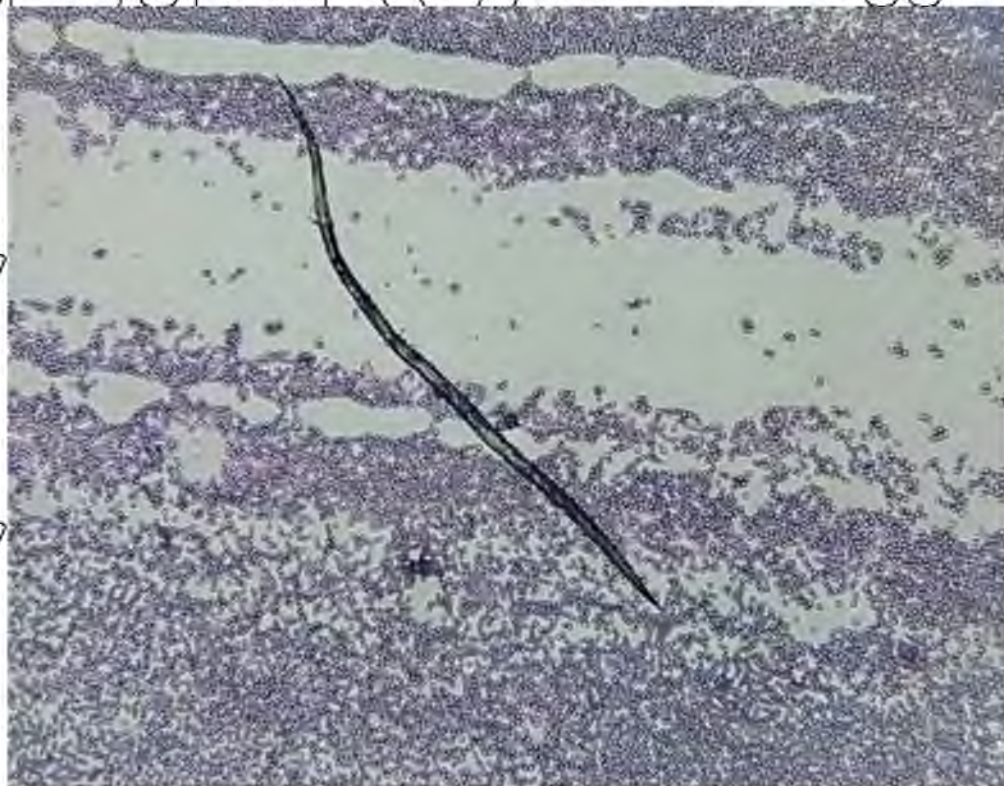


Рис. 10. Мікрофілярії в крові собаки за методом Кіотта, х 10

НУБІП України

За результатами морфологічного дослідження крові встановили зменшення

вмісту гемоглобіну до $132,50 \pm 15,23$ г/л ($p < 0,01$) та тенденцію до зменшення кількості еритроцитів порівняно з контролем (табл. 1, 2).

НУБІП України

НУБІП України



Рис. 11. Мікрофілярії в крові собаки за методом Б. В. Ястреба, x10

Таблиця 1

Морфологічні показники крові собак за дирофіляріозу, $M \pm m$, $n=17$

Показник	Група собак	
	контрольна	дослідна
к		
аз		
п		
и		
к		
и		
р	\pm	\pm
и		\pm

НУБІП у країни

р
о
ц

НУБІП у країни

и
т

НУБІП у країни

л
е
м

НУБІП у країни

л
о

НУБІП у країни

бі
н
л

НУБІП у країни

л
є
й
к
о

НУБІП у країни

н
и

НУБІП УКРАЇНИ

Г
И,
Г
/Л

НУБІП УКРАЇНИ

Примітка. Достовірна різниця порівняно з контролем $p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$.

ДОДАТИ МОРФОЛОГІЮ КРОВІ

НУБІП УКРАЇНИ

За дослідження лейкограми собак за дирофіляріозу відмічали достовірне підвищення кількості еозинофілів – $16,3 \pm 2,7$ %; ($p < 0,01$), зниження кількості сегментоядерних нейтрофілів – $55,0 \pm 3,5$ %; ($p < 0,05$) порівняно з контролем (див. табл. 2). Усі інші показники були в межах норми

Таблиця 2

Лейкоцитарна формула собак за дирофіляріозу, %, $M \pm m$, $n=17$

Група собак	Лейкоцитарна формула собак за дирофіляріозу, %, $M \pm m$, $n=17$	
	контрольна	дослідна
о		
к		
а		
з		
н		
и		
к		
и		
н	\pm	\pm
е		
й		
г		

НУБІП УКРАЇНИ

Р
О
Ф
ІЛ

НУБІП УКРАЇНИ

И
Н
А
Л

НУБІП УКРАЇНИ

И
Ч
К
О

НУБІП УКРАЇНИ

Я
Д
Є
Р

НУБІП УКРАЇНИ

Н
І
Є
Е

НУБІП УКРАЇНИ

Г
М
Є
Н

НУБІП УКРАЇНИ

Т
О
Я

НУБІП У КРАЇНИ

д
е
р
н

НУБІП У КРАЇНИ

і
Е
о
з

2
,
0

НУБІП У КРАЇНИ

и
н
о
ф

±

НУБІП У КРАЇНИ

іп
и
М

±

±

НУБІП У КРАЇНИ

н
о
ц
и

НУБІП У КРАЇНИ

т
и
Л

±

±

НУБІП У КРАЇНИ

і
м
ф
о

НУБІП України

Ц
И
Т
И

НУБІП України

Б
а
з
о

НУБІП України

ф
ІЛ
и

Примітка. Достовірна різниця порівняно з контролем * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$,

*** $p < 0,001$.

НУБІП України

За біохімічних досліджень у сироватці крові собак за дирофіляріозу

НУБІП України

В
с
т
а

НУБІП України

Н
о
в
л

е Біохімічні показники сироватки крові собак за дирофіляріозу, $M \pm m$, $n=17$

НУБІП України

Н
оПо
каз

Група собак

контрольна

дослідна

д

о

с

НУБІП у країні

ни
ки
ас
ат,
од/
л

НУБІП у країні

ал
ат,
од/
л

НУБІП у країні

лу
жн
а
фо

НУБІП у країні

сф
ага
за,
од/
л

НУБІП у країні

га
маг
лут
амі

НУБІП у країні

лтр
анс
фе
раз

НУБІП у країні

а,

НУБІП україни

Од/
л
Ам

±

±

НУБІП україни

за,
Од
л

НУБІП україни

Кр
еат
ини

±

±

НУБІП україни

н,
МК
МО
ль/
л

НУБІП україни

Се
чов
ина

±

±

НУБІП україни

мм
оль
/л

НУБІП україни

Бл
ок
заг

±

±

аль
ни

НУБІП України $\pm 1,1$ $3,6 \pm 0,9$

НУБІП України

НУБІП України \pm \pm

НУБІП України $\pm 1,7$ $\pm 1,2$

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України $\pm 0,3$ $\pm 0,9$

й,
г/л
Ал
ьбу
мін
,
г/л
Гл
юк
оза
,
мм
оль
/л
Біл
іру
бін
заг
аль
ни
й,
МК
МО
ль/
л
Біл
іру

Н У Б І П У К Р А Ї Н И	бін пря ми й, мк мо ль/ л		
Н У Б І П У К Р А Ї Н И	р, мм оль /л	$\pm 0,5$	$\pm 1,1$
Н У Б І П У К Р А Ї Н И	Са, мм оль /л	$\pm 0,5$	$\pm 0,7$

Примітка. Достовірна різниця порівняно з контролем * $p < 0,05$.

Н
У
Б
І
П
У
К
Р
А
Ї
Н
И

3.2 Результати електрокардіографічних досліджень собак за

дирофіляріозу. На рис. 9 і 10 представлено кардіограми дослідних собак за ураження їх гельмінтами *Dirofilaria immitis*. За результатами електрокардіографії у собаки Кари частота серцевих скорочень є нерегулярним від 160 до 280 уд./хв.

Н
У
Б
І
П
У
К
Р
А
Ї
Н
И

Н
У
Б
І
П
У
К
Р
А
Ї
Н
И

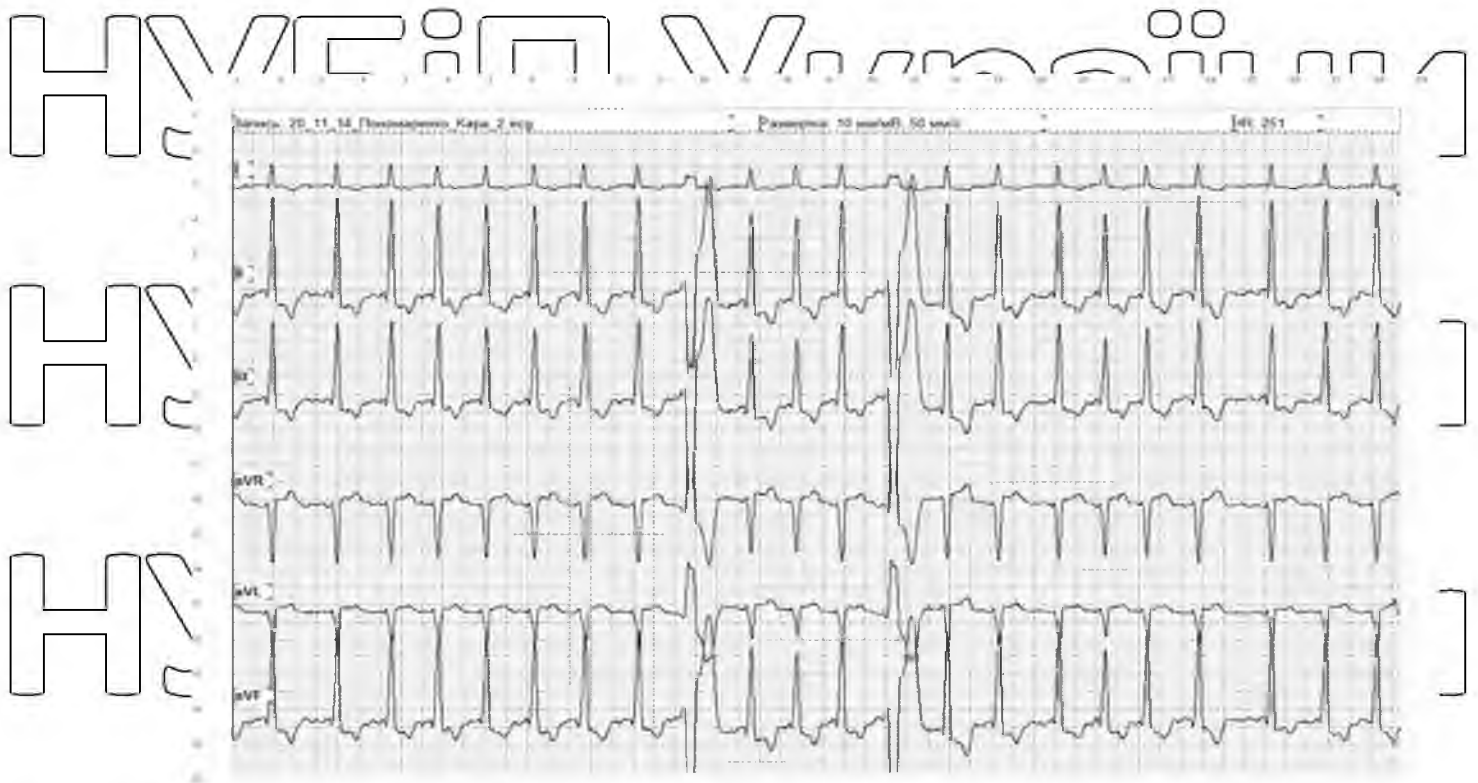


Рис.10. Електрокардіограма собаки Кари за дирофіляриозу

Слід відмітити, що електрична вісь серця не відхилена, ритм нерегулярний, відмічається фібриляція передсердь. Екстрасистоли монорморфні, поодинокі, шлуночкові (з лівого шлуночка), за типом блокади правої ніжки пучка Гіса; реєструється 25 екстрасистол за 5 хв (рис. 11, 12).

За результатами електрокардіографічних досліджень (табл. 4) частота серцевих скорочень собаки Оскара становила 120–140 уд./хв. Електрична вісь серця не відхилена. Серцевий ритм нерегулярний; дихальна синусова аритмія; екстрасистолія. Монорморфні екстрасистоли правого шлуночка за типом блокади лівої ніжки пучка Гіса. Екстрасистоли поодинокі та куплети, епізоди тригмені, квадригмені, вислизаючі; неповна компенсаторна пауза після кожної екстрасистоли; реєструється 103 екстрасистоли за 6 хв; значне підвищення кількості екстрасистол відмічається за затепокостія тварини.

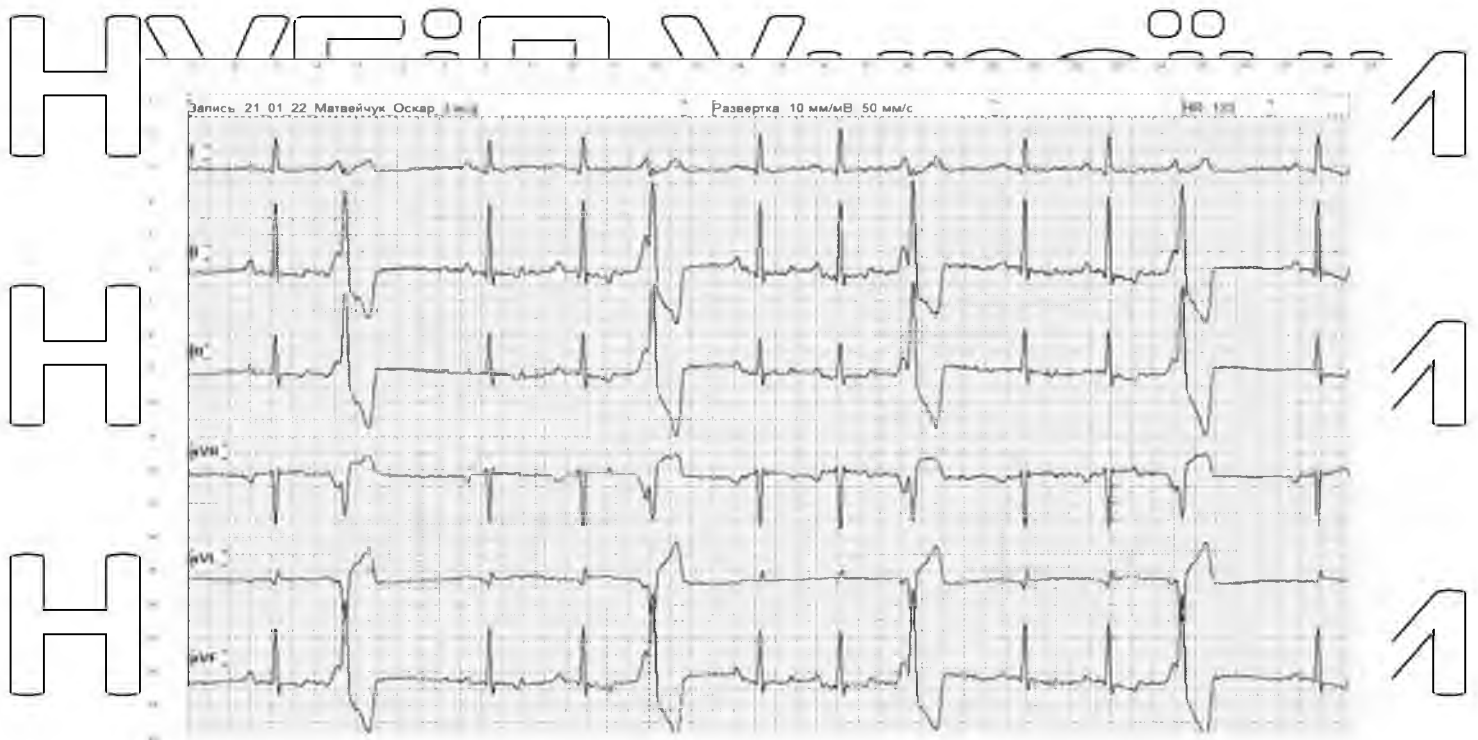


Рис. 11 Електрокардіограма собаки Оскар за дирофіляріозу

НУБІП України

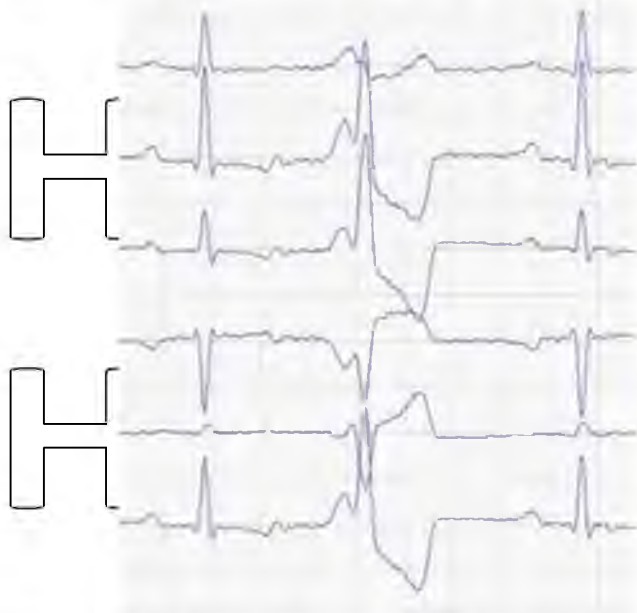


Рис. 12 Костянтин

НУБІП України

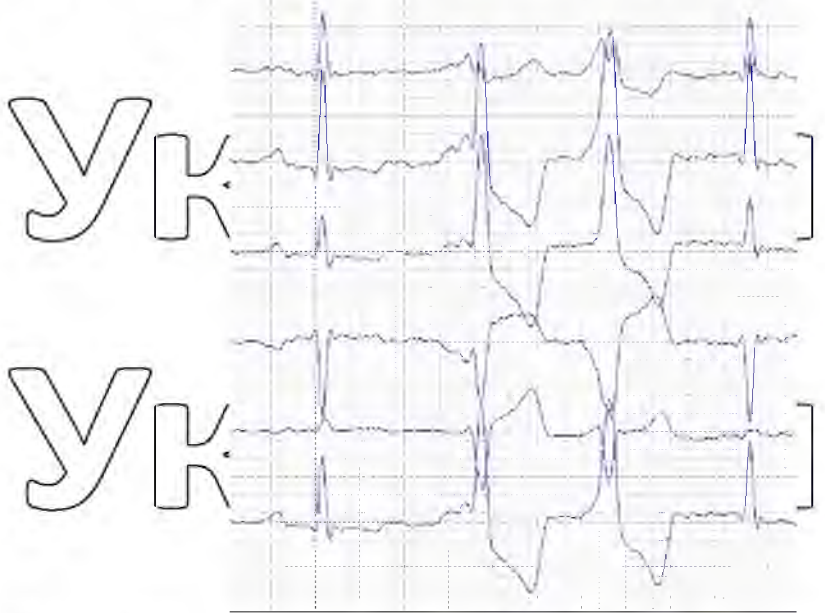


Рис. 13 Олет

України

Результати електрокардіологічного дослідження собак за дирофліarioзу

Показник	Результати		Норма	
	соб. Кара	соб. Оскар	собаки	коти
Частота серцевих скорочень	240(160-280)	120-140	Дорослі: 70- 160 Гігантські породи: 60- 140 Дрібні: 80- 180 Щенята: 140-220	Дорослі: 160- 240 Кошенята: 220- 260
Ритм	Нерегулярний, фібриляція передсердь	нерегулярний, дихальна синусова аритмія, екстрасистолія	Синусовий, дихальна синусова аритмія, Блукаючий водій ритму	синусовий
Електрична вісь серця	+80	-60	+40 до +100	0 до +160
P, с	-	0,052	<0,04(<0,05 гігантські)	<0,035
P, mV	-	0,25	<0,4	<0,2
P-Q, с	-	0,100	0,060-0,130	0,050-0,090
Q, mV	0,18	0,25		
R, mV	2,56	2,27 mV	<0,3(II, III, aVF)	<0,9
QRS, с	0,067 незначна альтернація	0,056	<0,070	<0,040
Q-T, с	0,162	0,198	0,150-240	0,070-0,200
T, mV	-0,57	-0,13, +0,12 двофазний (3 першого від'ємною)	+ 0,05-1 -0,05-1	<0,3
ST, mV	-	-	>0,2	-

Показник	Результати		Норма
	соб. Кара	соб. Оскар	
Екстрасистоли	Мономорфні, шлуночкові (з лівого шлуночка); 25 екстрасистол за 5 хвилин	Поодинокі, куплети, мономорфні шлуночкові з правого шлуночка (за типом блокади лівої ніжки пучка Гіса), епізоди тригіменії, квадригіменії, 103 екстрасистол за 6 хв.	
Примітки	-	Тремор, тахіпное	

Виявляються ознаки гіпертрофії лівого передсердя. У той же час вище зазначені зміни в роботі серця собак є супутніми за дирофіляріозу і не дають можливість точно встановити діагноз.

Методом електрокардіографії у дослідних собак встановлено порушення ритму і провідності серця, що проявлялося синусовою тахікардією у 54 %, миготливою аритмією передсердь – у 4 %, екстрасистолією – у 10 %, фібриляцією шлуночків – у 2 % та блокадою правої ніжки пучка Гіса – у 5 %.

3.3. Хірургічне видалення псевдопухлини сім'яника. За використання хірургічного втручання дослідили псевдопухлину, яка була локалізована в ділянці сім'яника пса, та видалили піхвової порожнини сім'яника гельмінта *Dirofilaria*

r
e
p

e

n

s



Рис. 14. Собака за хірургічного втручання за видалення псевдопухлини сім'яника



Рис. 15. Видалення псевдопухлини та гельмінта *Dirofilaria repens*

Дорослі особини гельмінта *Dirofilaria repens*, як правило, локалізуються підшкірно, хоча їх також можна виявити в черевній порожнині та в сполучних м'язових фасціях, де вони досягають статевої зрілості.

Отже, виявлення *Dirofilaria repens* в організмі собак, свідчить про те, що вони є резервуарами для цього виду гельмінтів і тим самим створюють небезпеку для людини.

3.4 Методика лікування собак за дирофіляріозу

Нами розроблено ефективну методику лікування за виявлення ураження мікрофіляріями, суть якої полягає у наступному:

- підготовка тварини до дегельмінтизації впродовж 7 днів з використанням спазмолітиків, судинорозширювальних засобів, розріджувачів крові;
- самої дегельмінтизації препаратом Дектомакс в умовах лікарні ветеринарної медицини з симптоматичною терапією;
- щомісячної перевірки на наявність мікрофілярій методом Кнотта і дегельмінтизацією препаратом Дектомакс (за високої інтенсивності інвазії) або Мідпразон (за низької інтенсивності).

Наша методика відрізняється від існуючої наступним: оскільки за дегельмінтизації є загроза тромбозу судин і відповідних наслідків цього (інсульт, інфаркт та інших) ми на першому етапі лікування проводимо підготовку тварини до дії антигельмінтика і наслідків, які він спричинить.

На другому етапі лікування дегельмінтизацію проводимо в умовах лікарні з супутньою симптоматичною терапією.

І на третьому етапі проводимо повторну діагностику мікрофіляремії (але не ІФА, оскільки він реагує на залишкові білки в крові собаки навіть після знищення паразитів) і робимо повторну дегельмінтизацію у декілька етапів.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

До початку 90-х років минулого століття доступним методом діагностики собак на дирофіляріоз було дослідження за методом Кнота та роздавленої краплі визначити справжню поширеність інфекції. Завдяки впровадженню нових методів дослідження стан питання децю покращився.

Нині відомо ряд методик, які традиційно використовуються у діагностичних дослідженнях собак за дирофіляріозу. Не всі методики дослідження є ефективними для встановлення діагнозу [15]. За дослідження собак на дирофіляріоз нами використані методи лабораторної діагностики, зокрема метод Кнотта, роздавленої краплі крові, Ястреба В. Б., фарбування на кислу фосфатазу та експрес-тест. За результатами досліджень найбільш точним було використання експрес-тесту, його ефективність становила 100 %. Це узгоджується з даними інших дослідників [19]. За інших методів лабораторної діагностики результати були різні. Так за методу Кнотта ефективність становила 88,8 %, роздавленої краплі – 72,2 %, Ястреба В. Б. – 68,5 %, на кислу фосфатазу – 55,5 %. Зазначені методи дозволяють виявляти мікрофілярії у крові собак та діагностувати у них дирофіляріоз. Проте, за даними іноземних авторів, ці методики не отримали широкого використання у практиці лікарів ветеринарної медицини [16]. На нашу думку, метод Кнотта є найефективнішим, оскільки експрес-тести реагують лише на статевозрілих гельмінтів *Dirofilaria immitis* та можуть давати позитивні результати після лікування собак упродовж 6 місяців через їх циркулюючий антиген у крові [38].

Додаткові методи діагностики дозволяють виявити суттєві патологічні зміни в окремих органах собак за дирофіляріозу. Морфологічне дослідження крові собак показало підвищення кількості еозинофілів, які є маркерами

НУБІП УКРАЇНИ
паразитарних хвороб і здатні знищувати токсини чужорідного походження. Біохімічні показники сироватки крові собак, зокрема, достовірно підвищення активності лужної фосфатази та гамаглутамілтрансферази засвідчили захворювання печінки, яке може бути інтеркурентним за дирофіляріозу [14, 18].

НУБІП УКРАЇНИ
За електрокардіографії відмічається зниження функціональної активності серцевого м'яза, що збігається з результатами досліджень інших авторів [5]. У літературі є дані, що найчастіше гельмінт *Dirofilaria repens* локалізується під шкірою, в матці та в черевній порожнині [8, 19]. Нами описано

НУБІП УКРАЇНИ
нестандартну локалізацію гельмінта *Dirofilaria repens* у оболонках сім'яника. За хірургічного втручання досліджено псевдопухлину, яка локалізувалася на сім'янику та вилучено статевозрілого гельмінта *Dirofilaria repens* з піхвової порожнини сім'яника. За даними літератури, сім'яники можуть бути

НУБІП УКРАЇНИ
Отримані результати досліджень свідчать, що постановка діагнозу на дирофіляріоз, лише за клінічними ознаками неможлива, оскільки вони не завжди є характерними. Проте зміни у функціонуванні серцево-судинній системі, наявність псевдопухлин, зміни у морфологічних і біохімічних показниках крові можуть свідчити про ураження собак дирофіляріями та мікродирофіляріями. Тому для встановлення остаточного діагнозу собакам слід проводити комплекс діагностичних методів досліджень на дирофіляріоз.

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

ВИСНОВКИ

У роботі наведено вирішення важливої науково-практичної проблеми, а саме проведено комплексне лабораторне дослідження крові собак на

дирофіляріоз методом дослідження на циркулюючий антиген, Кнотта,

роздавленої краплі, чутливості на кислу фосфатазу. Визначено морфологічні, біохімічні показники крові собак, проведено електрокардіографічні дослідження собак за дирофіляріозу. Описано незвичайну локалізацію *Dirofilaria repens* в

ділянці сім'яника пса. Хірургічним методом досліджено псевдопухлину, з якої

вилучено *Dirofilaria repens*.

1. Визначено ефективність застосування лабораторних методів досліджень собак за дирофіляріозу. Ефективність методу на циркулюючий антиген становила 100 %, Кнотта – 88,8 % ($p < 0,05$), роздавленої краплі – 72,2 % ($p < 0,01$), Ястреба В. Б. – 68,5 % ($p < 0,001$), фарбування на кислу фосфатазу – 55,5 % ($p < 0,001$).

У крові собак за дирофіляріозу реєстрували збільшення кількості еозинофілів %; ($p < 0,05$), що засвідчує алергічну реакцію в їх організмі, яка характерна за гельмінтозів. У сироватці крові відмічали підвищення активності лужної ($p < 0,05$), що характеризує порушення функціонування печінки.

3. Методом електрокардіографії виявлено порушення ритму і провідності серця у собак за дирофіляріозу, яке проявлялося синусовою тахікардією – 54 %, мигальною аритмією передсердь – 4 %, екстрасистоїєю

4. Описано незвичайну локалізацію *Dirofilaria repens* в ділянці сім'яника пса. За хірургічного втручання видалено псевдопухлину, яка локалізувалася в ділянці сім'яника, та вилучено з піхвової порожнини сім'яника гельмінта *Dirofilaria repens*.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

НУБІП УКРАЇНИ

1. Для обстеження собак на дирофіляріоз рекомендуємо на початку провести загальний клінічний огляд та аускультацию легень і серця. Далі відібрати кров та провести лабораторне дослідження.

2. Рекомендуємо набирати кров в ранці або в вечорі з вени передпліччя та застосовувати метод Кногга або експрес-метод, тому що ці методи показали найвищу ефективність.

3. Проводити повторний тест для дослідження дирофіляріозу не раніше ніж через 6 місяців, тому що саме цей період часу в крові собак циркулює залишковий антиген.

4. Якщо під час лабораторної діагностики виявлені мікрофілярії, рекомендуємо провести додаткові дослідження: рентгенографію, ехокардіографію та електрокардіографію для визначення патологічних змін в організмі та функціонування органів, уражених філяріями.

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Архипова, Д. Р. Архипов, И. А. 2004. Количественный метод диагностики дирофиляриоза собак. Труды Всерос. ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина., 40:18–22.

2. Архипов И.А. Дирофиляриоз / И.А. Архипов, Д.Р. Архипова / М., 2004. – 194 с.

3. Болезни собаки кошек / В. Б. Борисевич [та ін] под ред. А. Й. Мазуркевича. К., «Урожай», 1996. – С. 177-179

4. Василик Н. Діагностика дирофіляріозу собак в Україні / Наталія Василик // Здоров'я тварин і ліки. – 2004. – № 5. – С. 6–7.

5. Василик Н. С. Морфологічно-функціональні зміни та адаптаційно-компенсаторні реакції в організмі собак за дирофіляріозу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.02 «Патологія, онкологія та морфологія тварин» / Н. С. Василик. – К., 2004. – 22 с.

6. Васцько Е.В. Дирофіляріоз у Запорізькій області / Васцько Е.В. // Інфекційні хвороби. – 2006. – №3. – С. 76–79.

7. Василевич Ф. И., Пьянова А. М. Дирофиляриозы собак / Ф. И. Василевич, А. М. Пьянова // Ветеринария. – 2005. – № 2. – 2005. - С. 30- 32.

8. Веденеев С.А. Биохимические и гематологические показатели при дирофиляриозе собак / С.А. Веденеев // Ветеринарный консультант. – 2005. – № 7. – С. 5–6.

9. Влізло, В. В., Федорук, Р. С., Ратич, І. Б. та інші. 2012. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Львів «Сполом», 764 с.

10. Галат В. Ф. Глобальна паразитологія: Підручник / В. Ф. Галат, А. В. Березовський, Н. М. Сорока, М. П. Прус, В. О. Євстаф'єва, М. В. Галат; за ред. В. Ф. Галата. – К.: ДЦА, 2014. – 568 с.+24 с./іл.

11. Горохов В.В. Дирофиляриозы клотождных/ В.В. Горохов, А. С. Москвин. Ветеринария. 2000. N 8. С. 6-8.

12. Дахно І. С. [та ін] Дирофіляріоз собак у Північно-Східній частині України // 36. матер. III Міжнар. наук.-практ. конф. / 8-9 жовтня 1998 р., м. Київ. «Проблеми ветеринарного обслуговування дрібних домашніх тварин» - К., 1998.

- С. 97-99

13. Дахно І.С. Роль проміжних хазяїнів дирофілярій у розвитку епізоотичного процесу / І.С. Дахно, Г.Ф. Дахно, Г.К. Семенов // Наук.-технич. Бюлетень Ін-ту біол. тварин і ДНДКІ вет. прен. та корм. добавок. - Вип. 6, № 3.

Львів. - 2005. - С. 120-123.

14. Дахно Ю.І. Способи фарбування мікрофілярій / Ю.І. Дахно // Ветеринарна медицина України. - 2010. - № 4. - С. 46

15. Карвовський О [та ін.] Дирофіляріоз собак у Криму / О. Карвовський [та ін.] // Вет. медицина України. - 1997. - №5. - С. 26 .

16. Сонин М.Д. Основы нематодологии т. XXIV Филляриаты животных и человека и вызываемые ими заболевания. ч. 3 Филлярииды, онхоцерцины. - М.: Наука, 1975. (127)

17. Лабораторна діагностика паразитарних захворювань м'ясоїдних тварин (методичні рекомендації) / [С.В. Павленко, Л.І. Луценко, А.А. Міщенко та ін.] // Київ "Ветінформ" - 2005. - 46 с

18. Методичні рекомендації з діагностики і профілактики дирофіляріозу собак та основних методів лікування / [Мазуркевич А.Й., Василик Н.С., Вароді У.І. та ін.] // Навч. видання. - 2005. - Київ. - 26 с.

19. Поживіл А.І. Випадки захворювання собак на дирофіляріоз в Україні / А.І. Поживіл, В.Т. Міщущин, В.Ф. Галат // 36. матер. III Міжнар. наук.-практ. конф. - Київ, 1998. - С. 114-116.

20. Поживіл А.І. Дирофіляріоз у собак / [Поживіл А.І., Козачок В.С. та ін.]: Матер. I міської конф. з проблем дрібних домашніх тварин (Київ, 12-13 травня). - К., 1998. - С. 13-14.

21. Пульняшенко П.Р. Дирофиляриоз у мелких домашних животных / П.Р. Пульняшенко // Зоо-бизнес. – 2008. – № 4. – С. 38–39

22. Шуляк Б.Ф., Архипов И.А. Нематодозы собак зоонозы и зооантропонозы. -М.:Консомед, 2010.

23. Ястреб В. Б. (2004). Некоторые аспекты эпизоотологии дирофиляриоза собак в Московском регионе. Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: матер. докл. науч. конф. Москва. 5:440-442.

24. American Heartworm Society. Canine guidelines. (2020). Available at: https://d3ft8sckhmqim2.cloudfront.net/images/pdf/2020_AHS_Canine_Guidelines_Summary_11_12.pdf?1605556516

25. Ashley, B., Saunders, D. Wesselowski, S., Cusack, K. (2020). Transesophageal Echocardiography–Guided *Dirofilaria immitis* Extraction from the Right Atrium in a Dog. CASE. 4(4):299-302. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.case.2020.05.005>

26. Atsumi, E., Matsumoto, H., Taira, N., Yohena, T., Kawasaki H., Kawabata, T., Yoshimi, N. 2019. Thirteen cases of pulmonary dirofilariasis in a single institution in Okinawa Island. *Virchows Archiv*. 475: 335-340., DOI: <https://doi.org/10.1007/s00428-019-02614-9>

27. FDA. (2020). Keep the Worms Out of Your Pet's Heart! The Facts about Heartworm Disease. Available from: DOI: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/animal-health-literacy/keep-worms-out-yourpets-heart-facts-about-heartworm-disease>

28. Genchi, C., Kramer, L. (2017). Subcutaneous dirofilariasis (*Dirofilaria repens*): an infection spreading throughout the old world. *Parasit Vectors*.,10(2):517521.DOI: https://d3ft8sckhmqim2.cloudfront.net/images/pdf/AHS_Canine_Guidelines_11_13_20.pdf?1605556516

29. Jiang, S., Tsikolia, M., Benner, U., Bloomquist J. (2017) Mosquitocidal activity and mode of action of the isoxazoline-fluralaner. *Int J Environ Res Public Health.*, 14:154. [Doi: 10.3390/ijerph14020154.](https://doi.org/10.3390/ijerph14020154)

30. Knott, J. (1939). A method for making microfilarial surveys on day blood. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 33:191-196.

31. Labarthe N. Epidemiology of heartworm: what is happening in South America and Mexico / N. Labarthe, J. Guerrero // *Vet. Parasitol.* 2005. Vol. 133(2-3). – P. 149-156

32. Manfredi M.T., Cerbo A.D., Genchi M. Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. In: Genchi C. et al. (Ed). *Dirofilaria immitis and D.repens in dog and cat and human infections*, 2007

33. Mikola, N., Oborina, V., Jokelainen, P. (2020). Knowledge about emerging zoonotic vector-borne parasites *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in Finland: questionnaire survey to medical doctors and veterinarians. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 20:27-32. DOI: <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2502>

34. Napoli, E., Bono, V., Gabriella Gaglio, Salvatore Giannetto, Antonina Zanghi, Domenico Otranto, Emanuele Brianti. (2019). Unusual localization of *Dirofilaria repens* (Spirurida: Onchocercidae) infection in the testicle of a dog. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.*, 66 :101326. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.06.007>

35. Oi, M., Yoshikawa, S., Ichikawa, Y., Nakagaki K., Matsumoto, J., Nogami, S. (2014). Prevalence of *Dirofilaria immitis* among shelter dogs in Tokyo, Japan, after a decade: comparison of 1999-2001 and 2009-2011. *Parasite*.21:10., DOI: <https://doi.org/10.1051/parasite/2014008>

36. Panarese, R., Maria, R. I., Latrofa S., Zattel A., Ignjatović Čupina, A., Montarsi, F., Pombi, M., Mendoza-Roldan, J. A., Beugnet, F., Otranto, D. (2020). Hyperendemic *Dirofilaria immitis* infection in a sheltered dog population: an

expanding threat in the Mediterranean region. *International Journal for Parasitology*, 50(8):555-559. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.04.002>

37. Păstrav, I. R., Ionică, A. M., Mihalca A.D., (2018). Peripheral venous vs. capillary microfilariaemia in a dog co-infected with *Dirofilaria repens* and *D. immitis*:

A comparative approach using triatomine bugs for blood collection. *Veterinary Parasitology*, 257: 54-57.

38. Savadelis, M.D., Day, K.M., Bradner, J. L., Wolstenholme, A. J., Dzimianski, M. T., Moorhead A, .R. (2018). Efficacy and side

effects of doxycycline versus minocycline in the three dose melarsomine canine adulticidal heartworm treatment protocol. *Parasit Vectors.*, 11:671.

39. Tarello W. La dirofilariose sous-cutanee a *Dirofilaria (Nochtiella) repens* chez le chien. *Revue bibliographique et casclinique. Rev Med Vet*, 1999, 150, 691 - 702.

40. The Basics of Heartworm Disease Testing. (2020). DOI: <https://rvmdl.tamu.edu/2020/05/21/the-basics-of-heartworm-disease-testing/>

ДОДАТКИ



Додаток А. Фото лабораторії де проводились дослідження



Додаток Б. Фото автоматичного гематологічного аналізатору для біохімічного дослідження крові

НУБ

НИ

НУБ

НИ

НУБ

НИ



Додаток В. Фото гематологічного аналізатору крові для морфологічного аналізу

НУБ

НУБі

їНИ

НУБі

їНИ



Додаток Г. Фото мікроскопа на якому досліджувалась кров на наявність личинок філярій

НУБі

їНИ