Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ІГНАТЕНКО Наталія Анатоліївна**

УДК 619:/616.99:636.7:615.838:616-07

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ШКІРИ ПРИ ДЕМОДЕКОЗІ СОБАК**

16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин

**Автореферат**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата ветеринарних наук

##### КИЇВ – 2004

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному аграрному університеті Кабінету Міністрів України, м.Киів

|  |  |
| --- | --- |
| **Науковий керівник**   | доктор ветеринарних наук, професорБорисевич Борис Володимирович, Національний аграрний університет, завідувач кафедри патологічної анатомії |
| **Офіційні опоненти**   | доктор ветеринарних наук, професор Горальський Леонід Петрович,Державний агроекологічний університет, завідувач кафедри анатомії і гістології  |
|  | кандидат ветеринарних наук Папченко Іван Васильович, Білоцерківський державний аграрний університет,доцент кафедри патанатомії і ветсанекспертизи  |
| **Провідна установа** | Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, м. Харків, лабораторія морфології |

Захист дисертації відбудеться "\_\_\_"\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2004 р. о \_\_\_\_\_ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.03 у Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ- 41, вул. Героїв оборони, 15, навчальний корпус № 3, ауд. № 65

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного аграрного університету за адресою: 03041, Київ- 41, вул. Героїв оборони, 13, навч. корпус № 4, кімн. 41

Автореферат розісланий "\_\_\_"\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2004 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради М

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Демодекоз - захворювання з групи акародерматозів, що розповсюджене у всьому світі. Питання виникнення та розвитку захворювання, збудником якого є Demodex canis, різними вченими і дослідниками трактується неоднозначно. Ряд авторів (В.А. Соколовский 1951; С.В.Ларионов 1980; К.И. Абуладзе 1990; Ф.И. Василевич, 1993; М.В. Шустрова, 1994) сприймають його як виключно патогенного збудника, наявність якого в шкірі є прямою ознакою захворювання. Інші дослідники (S. Saco, 1962; K.P. Baker, 1975; C.F. Desch, W.B.Nutting ,1978; G.H. Muller, 1990; Ф.Бенэ, 1997; Е. Бензиор, Д.Н Карлоти, 2000; Г. Уркхарт, 2000; И.А. Машкей, 2002; В.В. Иринчук, 2002) розглядають його як симбіонта, який може знаходитись у шкірі клінічно здорових тварин.

Життєвий цикл кліщів повністю відбувається на шкірі. Паразити локалізуються у волосяних фолікулах, а також у сальних і апокринових потових залозах, де вони, на думку одних авторів (R.D. Schwartzmann, M. Orkin 1962), живляться вмістом епітеліальних клітин. Інші дослідники (O.E. McKim 1940; B.J. Sheahan,1970 ) вважають, що кліщі живляться вмістом сальних та потових залоз, а в дермі можна спостерігати тільки мертвих кліщів.

Клінічна картина і методи діагностики демодекозу були описані багатьма дослідниками(М.П. Гурьянова, 1953; А.А. Лисицина, 1998; В.И. Бурова, 1999; М.Ш. Акбаев, 2000; М.А. Медведева, 2000; В.К. Солнцева, 2001), проте різноманітність клінічних проявів захворювання і часто псевдонегативнірезультати зскрібків вимагають додаткової уваги до даної проблеми. Що стосується патоморфологічних змін при демодекозі, то в доступній літературі знайдено всього п'ять робіт (С.К. Кругликовский, 1898; B.J. Sheahan, 1970; О.Н. Нечаева, 1995; Ф.И. Василевич, А.А. Лисицина, 1996; И.А. Машкей, 2002), присвячених вивченню цього питання. Автори вивчали лише деякі морфологічні аспекти демодекозу собак, та й то досить поверхнево. Тому актуальними є гістологічні і гістохімічні дослідження шкіри собак, хворих на демодекоз, які дозволяють розширити уявлення щодо патогенезу захворювання, а також пошук і впровадження більш ефективних методів його діагностики.

# Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана як розділ наукової тематики кафедри патологічної анатомії Науково-дослідного інституту ветеринарної медицини, якості і безпеки сільськогосподарської продукції Національного аграрного університету в рамках завдання "Вивчити патоморфологію шкіри собак при акародерматозах", номер державної реєстрації 0102U007336.

 **Мета і задачі дослідження.** Мета роботи – вивчити поширення, патогенез, клініко-морфологічні ознаки демодекозу собак та розробити надійний метод його діагностики.

Для досягнення мети необхідно було вирішити такі задачі :

- з’ясувати поширеність демодекозу собак і фактори, що на неї впливають;

- встановити клінічні прояви цієї хвороби;

- розробити метод діагностики демодекозу собак із застосуванням інцизійної біопсії шкіри;

- з’ясувати морфологічні та гістохімічні характеристики шкіри клінічно здорових собак;

- дослідити морфологічні та гістохімічні зміни в шкірі собак при демодекозі;

- визначити морфологічні та біохімічні показники крові хворих собак;

- встановити наявність секундарної мікрофлори;

- на основі одержаних результатів висвітлити основи патогенезу демодекозу собак.

**Об’єкт дослідження***:* демодекоз собак.

**Предмет дослідження***:* морфологія і гістохімічний склад шкіри собак, хворих на демодекоз, патогенез цього акародерматозу, методи діагностики хвороби, епізоотологічні характеристики і клінічні прояви, морфологія і гістохімічний склад шкіри клінічно здорових собак.

**Методи досліджень:** гістологічні і гістохімічні (зафарбовування зрізів гематоксиліном і еозином, за ван-Гізон, методи виявлення нуклеїнових кислот, білків, полісахаридів і глікозаміногліканів), морфометричні (визначення розмірів клітин і тканинних структур та їх щільності розташування), епізоотологічні (аналіз звітності Управління ветеринарної медицини м.Києва, та ветеринарної клініки дрібних тварин Медісан-К, вивчення залежності захворюваності від пори року, віку, породи і статі), клінічні (клінічний огляд собак, термометрія, визначення частоти пульсу і дихальних рухів), гематологічні (морфологічні та біохімічні показники крові), бактеріологічні (висіви мікрофлори ураженої шкіри на тверді і рідкі живильні середовища), хірургічні (метод інцизійної біопсії шкіри), статистичні (Stats, MS Excel для обробки цифрових даних з метою визначення достовірності змін показників та коефіцієнта корелятивних взаємозв'язків).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено детальне вивчення патоморфологічних змін у шкірі собак при демодекозі із застосуванням методів гістології і гістохімії. Встановлено особливості локалізації збудника, гістохімічні та морфометричні параметри різних шарів епідермісу, дерми і придатків шкіри. На підставі їх аналізу та співставлення з морфологічними і гістохімічними показниками шкіри клінічно здорових собак встановлено нові дані щодо патогенезу цього акародерматозу. Показано, що збудник хвороби весь цикл розвитку проходить у волосяних фолікулах і залозах шкіри. Руйнування шкіри зумовлене двома механізмами: автоімунною реакцією у шкірі та механічною дією кліщів.

При проведенні епізоотологічних досліджень встановлено відсутність вираженої сезонності хвороби і залежність захворюваності собак на цей акародерматоз від породи і віку.

При проведенні клінічних досліджень виявлено, що у собак в умовах великого міста реєструється локальна і генералізована форми демодекозу.

Детально описано гістологічну будову і гістохімічний склад шкіри клінічно здорових собак. Дано кількісну характеристику клітин, що інфільтрують шкіру. Вивчено гістохімічний склад кожного з шарів шкіри.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблено новий, більш ефективний метод діагностики демодекозу собак, який включає біопсію уражених ділянок шкіри і наступне гістологічне дослідження одержаних біоптатів. Результати досліджень використані при розробці методичних рекомендацій "Методи діагностики демодекозу собак", затверджених на засіданні управління ветеринарної медицини Київської області, протокол № 146 від 18.11.2003. Одержано заявочний патент на винахід “Спосіб діагностики демодекозу собак шляхом біопсії”, №2003119882 від 4.11.2003. Наукові розробки щодо підвищення ефективності діагностики демодекозу собак використовуються в роботі клініки дрібних тварин "Медісан-К" (м. Київ).

Одержані при виконанні роботи нові дані щодо патогенезу демодекозу собак слугуватимуть теоретичною базою для розробки нових, більш ефективних заходів боротьби з цією хворобою.

Результати наукових досліджень використовуються у навчальному процесі з курсу патологічної анатомії та паразитології на 13 кафедрах 8 вищих навчальних закладів України.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно при методичній і консультативній допомозі наукового керівникапроведено аналіз наукової літератури з напряму досліджень, викладеного у дисертації. Виконано, проаналізовано та узагальнено весь обсяг клініко-експериментальних досліджень. Проведено епізоотологічні, клінічні, гематологічні, бактеріологічні, гістологічні, гістохімічні, морфометричні дослідження. Зроблено детальний аналіз, статистичну обробку та узагальнення одержаних результатів.

**Апробація** **роботи.** Основні положення дисертаційної роботи викладені і обговорені на 5–й Міжнародній науково-практичній конференції "Проблеми обслуговування дрібних домашніх тварин" (Київ 2000), на 7–й Міжнародній науково-практичній конференції "Проблеми обслуговування дрібних домашніх тварин" (Київ 2002), на науковій конференції професорсько-викладацького складу, наукових співробітників та аспірантів факультету ветеринарної медицини НАУ (Київ 2001), на 1–й і 2–й конференціях професорсько-викладацького складу і аспірантів навчально-наукового інституту ветеринарної медицини, якості і безпеки продукції АПК НАУ (Київ 2002, 2003).

**Публікації.** Основний зміст дисертації висвітлений у 6 статтях, опублікованих у фахових виданнях, рекомендованих ВАК України, у методичних рекомендаціях та в 4 тезах доповідей на наукових конференціях**.**

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 153 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 7 таблицями та 43 рисунками і складається зі вступу, огляду літератури, вибору напрямків досліджень, матеріалу та методів виконання роботи, результатів власних досліджень, їх аналізу та узагальнення, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатку. У списку використаних джерел наведено 285 джерел, у тому числі 133 – далекого зарубіжжя.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ**

**Матеріал і методики досліджень**

Робота виконана впродовж 2000-2003 рр. на базі кафедри патологічної анатомії НАУ, ветеринарної клініки для дрібних тварин “Медісан-К”, наукової лабораторії Інституту екологічної патології людини і в лабораторії диспансерного відділення туберкульозної лікарні № 1 м. Києва.

 Поширенність демодекозу собак в м. Києві вивчалася на основі аналізу звітності управління ветеринарної медицини м. Києва за 1999 – 2002 рр. і результатів власних досліджень, які були проведені на базі ветеринарної клініки для дрібних тварин "Медісан-К" протягом 2002-го року (Харківський р-н м. Києва).

Клінічне обстеження 697 собак різних порід і віку виконували загальноприйнятими методами (Х.Г. Німанд, 1998). Кров для досліджень брали з підшкірної вени передпліччя вранці до годування тварин. Як стабілізатор використовували гепарин.

Гематологічні показники 39 хворих на демодекоз і 30 контрольних клінічно здорових собак аналогічного віку і породи (вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів, ШЗЕ, лейкограму) визначали загальноприйнятими методами.

 Біохімічні дослідження крові тих же тварин проводили на біохімічному аналізаторі крові Humalyzer 2000 (Німеччина). Визначали вміст загального білка, загального білірубіну, глюкози, сечовини, креатиніну, активність α-амілази, аспартат-амінотрансферази, аланін-амінотрансферази. Підготовку проб і визначення конкретних показників проводили згідно з інструкцією до приладів та реактивів.

Глибокі зскрібки шкіри від 174 собак з дерматозами різної етіології досліджували загальноприйнятим методом.

Біоптати для гістологічного дослідження отримували від 174 собак з дерматозами різної етіології і 30 контрольних тварин за розробленою нами методикою, фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну і заливали в парафін. Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном Караці і еозином та за Ван-Гізон.

Гістохімічними методами виявляли нуклеїнові кислоти (ДНК і РНК), білки, вуглеводні сполуки, глікозаміноглікани. Виявлення нуклеїнових кислот виконували за методом Ейнарсона, Фельгена-Розенбека та за В.Г. Конарєвим (Конарев В.Г, Тютерев С.Л., 1970; Кононский А.И., 1976; .).

Сумарні білки виявляли амідочорним 10В. Виявлення загальних і кислих білків проводили за методом Мікель-Кальве. Глікоген і глікопротеїди виявляли ШЙК-реакцією за методом Шабадаша, кислі глікозамінглікани (ГАГ) – розчинами толуідинового синього при рН 1,0; 2,0; 3,0 та 4,2 та альціановим синім при рН 1,0 і 2,5 (Пирс Є., 1962; Лили Р., 1969; Шубич М.Г., Могильная Г.М., 1979; Луппа Х., 1980).

Бактеріологічні дослідження уражених ділянок шкіри проводили загальноприйнятими методами.

Отриманий матеріал оброблений статистично на персональному комп'ютері з використанням табличного процесора Microsoft Exel for Windows.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ**

**Епізоотологічний моніторінг демодекозу собак**

У результаті аналізу звітності управління ветеринарної медицини м. Києва за 1999 – 2002 рр. встановлено, що протягом 2000 і 2001 рр. спостерігалося незначне щорічне зростання кількості хворих на цей акародерматоз, але істотних змін кількість хворих демодекозом собак протягом останніх чотирьох років не зазнавала.

При вивченні сезонності захворювання собак на демодекоз у м. Києві встановлено, що тварини хворіють впродовж всього року. Найбільше хворих на акародерматоз собак реєструвалося у 1999 році – у серпні (12 собак); у 2000 році – у грудні (24 собаки); у 2001 році – у серпні (19 собак); у 2002 році – у червні (14 собак), що можна побачити на рис.1

## Рис. 1 Сезонність захворюванності собак на демодекоз

## у м. Києві за 1999-2002 рік

У результаті проведених власних досліджень на базі клініки "Медісан-К" встановлено, що серед обстежених 697 собак було виявлено 174 тварини з дерматозами різноманітної етіології, що становить близько 25 % від загальної кількості тварин. Серед них діагноз на акародерматоз поставлений 53 собакам або 30,5 %. Демодекоз виявлений у 39 випадках, що становить 73,6 % від загального числа хворих акародерматозами собак.

Проаналізовано і підтвержено залежність захворювання собак на демодекоз від їх віку. Найчастіше хворіють собаки віком від 6-ти місяців до 1,5 року (46,2 %). На другому місці по частоті захворюваності знаходяться тварини віком від 2-х до 6-ти місяців (17,9 %). Досить часто (7,7 %) демодекоз зустрічається у цуценят віком до 2-х місяців. Загалом, у віці до 1,5 року цей акародерматоз було зареєстровано у 72 % собак від загальної кількості тварин, що захворіли.

Вивчена захворюваність собак на демодекоз в залежності від їх породи. Одержані дані свідчать, що найчастіше хворіли на демодекоз спанієлі (15,4 % від загальної кількості хворих), безпородні собаки (12,8 %), боксери (12,8 %) і німецькі вівчарки (12,8 %). Рідше демодекоз реєстрували в наступних порід собак: такси (10,26 %), добермани (7,69 %), кавказькі вівчарки (7,69 %), бультер`єри (5,12 %), стафордширські тер`єри (5,12 %), бульдоги (2,56 %), пуделі (2,56 %), ротвейлери (2,56 %), ягдтер`єри (2,56 %).

Таким чином, за досліджений період часу сезонність захворювання була відсутня, що співпадає з даними інших дослідників (G.H. Muller, 1990; Ф. Бенэ, 1997; Г. Уркхарт, 2000; Е. Бензиор, Д.Н Карлоти, 2000). Демодекоз виявляється у 73,6 % собак, хворих на акародерматози. Найчастіше уражаються спанієлі, безпородні собаки, боксери і німецькі вівчарки віком від 6 місяців до 1,5 року.

**Клінічна картина хвороби**

За результатами дослідження шкіри залежно від місця локалізації та інтенсивності ураження виділяли локальну, генералізовану, вушну (отодемодекоз) і підошовну форми (пододемодекоз) демодекозу.

 Локальна форма хвороби була зареєстрована в 20 собак, що склало 51,3 % від загальної кількості хворих на демодекоз собак. При цій формі зони ураження знаходилися на морді, частіше навколо очей, на підборідді, в ділянці надбрівних дуг, комісури губ. Рідше уражені ділянки виявлялися на щоках. У таких місцях спостерігалося тільки порідіння шерсті навколо очей без видимих змін шкіри. Частіше спостерігалися випадіння шерсті (алопеції) в діаметрі від 0,5 до 5 см. У ділянці алопеції шкіра була трохи потовщена, іноді покрита дрібними сріблястими лусочками.

У ділянці підборіддя характер уражень був іншим. Спостерігали пустули і везикули: пухирці, заповнені серозним чи гнійним ексудатом. Частіше пустули зустрічалися у зоні комісури губ. У трьох випадках (7,7 %) у тварин з локальною формою демодекозу спостерігалося ускладнення бактеріальною інфекцію. У двох випадках (5,1 %) із вмісту пустул був висіяний Pseudomonas aeruginosa, в одному ― Сitrobacter intermedius.

 На передніх кінцівках у ділянці передпліччя, зап`ясних суглобів на дорсальній та каудальних поверхнях спостерігалися ділянки шкіри, позбавлені шерсті, без чітко виражених меж з багаточисельними сухими лусочками по всьому тілу (сухою себореєю). У 12 собак (30,7 %) хвороба мала генералізовану форму. У 9 собак з генералізованою формою демодекозу (23 %) алопеції помітні на морді, шиї, холці, між передніми кінцівками та на спині.

На морді спостерігалися численні пустули, заповнені гноєм або розідрані до виразок. Численні розчоси були помітні навколо очей. Шкіра на морді в багатьох тварин була майже позбавлена шерсті, покрита гнійними кірками. Тварини мали неприємний «мишачий» запах. У двох собак, крім значних уражень на морді, вся ділянка підгруддя була в розчосах через значний свербіж. Шкіра майже без шерсті, в деяких місцях потемніла. Із тріщин шкіри виділявся гнійний ексудат з неприємним запахом. Як показали бактеріологічні дослідження, у чотирьох собак (10,3 %) перебіг хвороби ускладнювався бактеріальною мікрофлорою: у двох випадках Сitrobacter intermedius, в одному випадку Staphylococcus aureus, і в одному випадку ― Proteus mirabilis. У собак алопеції локалізувалися по всій спині, на дорсальній і каудальній поверхнях передніх кінцівок і між ними в ділянці грудної клітки, шкіра на яких була з явищами ліхеніфікації і гіперпігментації. Шкіра по краю алопецій була вкрита лусочками. В однієї тварини (2,6 %) шкіра голови, особливо її лицьової частини, була вкрита численними гнійними кірками. Останні також локалізувалися по краях вушних раковин. У однієї собаки все тіло, особливо спина, було вкрито сухими сірувато-білими лусочками, що злущувалися (генералізована кетосеборея). Свербіж був слабко виражений. У шести собак (15,4 % від загальної кількості хворих тварин) захворювання протікало у вигляді пододемодекозу. Ступінь ураження при цій формі була різною. Шкіра між пальцями була червона, потовщена з численними гнійними пустулами і свищами. Місцями в потовщеній шкірі утворювалися тріщини, із яких сочився гнійний эксудат. У чотирьох собак (10,3 %) пододемодекоз ускладнювався бактеріальною мікрофлорою: у двох собак — Сitrobacter intermedius, в одному випадку Staphylococcus aureus.

У трьох собак (7,7 %) демодекоз протікав у вигляді отиту. Тварини були занепокоєні, трусили головою, розчісували вуха. Вушні раковини були гіперемовані, гарячі на дотик. З зовнішніх слухових ходів виділявся серозно ― геморагічний эксудат. Крім кліщів демодекса, виявлених методом зіскрібу, в усіх трьох випадках бактеріологічними методами була виявлена секундарна інфекція: у першому ― Сitrobacter intermedius, у другому ― Proteus mirabilis, у третьому ― Pseudomonas aeruginosareus.

При біохімічних дослідженнях сироватки крові встановлено, що в собак з локалізованою формою демодекозу активність АлАТ і АсАТ не виходили за фізіологічні межі, а в тварин з генералізованою формою їх активність (62,6 + 18,3 і 62,4 + 16,8 од/л відповідно) статистично вірогідно відрізнявся від аналогічних показників (38,6 + 9, 7 і 38,4 + 10,1 од/л відповідно) у клінічно здорових собак.

У собак з генералізованою формою демодекозу також було встановлено підвищення активності α-амілази (2846,75 ± 823,43 од\л) у порівнянні з 1285,2 ± 244,6 од/л у контрольних тварин.

Таким чином, у 51,3 % хворих собак нами виявлено локалізовану форму демодекозу, в 30,7 % – генералізовану форму, в 10,3 % – пододемодекоз і у 7,7 % – отодемодекоз. Клінічні прояви цих форм хвороби співпадали з описаними іншими авторами (G.H. Muller, 1990). У 33,3 % випадків демодекоз ускладнюється секундарною мікрофлорою, з якої найчастіше (у 15,4 % випадків) виявляється Сitrobacter intermedius. Біохімічні дослідження свідчать, що в собак з генералізованою формою хвороби в сироватці крові збільшується вміст АлАТ, АсАТ і α-амілази.

#### Дослідження глибоких зскрібків шкіри

**хворих на демодекоз собак**

При дослідженні глибоких зскрібків шкіри хворих тварин було знайдено кліщів Demodex canis на різних стадіях свого розвитку.

 Яйця Demodex canis були веретеноподібної або не чітко вираженої ромбовидної форми. Їх розміри були: довжина ― 0,08 ± 0,01 мм, ширина ― 0,02 ± 0,001 мм. У них знаходили добре виражену товсту прозору оболонку, яка складалася з двох шарів. В середині деяких яєць була чітко виражена зернистість. Колір яєць був від світло-сірого до жовтого.

 Личинки в зскрібках мали веретеноподібну форму, довжину 0,094 ± 0,001 мм і ширину біля 0,027 ± 0,001мм. На тілі личинки був помітний комплекс ротових частин, або гнатосома, головогруди та черевце, які були з`єднані в єдине ціле ― ідіосому.

 Протонімфа за загальною довжиною, за формою й структурою тіла була подібна до телеонімфи. Довжина її складала 0,13 ± 0,01 мм, ширина 0,029 ± 0,001 мм. У протонімфи були добре виражені три пари кінцівок. Поперекова покресленність задньої частини була відсутня.

 У телеонімфи розрізняли чотири пари кінцівок. За зовнішнім виглядом вона нагадувала дорослу особину.

 Форма тіла дорослих кліщів була хробакоподібна. Колір світло-сірий, кутикула поперечно покреслена. Добре помітні нерозділені головогруди. Дорослі особини мали розміри: довжина ― 0,25 ± 0,01 мм, ширина ― 0,04 ± 0,01 мм., опістосома займала трохи більше половини вказаної довжини. Чотири пари кінцівок були рівномірно розподілені вздовж подосоми. Опістосома була покреслена поперечними борознами, клиноподібна і закінчувалася тупим кінцем.

Таким чином, в глибоких зскрібках шкіри нами були виявлені різні стадії розвитку кліща demodex canis, морфологія яких співпадала з раніше описаною (Соколовский В.А., 1951; Desch C.E. and Nutting. W.B., 1970; Baker, K.P., 1971), що дозволило чітко поставити діагноз на демодекоз.

##### Розробка методу діагностики демодекозу собак

**із застосуванням інцизійної біопсії шкіри**

При дослідженні зскрібків, одержаних від тварин, у яких за анамнезом, клінічними ознаками і результатами лабораторних досліджень можна було припустити наявність демодекозу, позитивний результат (виявлення у зскрібках кліщів) одержували не завжди. На основі дворічного досвіду діагностики цієї хвороби і аналізу даних літератури нами було встановлено, що в собак з товстим епідермісом (бульдоги, шар-пеї, мопси та деякі інші породи), а також якщо тварину вже деякий час лікували, знайти збудника демодекозу, навіть у найглибшому зскребку шкіри, було дуже важко, а іноді і неможливо. Враховуючи власний досвід, а також дані літератури, була поставлена мета розробити спосіб діагностики цієї хвороби. З цією метою використанобіопсію шкіри з наступним дослідженням біоптатів.

З`ясовано, що для одержання біоптатів досить провести місцеве знеболення при надійній фіксації тварини на операційному столі для дрібних тварин. Для анестезії застосовували 2 % розчин лідокаїну в кількості 3-5 мл, або 2 % розчин новокаїну в тій же дозі. Після цього гострокінцевим скальпелем вирізали шматочок шкіри прямокутної форми розміром 0,8 х 1,2 см на глибину до гіподерми (інцизійна біопсія). На шкіру накладали 2-3 вузлуватих шви, використовуючи поліамід № 3/0 і голку 20 мм. Рана загоювалась за первинним натягом без ускладнень на 7-8 добу. Відібрані шматочки шкіри фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну. Після фіксації препарат для видалення надлишку фіксатора промивали водопровідною водою, зневоджували в спиртах зростаючої міцності (600, 700, 800, 900 та 1000) і заливали в парафін. З одержаних блоків виготовляли гістологічні зрізи товщиною 9 ± 1 мкм і фарбували гематоксиліном та еозином загальноприйнятими методами.

Досвід застосування цього методу діагностики демодекозу показав, що для біопсії потрібно обирати ділянки уражень, де вірогідність виявлення збудника найбільша. Якщо хвороба розпочалася недавно, необхідно обирати ділянки шкіри з найбільш свіжими ураженнями. При хронічному перебігу дерматозу біоптат потрібно брати з повністю сформованих ділянок ураження.

Після розробки і апробації методу біопсії шкіри в собак нами було проведено порівняння ефективності діагностики демодекозу традиційним методом і при проведенні біопсії з наступним гістологічним дослідженням. При цьому було встановлено, що метод глибокого зскрібку давав можливість виявити кліщів у 31 собаки. У 8 собак збудник захворювання був виявлений методом біопсії з наступним гістологічним дослідженням при негативних результатах дослідження глибокого зскрібку шкіри. Таким чином, розроблений метод діагностики демодекозу собак виявися більш ефективним, ніж загальноприйняте дослідження глибоких зскрібків.

##### Морфологічні особливості шкіри клінічно здорових собак

**Визначення товщини шкіри в клінічно здорових собак**

Морфометричними дослідженням встановлено, що товщина шкіри в різних ділянках тіла однієї собаки і в одних і тих самих ділянках тіла собак різних порід була неоднаковою. При визначенні товщини шкіри встановлено, що вона найтовстіша в кавказької вівчарки, а найтонша – в такси (таблиця 1). У кавказької вівчарки, бультер'єра, стаффордширського тер'єра, боксера, спанієля і добермана-пінчера найтовстіша шкіра в ділянці холки. У кавказької вівчарки, бультер'єра, стаффордширського тер'єра, боксера і спанієля товщина шкіри зменшується у напрямку холка – крижі – спина. У німецької вівчарки, такси і безпорідних собак найбільш товста шкіра зареєстрована в ділянці крижів. У такси і безпорідних собак товщина шкіри зменшується у напрямку крижі – спина – холка, а в німецької вівчарки – крижі – холка – спина. У пуделя найбільш товста шкіра спостерігається в ділянці спини, а товщина її зменшується у напрямку спина – крижі – холка.

У боксера, спанієля і добермана-пінчера більш товста шкіра в ділянці грудної клітки. У боксера і спанієля товщина шкіри зменшується у напрямку грудна клітка – латеральна частина черевної стінки – вентральна частина черевної стінки, а в добермана-пінчера – грудна клітка – вентральна частина черевної стінки – латеральна частина черевної стінки.

У кавказької вівчарки товщина шкіри зменшується у напрямку вентральна частина черевної стінки – латеральна частина черевної стінки – грудна клітка, а в стаффордширського тер'єра – вентральна частина черевної стінки – грудна клітка –латеральна частина черевної стінки.

**Таблиця 1**

##### Товщина шкіри клінічно здорових дорослих собак

**різних порід, мм (M ± m, n = 30)**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Порода | Холка | Крижі | Спина | Латеральна части-на черев-ної стін-ки | Грудна клітка | Вентраль-на частина черевної стінки |
| Кавказька вівчарка | 5,6**±**0,4 | 5,5**±**0,5 | 3,0**±**0,3 | 2,5**±**0,3 | 2,2**±**0,4 | 2,7**±**0,2 |
| Бультер'єр | 3,5**±**0,3 | 3,4**±**0,4 | 3,2**±**0,3 | 3,2**±**0,2 | 1,8**±**0,1 | 1,8**±**0,2 |
| Стаффордшир-ський тер'єр | 3,3**±**0,3 | 3,3**±**0,3 | 3,0**±**0,4 | 1,5**±**0,2 | 1,5**±**0,2 | 2,0**±**0,4 |
| Боксер | 3,2**±**0,4 | 2,2**±**0,3 | 2,1**±**0,2 | 1,1**±**0,2 | 1,7**±**0,1 | 1,0**±**0,1 |
| Німецька вівчарка | 3,1**±**0,3 | 3,1**±**0,3 | 2,6**±**0,3 | 2,1**±**0,3 | 1,9**±**0,5 | 1,0**±**0,3 |
| Спанієль | 3,1**±**0,3 | 2,7**±**0,4 | 2,2**±**0,3 | 1,7**±**0,2 | 1,9**±**0,3 | 1,1**±**0,1 |
| Пудель | 3,0**±**0,5 | 3,2**±**0,4 | 3,3**±**0,4 | 2,3**±**0,3 | 1,1**±**0,2 | 1,4**±**0,2 |
| Доберман-пінчер | 2,7**±**0,4 | 2,2**±**0,5 | 2,5**±**0,3 | 1,0**±**0,1 | 1,5**±**0,2 | 1,1**±**0,1 |
| Безпорідні собаки | 2,5**±**0,3 | 3,1**±**0,5 | 3,0**±**0,4 | 1,5**±**0,3 | 1,0**±**0,1 | 1,0**±**0,2 |
| Такса | 1,7**±**0,4 | 1,9**±**0,5 | 1,9**±**0,4 | 1,5**±**0,3 | 1,2**±**0,2 | 1,0**±**0,1 |

Гістологічна будова і гістохімічний склад

**шкіри клінічно здорових собак**

При гістологічних і гістохімічних дослідженнях біоптатів, одержаних з різних ділянок тіла клінічно здорових собак, встановлено, що шкіра цього виду тварин загалом має типову будову. Вона складається з дерми та епідермісу, між клітинними і тканинними елементами яких знаходяться залози шкіри і шерсть. Епідерміс складається з базального, шипуватого і рогового шарів, зернистий і блискучий шари в шкірі собак відсутні.

Базальний шар представлений одним або двома рядами призматичних базальних епідермоцитів висотою 10,5 **±**1,5 мкм і шириною 5,25 **±**0,75 мкм. Розміри ядер цих клітин є такими: довжина – 8,0 **±** 1,0 мкм; ширина – 3,5 **±** 0,5 мкм. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення: 1 : 0,40 – 1 : 0,65. Кожне ядро містить 1-2 ядерця. У деяких клітинах виявляються ознаки мітозу. Кількість таких клітин становить 4,5 **±** 2,2 %. У ділянках з тонкою шкірою реєстрували один шар базальних епідермоцитів, у той час, як у ділянках з товстою шкірою – 1 – 2 шари таких клітин.

При проведенні гістохімічних досліджень встановлено, що базальні епідермоцити досить інтенсивно зафарбовуються амідочорним 10 В, за Мікель-Кальве в синій колір, інтенсивно фарбуються при проведенні реакцій на ДНК і РНК, дають реакцію середньої інтенсивності з альціановим синім при рН 1,0 та 2,5, не сильно виражену гамма-метахромазію з толуїдиновим синім і блідо фарбуються при проведенні ШЙК-реакції. Міжклітинна речовина цього шару епідермісу містить менше білків, за Мікель-Кальве фарбується у синій колір, блідо фарбуються при проведенні ШЙК-реакції і альціановим синім за різної величини рН, нуклеїнові кислоти не містить.

Шипуватий шар представлений одним або двома рядами шипуватих епідермоцитів, що залежало від товщини шкіри. Це багатокутні клітини, форма яких близька до округлої чи овальної. У випадках, коли загальний контур шипуватих епітеліоцитів був овальним, довжина їх довгої вісі складала 15,5 **±** 0,4 мкм, а короткої – 10,55 **±** 0,35. Ядра мали розміри по довгій вісі – 7,7 + 0,4 мкм, по короткій – 5,85 **±** 0,25 мкм. Клітини округлої форми мали діаметр 13,6 **±** 0,3 мкм, а їх округлі ядра – 6,3 **±** 0,35 мкм. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення шипуватих епідермоцитів складало 1 : 0,8 – 1 : 1. В цитоплазмі шипуватих епідермоцитів, які розташовувалися у верхніх шарах, виявлялися великі прозорі вакуолі.

При гістохімічному дослідженні встановлено, що клітини шипуватого шару, в порівнянні з клітинами базального шару, менш інтенсивно зафарбовувалися на білки і нуклеїнові кислоти, більш інтенсивно – альціановим синім і толуїдиновим синім, інтенсивність ШЙК-реакції не змінювалась. Зернистий і блискучий шари епідермісу в шкірі собак не виявлялися.

Роговий шар виражено оксифільний – еозином зафарбовується у яскраво-червоний колір, гомогенний.

Дослідженнями шкіри здорових собак доведено, що дерма шкіри собак складалась з двох шарів - сосочкового і сітчастого. Класичні сосочки дерми і гребінці епідерміса в шкірі собак відсутні. Сітчастий шар дерми був інфільтрований різними клітинами гематогенного походження.

В сітчастому шарі локалізувались волосся, потові і сальні залози шкіри.

Гістологічна будова шкіри собак відповідає описаній іншими авторами (Гаевой Е.В. Хлудеев К.Д., 1957; Briggman R.A., 1975; Соколов В.Е., 1988). Результати морфометричних і гістохімічних досліджень різних ділянок шкіри цих тварин у доступній літературі відсутні.

**Гістологічні і гістохімічні зміни в шкірі собак при демодекозі**

**Локалізація Demodex canis та особливості його будови і гістохімічного складу**

Кліщі на різних стадіях свого розвитку локалізуються у волосяних фолікулах по всій їх довжині. Кількість демодексів у різних фолікулах була різною – від 7 – 12 до декількох десятків. У першому випадку паразити знаходилися у верхній третині волосяного фолікула. При значній кількості кліщів вони досить щільно заповнювали весь волосяний фолікул аж до дна волосяної цибулини. При цьому в ділянці дна цибулин знаходили лише окремих дорослих кліщів. Головним чином тут виявляли яйця і личинки різних стадій розвитку.

 Волосяні фолікули, що містили велику кількість кліщів, були помітно розширені.

Іноді кліщів знаходили в сальних залозах та в їх вивідних протоках, рідше - в розширених потових залозах. Це спостерігалося у тих випадках, коли волосяні фолікули були досить щільно заповнені паразитами. В тих же випадках, коли демодекси на різних стадіях свого розвитку розташовувалися у волосяних фолікулах не дуже щільно, в сальних і потових залозах та в їх вивідних протоках паразитів не виявляли. При локалізації кліщів у потових залозах їх секреторний епітелій був зруйнований, або ж його клітини знаходилися у стані зернистої дистрофії і некрозу. В сальних залозах виявляли некроз або повне руйнування клітин.

Ступінь ураження залоз шкіри залежав від кількості паразитів, що в них знаходилися. Якщо кліщі повністю заповнювали залози, то клітини в них були відсутні. При невеликій кількості паразитів клітини потових і сальних залоз шкіри знаходилися у стані зернистої дистрофії і некрозу. Лізис клітин спостерігався біля переднього кінця тіла кліща в радіусі 19 + 5 мкм від нього.

Базальна мембрана волосяних фолікулів та сальних і потових залоз, у яких знаходилися кліщі, в жодному з випадків не руйнувалася. У дермі поза межами залоз і волосяних фолікулів паразити не були виявлені ні в одному з гістологічних зрізів.

Дорослі особини в усіх гістологічних зрізах були зігнуті в передній, середній або задній частині тіла. Їх морфологію найкраще було видно в тих випадках, коли кліщі лежали в просвіті волосяних фолікулів більш-менш рівно і

при виготовленні гістологічного зрізу перерізалися у середній частині тіла.

Ширина дорослих особин складала 33,0±3,0 мкм. Окремі гістологічні структури в тілі кліща чітко не виявлялися. Передня частина тіла нерівномірно зафарбовувалася гематоксиліном і еозином. В одних випадках вона була дифузно нерівномірно базофільною, у інших – дифузно нерівномірно оксифільною, у третіх – при відсутності чіткої клітинної будови на нерівномірно зафарбованому еозином фоні виявлялися базофільні гранули круглої форми діаметром 9,5±1,5 мкм. Іноді тут виявлялися 1-2 витягнуті базофільні утворення, що мали два довгих відростки, які направлялися краніально і каудально, та декілька коротких відростків у різних напрямках. Розміри тіла таких утворень складали 16,5 ±1,5 мкм по довгій осі та 8,25 ±0,75 мкм по короткій осі. Середня і задня частини тіла були заповнені еозинофільними глибами. Кутикула кліща зафарбовувалася у чорний колір.

При постановці гістохімічних реакцій на білки тіло дорослих кліщів зафарбовувалося дифузно, більш-менш рівномірно. Окремі структури віддиференціювати було важко, хоча в середній частині тіла виявлялися інтенсивніше зафарбовані утворення, що нагадували перерізаний посередині конус та фібрилярний матеріал.

При виявленні білків за методом Мікель-Кальве білки тіла дорослих особин демодекса фарбувалися у синій колір.

ДНК в тілі дорослих паразитів виявлялася у вигляді нерівномірно розподілених окремих гранул і їх скупчень різних розмірів, РНК – у вигляді нерівномірно розподілених скупчень з різною інтенсивністю забарвлення. Тіло дорослих кліщів помірно інтенсивно нерівномірно зафарбовувалось альціановим синім при рН 1,0 та 2,5, при постановці ШЙК-реакції, реакція метахромазії з толуїдиновим синім не спостерігалася.

Яйця демодексу в гістологічних зрізах мали ту ж форму, що і в зскрібках шкіри. Розміри їх складали: по довгій осі – 31 ± 2 мкм, по короткій – 15 ± 1 мкм. При фарбуванні гематоксиліном і еозином вони досить рівномірно зафарбовувалися у синій колір, а при фарбуванні за Ван-Гізон – у чорний колір. При постановці гістохімічних реакцій у них виявляли дифузно розподілені ДНК і РНК. Яйця кліща не фарбувалися альціановим синім при рН 1,0 та 2,5, помірно фарбувалися при постановці ШЙК-реакції, реакція метахромазії з толуїдиновим синім не спостерігалася.

Тонка будова личинки при гістологічних дослідженнях не виявлялася. Вона мала веретеноподібну форму і розміри: 52 + 4 мкм по довгій осі та 26 ± 2 мкм – по короткій. При фарбуванні гематоксиліном і еозином вона трохи нерівномірно і досить інтенсивно фарбувалася у синій колір, за Ван-Гізон – у чорний колір. Личинка не зафарбовувалася альціановим синім при рН 1,0, помірно фарбувалася альціановим синім при рН 2,5 та при постановці ШЙК-реакції, реакція метахромазії з толуїдиновим синім не спостерігалася.

Тонка будова протонімфи, як і личинки, при гістологічних дослідженнях не виявлялася. Вона мала витягнуту веретеноподібну форму і розміри: 86 + 4 мкм по довгій вісі та 35 ±3 мкм – по короткій. При фарбуванні гематоксиліном і еозином вона нерівномірно фарбувалася у синій колір: інтенсивно і трохи нерівномірно передня частина та слабо нерівномірно – задня частина. За ван-Гізон протонімфа фарбувалася у чорний колір. Розподіл зафарбовування був таким же, як і при фарбуванні гематоксиліном і еозином. Гістохімічними методами в передній частині протонімфи виявляли значну кількість ДНК і РНК, помірну кількість білків і ШЙК-позитивних речовин. У задній її частині знаходили помітно меншу кількість нерівномірно розподілених ДНК, РНК, білків і ШЙК-позитивних речовин. Ця частина давала слабку реакцію з альціановим синім при рН 2,5. Метахромазія з толуїдиновим синім у протонімфи не спостерігалася.

Віддиференціювати телеонімфи від дорослих осіб у гістологічних зрізах не вдалося.

Отже, кліщі на всіх стадіях свого розвитку локалізуються у волосяних фолікулах і сальних та апокринових потових залозах, що співпадає з даними деяких авторів (R.D. Schwartzmann, M. Orkin 1962, B.J. Sheahan, 1970). Приведені гістологічні і гістохімічні характеристики збудника на різних стадіях свого розвитку в доступній літературі відсутні.

##### Гістологічна будова і гістохімічний склад шкіри

**хворих на демодекоз собак**

При гістологічних і гістохімічних дослідженнях біоптатів шкіри, одержаних від хворих на демодекоз собак, встановлено, що зміни шкіри були добре виражені в усіх її шарах, незалежно від наявності паразитів.

Біля поверхні шкіри знаходиться шар рогової речовини, яка контактує з верхніми шарами епідермісу лише місцями. Його товщина коливається у межах 21 – 186 мкм, але в більшості випадків складала 63 + 28 мкм.

Епідерміс в уражених ділянках шкіри мав не однакову товщину. Місцями вона помітно збільшувалася і сягала 420 - 450 мкм. Це відбувалося за рахунок збільшення кількості клітин у кожному з шарів епідермісу. Внаслідок потовщення епідермісу в багатьох ділянках утворювалися його характерні гребінці. Також відзначався виражений набряк епідермісу.

При проведенні гістохімічних досліджень виявлено, що в епідермоцитах всіх шарів зменшувалася кількість ДНК і РНК та білків.

Базальні епідермоцити свої розміри не змінювали, проте набували не характерної форми. В місцях, де епідерміс потовщувався, вони ставали високо призматичними і формували 2-6 клітинних шари. В ділянках, де товщина епідермісу помітно не збільшувалася, ці клітини часто набували кубічної форми, а над ділянками вираженого набряку дерми іноді ставали пласкими.

Місцями спостерігається дискомплексація базальних епідермоцитів.

У шипуватому шарі в ділянках вираженого потовщення епідермісу спостерігалося до 13-15-ти шарів клітин. У частині шипуватих епідермоцитів реєструвалися фігури мітозу.

У роговому шарі епідерміса видимі зміни зареєстровані не були.

У ділянках ураження шкіри спостерігалося руйнування епідермісу і глибше розташованих шарів шкіри. Воно реєструвалося не тільки в ділянці волосяних фолікулів, де локалізувалися кліщі, але і між ними, та в тих ділянках, де паразити були відсутні. В останніх випадках спочатку відзначали значну інфільтрацію епідермісу лімфоцитами, аж до його рогового шару. Лімфоцити у великій кількості оточували епідермоцити. Значна кількість останніх руйнувалася, у результаті чого епідерміс ставав розрихленим і ще більш інфільтрованим лімфоцитами. В результаті він повністю втрачав свою гістологічну будову, а на його місці лишалася міжклітинна речовина з залишками епідермоцитів, яка була просочена набряковою рідиною і інфільтрована великою кількістю лімфоцитів, щільність розташування яких складала 1159 ±6401 клітини на 1 мм2 площі гістологічного зрізу. Разом з тим на межі епідермісу з дермою з’являлася велика кількість сегментоядерних нейтрофілів і менша кількість моноцитів.

У місцях локалізації нейтрофілів і моноцитів спостерігалося повне руйнування базальних епідермоцитів і міжклітинної речовини з наступним відокремленням від шкіри напівзруйнованих фрагментів епідермісу. В результаті такого руйнування шкіри утворювалися ділянки різних розмірів, на яких дерма безпосередньо контактувала із зовнішнім середовищем.

Проте, в багатьох ділянках шкіри механізм руйнування епідермісу був іншим. Клітинна інфільтрація його була відсутньою, а після тотального набряку клітин всіх шарів спостерігали коагуляційний некроз уражених ділянок з каріорексисом. Некротичні зміни також поширювалися і на прилеглий до епідермісу сосочковий шар дерми, а іноді – і на верхню частину її сітчастого шару. На їх місці лишалася дифузно зафарбована гематоксиліном, рихла зерниста маса, серед якої виявлялися окремі залишки і фрагменти ядер.

У дермі гістологічні зміни були різними в різних її шарах, пов’язаними з окремими морфологічними утвореннями шкіри і залежали від того, чи був пошкоджений вкриваючий її епідерміс. Проте скрізь виявляли велику кількість меланоцитів.

У ділянках шкіри, де реєструвався некроз епідермісу, некротичних змін зазнавали і нижче розташовані шари дерми – сосочковий, а у важких випадках – і верхня частина сітчастого шару. В подальшому некротизовані ділянки відторгалися від шкіри.

В інших ділянках уражень, де верхні шари некротизованих тканин не відокремлювалися, під ними знаходили цілісні, хоча і змінені сосочковий і сітчастий шари дерми.

У сосочковому шарі дерми в одних випадках спостерігався виражений субепідермальний набряк. Відносно тонкі колагенові волокна цього шару частково розчинялися, у результаті чого під епідермісом і в товщі сосочкового шару дерми утворювалися мікропорожнини, заповнені набряковою рідиною із залишками клітин і окремими невеликими фрагментами колагенових волокон.

В інших випадках сосочковий шар дерми не був набряклий. Тут знаходили потовщені гомогенні пучки колагенових волокон.

Сосочковий шар дерми був нерівномірно інфільтрований клітинними елементами: в місцях інтенсивної інфільтрації виявляли велику кількість сегментоядерних нейтрофілів (69,65 ± 2,15 % від загальної кількості клітин інфільтрату), макрофагів і моноцитів (9 ± 4,9 %), лімфоцитів (14,85 ±1,55 %) і тучних клітин (6,7 ± 1 %). Особливо великої щільності клітинні інфільтрати в дермі досягали біля волосяних фолікулів, заповнених кліщами.

Місцями в сітчастому шарі дерми, як правило в його середній частині, формувалися утворення, що нагадували лімфоїдні вузлики.

У сітчастому шарі дерми при фарбуванні гематоксиліном і еозином виявляли набряк і вогнищеве розчинення колагенових волокон.

У верхній 1/4-1/3 частині волосяних фолікулів спостерігалося посилене утворення рогової речовини. Сполучнотканинна волосяна сумка в багатьох ділянках нерівномірно набрякала і розрихлювалася. Клітини волосяної цибулини і волосяного сосочка в багатьох випадках ставали базофільними або знаходилися у стані зернистої дистрофії. В більшості з них виявлявся меланін. Спостерігалася гіперсекреція потових залоз. Сальні залози дещо збільшувались у розмірах, ставали більш витягнутими в довжину.

У сітчастому шарі частини біоптатів з уражених місць кліщі у волосяних фолікулах, потових і сальних залозах були відсутні. В таких випадках зміни в епідермісі та сосочковому шарі дерми були такими ж, як і в ділянках, де виявлялися паразити.

У волосяних фолікулах лишалися тільки зовнішня коренева піхва, яка часто була набряклою, а її клітини знаходилися у стані зернистої і гідропічної дистрофії. В середині ця піхва містила аморфно-волокнисті некротичні маси, які дифузно зафарбовувалися еозином.

У частини потових залоз епітеліальні клітини зберігали кубічну форму і ознаки макроапокринової секреції, проте частина з них втрачали зв’язок із сусідніми клітинами і базальною мембраною. У таких клітинах реєстрували руйнування цитоплазми і каріопікноз, деякі з них відділялися у просвіт потової залози. Такі зміни реєструвалися у потових залозах, що не містили кліщів у волосяних фолікулах, заповнених паразитами.

Отже, встановлені гістологічні та гістохімічні зміни в шкірі собак, хворих на демодекоз, а також участь імунокомпетентних клітин у руйнуванні епідерміса і дерми висвітлюють нові аспекти патогенезу цієї хвороби.

##### ВИСНОВКИ

 1. У дисертації наведено результати вивчення патоморфологічних змін у шкірі собак, хворих на демодекоз, а також клінічних ознак хвороби і деяких її епізоотологічних аспектів. Встановлено відсутність сезонності демодекозу собак, характер клінічного прояву різних форм хвороби. Вперше проведено детальне вивчення гістологічних і гістохімічних змін у шкірі хворих тварин, в результаті чого встановлено імунологічний характер запальної реакції, що виникає у відповідь на дію збудника. Розроблено новий, більш ефективний спосіб діагностики демодекозу собак.

 2. При дослідженнях глибокого зскрібку шкіри збудник демодекоза виявляється у 79,5 % випадків, у той час як при застосуванні розробленого нами методу біопсії шкіри з наступним гістологічним дослідженням одержаних біоптатів – у 100 % випадків.

3. Основним місцем локалізації кліщів демодекса на всіх стадіях свого розвитку є волосяні фолікули, сальні і апокринові потові залози. В дермі поза їх межами вони не виявляються.

4. Після повного руйнування і лізису клітинних елементів волосяних фолікулів, сальних і апокринових потових залоз кліщі залишають їх.

5. Патологічні зміни в шкірі при демодекозі зумовлені не тільки механічною дією кліщів, але і біологічно активними речовинами, які вони виділяють.

6. При демодекозі в епідермісі і дермі значно зростає кількість меланоцитів та змінюється хімічний склад меланіну.

7. У сосочковому і сітчастому шарах дерми виявляються вогнищеві клітинні інфільтрати, які складаються з нейтрофілів, макрофагів, моноцитів, лімфоцитів і тучних клітин.

8. Руйнування епідермісу і дерми при демодекозі зумовлене двома механізмами: 1) набряком і подальшим некрозом клітинних і тканинних елементів з наступним відторгненням некротизованих тканин; 2) цитотоксичною і колагенолітичною дією лімфоцитів, нейтрофілів, моноцитів та макрофагів.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Розроблений нами метод діагностики демодекозу собак із застосуванням біопсії шкіри рекомендується використовувати при діагностиці цієї хвороби в практичній діяльності клінік ветеринарної медицини.

2. Результати досліджень пропонується використовувати при викладанні відповідних розділів і написанні підручників та навчальних посібників з дисциплін "Патологічна анатомія і судова ветеринарія" та "Паразитологія".

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ

1. Борисевич В.Б., Медведев К.С., Борисевич Б.В., Ігнатенко Н.А. Коротка характеристика найбільш поширених хвороб шкіри у собак // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету: Збірник наукових праць. ― Біла Церква, 2000. ―Вип. 11. ―C. 3-8 (дисертант проаналізувала літературні дані, провела аналіз частоти захворюваності дерматозами різної етіології в м. Києві).

2. Борисевич В.Б., Медведев К.С., Борисевич Б.В., Ігнатенко Н.А. Алергодерматози у собак // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету: Збірник наукових праць. ― Біла Церква, 2000. ―Вип. 13.― С. 27-32 (дисертант дослідила механізми виявлення алергодерматозів у собак, у тому числі, паразитарних).

3. Ігнатенко Н.А. Демодекоз собак - клінічна картина та діагностика захворювання // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини імені С.Г. Гжицького.―Львів, 2002. ― Том 4. Частина І. ― С. 56-58.

4. Ігнатенко Н.А. Опыт лечения демодекоза у собак // Наукові праці Полтавської державної аграрної академії. ― Том 2 (21). Ветеринарні науки. Полтава, 2002. ― С. 232-235.

5. Ігнатенко Н.А. Епізоотологічні особливості демодекозу собак у місті Києві // Аграрний вісник Причорномор`я: Збірник наукових праць.― Ветеринарні науки.― Одеса, 2003.― Випуск 21. ― С. 322-325.

6. Борисевич Б.В., Ігнатенко Н.А. Клінічні ознаки і зміни в шкірі собак при демодекозі // Міжвідомчий тематичний науковий збірник "Актуальні проблеми ветеринарної медицини в умовах сучасного ведення тваринництва". Ветеринарія. ― Харків, 2003. ― Випуск 82. ― С. 105-107 ( дисертант провела гістологічні та гістохімічні дослідження шкіри хворих на демодекоз собак, аналіз залежності проявів хвороби від важкості патологічного процесу).

7. Ігнатенко Н.А. Використання біопсії для діагностики акародерматозів // Збірник матеріалів 5 Міжнародної науково-практичної конференції "Проблеми обслуговування дрібних домашніх тварин" ― Київ, 2000. ― С. 43-44.

8. Борисевич Б.В., Ігнатенко Н.А. Біопсія шкіри у діагностиці акародерматозів у собак // Тези доповідей наукової конференції професорсько-викладацького складу, наук.співробітників та аспірантів ф-ту ветеринарної медицини НАУ. Київ , 2001.― С. 81.

9. Ігнатенко Н.А. Клінічні і патоморфологічні особливості демодекозу собак // Збірник матеріалів 7 Міжнародної науково-практичної конференції "Проблеми обслуговування дрібних домашніх тварин". Київ, 2002.― С. 27-29.

10. Ігнатенко Н.А. Гістохімічні зміни в шкірі собак при акародерматозах // Збірник матеріалів 1 конференції професорсько-викладацького складу і аспірантів навчально-наукового інституту ветеринарної медицини, якості і безпеки і продукції АПК. Київ, 2002 ― С. 39-40.

**Ігнатенко Н.А. Патоморфологічні зміни шкіри при демодекозі собак.** ― **Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.02 ― патологія, онкологія і морфологія тварин. ― Національний аграрний університет. Київ, 2004.

У дисертації наведено гістологічний спосіб діагностики демодекозу собак, описана гістологічна будова шкіри клінічно здорових тварин, а також епізоотологічні та клініко-морфологічні характеристики демодекозу собак. Встановлено, що епідерміс шкіри тіла собак не формує характерних гребінців. Гістологічно в ньому виявляються базальний, шипуватий і роговий шари. При дослідженнях глибоких зскрібків шкіри збудник демодекоза виявляється у 79,5 % випадків, у той час як при застосуванні розробленого нами методу біопсії шкіри з наступним гістологічним дослідженням одержаних біоптатів – у 100 % випадків. Кліщі D.canis на всіх стадіях свого розвитку локалізуються тільки у волосяних фолікулах, сальних і апокринових потових залозах. У дермі поза межами цих елементів вони не виявляються. Руйнування епідермісу і дерми при демодекозі зумовлене двома механізмами: 1) набряком і подальшим некрозом клітинних і тканинних елементів з наступним відторгненням некротизованих тканин; 2) цитотоксичною і колагенолітичною дією лімфоцитів, нейтрофілів, моноцитів та макрофагів

**Ключові слова:** шкіра, демодекоз, собаки, патоморфологічні зміни, що зумовлені демодекозом, біопсія, епідерміс, дерма.

**Игнатенко Н.А. Патоморфологические изменения кожи при демодекозе собак. ― Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.02 - патология, онкология и морфология животных. ― Национальный аграрный университет. Киев, 2004.

В диссертации приведены результаты изучения патоморфологических изменений в коже собак, больных демодекозом, а также клинических и некоторых эпизоотологических признаков этого заболевания. Было подтверждено отсутствие сезонности заболевания, половой предрасположенности к демодекозу, установлена породная и возрастная зависимость этого акародерматоза. Были отмечены изменения биохимических показателей крови у собак с генерализованной и локализованной формами демодекоза, а также незначительные изменения в картине красной и белой крови. Установлено ассоциирование генерализованной формы демодекоза и отодемодекоза в большинстве случаев с бактериальной микрофлорой, что ухудшало течение заболевания. Впервые проведено подробное изучение гистологических и гистохимических изменений в коже, в результате чего установлен иммунологический характер воспалительной реакции, возникшей в ответ на воздействие возбудителя. Описан более эффективный способ диагностики демодекоза собак, особенности гистологического строения кожи клинически здоровых животных, а также эпизоотологические и клинико-морфологические характеристики демодекоза собак. При исследованиях кожи методом глубокого соскоба возбудитель демодекоза выявляли только в 79,5 % случаев. В то время, как при использовании разработанного метода биопсии с последующим гистологическим исследованием биоптатов ― 100 %. Клещи демодекса на всех стадиях развития локализуются только в волосяных фолликулах, сальных и апокриновых потовых железах. В дерме они не выявляются. При значительной интенсивности инвазии клещи очень плотно заполняют волосяной фолликул до дна волосяной луковицы. При этом в области дна можно найти лишь единичных взрослых особей. Наиболее часто здесь выявляются яйца и личинки разных стадий развития. Волосяные фолликулы, содержащие большое количество клещей, заметно расширены. Иногда клещи находятся в расширенных потовых железах, а также в сальных железах и их выводных протоках. При локализации клещей в потовых железах их секреторный эпителий разрушается, или же его клетки находятся в состоянии зернистой дистрофии и некроза. В сальных железах выявляется частичный лизис или полное разрушение клеток. Базальная мембрана волосяных фолликулов, сальных и потовых желез, в которых находились клещи, ни в одном из случаев не разрушается.

При проведении гистохимических исследований выявлено, что в эпидермоцитах всех слоев уменьшалось количество ДНК, РНК и белков. В местах, где наблюдали утолщение эпидермиса, клетки становились высоко призматическими и формировали 2-6 клеточных слоев. В областях, где толщина эпидермиса заметно не увеличивалась, эти клетки часто имели кубическую форму, а над областями выраженного отека дермы становились плоскими. В шиповатом слое в области выраженного утолщения эпидермиса наблюдалось до 13-15 слоев клеток. В части шиповатых эпидермоцитов регистрировались фигуры митоза. В роговом слое эпидермиса патологических изменений не наблюдалось.

В дерме гистологические изменения были различными в разных ее слоях, связанными с отдельными морфологическими образованиями кожи и зависели от того, был ли нарушен покрывающий ее эпидермис. В части кожи, где регистрировался некроз эпидермиса, некротические изменения наблюдались и в ниже расположенных слоях дермы - сосочковом, а в тяжелых случаях и верхней части сетчатого слоя. В дальнейшем некротические участки отторгались от кожи. В других зонах поражений, где верхние слои некротизированных тканей не отторгались, под ними находили целые, хотя и патологически измененные сосочковый и сетчатый слои дермы.

В сосочковом слое дермы в некоторых случаях наблюдался выраженный субэпидермальный отек. Относительно тонкие колагеновые волокна этого слоя частично растворялись, в результате чего под эпидермисом и в толще сосочкового слоя дермы образовывались микрополости, которые были заполнены отечной жидкостью с остатками клеток и отдельными небольшими фрагментами колагеновых волокон.Тут находили утолщенные гомогенные пучки колагеновых волокон. В некоторых местах в сетчатом слое дермы, как правило в его средней части, наблюдали образования, напоминающие лимфоидные узелки в других органах.

В верхней 1/4-1/3 части волосяных фолликулов наблюдалось усиленное образование рогового вещества. Соединительнотканная волосяная сумка во многих местах неравномерно отекала и разрыхлялась. Клетки волосяной луковицы и волосяного сосочка в большинстве случаев становились базофильными или находились в состоянии зернистой дистрофии. Патологические изменения в коже провоцируются не только механическим действием клещей, а также биологически активными веществами, которые они выделяют. Разрушение эпидермиса и дермы при демодекозе обусловлено двумя механизмами: отеком с последующим отторжением некротизированных клеток, и цитотоксическим и коллагенолитическим действием лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов и макрофагов. В сосочковом и сетчатом слоях дермы выявляются очаговые клеточные инфильтраты, которые состоят из нейтрофилов, макрофагов, моноцитов, лимфоцитов и тучных клеток.

**Ключевые слова**: кожа, демодекоз, собаки, патоморфологические изменения, обусловленные демодекозом, биопсия, эпидермис, дерма.

**Ignatenko N. Pathomorphological Skin Changes in Dogs with Demodeсosis.- the manuscript.**

Veterinary Science Ph.D Candidate Dissertation, Specialization 16.00.02: Animal Pathology, Oncology, Morphology. The National Agrarian University, Kiev, 2004

The thesis describes a new more effective method of diagnosing demodicosis in dogs.The special features described are the histological structure of the skin of clinically healthy animals, and also the epizootological and clinical-morphological special features of demodicosis in dogs. It has beed determined that epidermis of the skin of dogs does not form characteristic crests. Histologically, it is possible to stratum basale, stratum spinosum and stratum corneum. The studies (of the skin) which used the deep scale method revealed the agent of demodеcosis only in 79.5 % cases. While our own biopsy method and the subsequent histological study of the samples showed the agent of demodicosis in 100 % cases. The demodicosis carrying mites at all stages of development are localized only n hair follicles, sebaceous and apocrine sweat glands. In the dermis they are not revealed. The pathologic changes in the skin are provoked not only by the mechanical action of the mites but also by the biologically active substances which they produce (secrete). The destruction of the epidermis and the derm is infected with demodicosis is caused by two mechanisms: by edema with the subsequent rejection of the necrotized cells, and by the cytotoxic and  collagenolytic effects of lymphocytes, monocytes, neutrophils and macrophages. **The keywords:** skin, demodicosis, dogs, pathomorphological changes caused by demodicosis, biopsy, epidermis, derma.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>