
Скорость оседания эритроцитов при диагностике лейшманиоза собак: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Cavalera M., Gernone F., Uva A., Donghia R., Carelli G., Iatta R., Zatelli A.
Научный журнал «Frontiers in Veterinary Science», 2022

Введение

Собачий лейшманиоз (CanL) — это переносимое москитами заболевание, вызываемое *Leishmania infantum* и эндемичное для Средиземноморского бассейна [1]. Системная патогенность этого внутриклеточного протозойного организма строго зависит от сложного взаимодействия «хозяин (собака)-паразит» [2]. Например, выраженный незащитный гуморальный иммунный ответ и неадекватный клеточный иммунный ответ связаны с прогрессированием болезни у подверженных собак [3, 4]. Также как часть врожденного иммунитета был отмечен острый фазовый ответ (APR) при CanL, характеризующийся изменениями острофазовых белков (APPs) с увеличением С-реактивного белка (СРБ), сывороточного ферритина и гаптоглобина, и снижением альбумина, параоксоназы 1 (PON1) или аполипопротеина 1 (ApoA1) [5-10]. Аналогично, у людей с висцеральным лейшманиозом, вызванным *Leishmania donovani* и *L. infantum*, воспалительный ответ считается обычным явлением, на что указывает не только увеличение APPs, но и скорость оседания эритроцитов (СОЭ) [11-13]. Определение СОЭ — стандартный лабораторный тест, измеряющий расстояние, которое эритроциты проходят в пробирке с антикоагулированной кровью за определенную единицу времени, чаще всего за час. В медицине человека СОЭ обычно используется как общий индекс заболевания, а также для отслеживания наличия и степени воспаления. Хотя СОЭ редко исследуется в ветеринарной медицине, недавно было обнаружено, что он может быть полезен в случаях собачьего ревматоидного артрита, остеоартрита, бабезиоза и эрлихиоза [14-17]. Например, потенциальная ценность СОЭ в сочетании с СРБ в качестве биомаркеров воспаления была предложена для мониторинга собачьего моноцитного эрлихиоза у собак, инфицированных *Ehrlichia canis* [17]. Таким образом, целью данного исследования является оценка СОЭ у собак, инфицированных *L. infantum*, в сравнении со здоровыми собаками, а также оценка наличия корреляции между СОЭ и клинической формой CanL и APR.

Методы

С октября 2021 года по январь 2022 года в исследование были включены собаки из питомников и домашние собаки любого пола, возраста, веса и породы, направленные в отделение медицинской клиники Департамента ветеринарной медицины (Валенцано, Италия), если у них была обнаружена серопозитивная инфекция *L. infantum* методом иммуноферментного анализа (ИФА). Собак исключали,

если подозревали или знали, что они: (i) поражены заболеваниями или лечились препаратами, способными влиять на иммунный ответ и воспалительные маркеры (например, опухолевые, аутоиммунные и сердечные заболевания, сахарный или несахарный диабет, гипо- и гиперандрокортицизм или гипер- и гипотиреоз, противовоспалительные и/или иммунодепрессанты); (ii) страдают заболеваниями, способными влиять на СОЭ согласно имеющейся научной литературе (например, собачий ревматоидный артрит, остеоартрит и бабезиоз) [14–17]. Кроме того, собак тестировали на анти- *Anaplasma phagocytophilum* (MegaCor Diagnostik, Хорбранц, Австрия) и анти-*E. canis* (Biopronix Agrolabo, Scarmagno, Италия) с помощью непрямого иммунофлюоресцентного теста на антитела и также исключали в случае положительного результата.

Для каждой собаки проводился полный медицинский осмотр, затем была присвоена оценка на основе клинических признаков CanL в диапазоне от 0 до 19 [18]. Образцы крови собирали либо из головной, либо из яремной вены и помещали в пробирку КЗ с ЭДТА (2 мл) для проведения общего анализа крови (ОАК) и оценки СОЭ, а также в пробирку с цитратом натрия (2,5 мл) для получения плазмы и определения концентрации фибриногена. Кроме того, порцию крови (5 мл) помещали в простые пробирки без добавок для получения сыворотки после центрифугирования (15 минут при 1500 × g) и проведения биохимического анализа, включая APPs (то есть СРБ и сывороточный ферритин) и электрофореза капиллярной зоны. Собаки проверялись на наличие антител против *L. infantum* с помощью ИФА (набор для ИФА VetLine *Leishmania*, ref. LEIVT0310, Novatec, Dietzenbach, Германия). На основе физического осмотра, клинической оценки и результатов лабораторных исследований, собаки с серопозитивным статусом *L. infantum* были классифицированы как «подверженные воздействию» (то есть отсутствие клинических признаков и лабораторных изменений, совместимых с активной формой CanL) или «пораженные» активной формой CanL (то есть наличие клинических признаков и/или лабораторных изменений, совместимых с CanL) [3, 10]. Для оценки СОЭ у собак использовалось устройство point-of-care (MINIPET, DIESSE, Diagnostica Senese S.p.A., Сиена, Италия) в соответствии с методикой Militello и др. [19]. Референтный интервал СОЭ был установлен на уровне 0-10 мм/ч [19]. Кроме того, оценку СОЭ также проводили у собак, считавшихся клинически здоровыми (то есть «здоровая группа») на основании физического осмотра, полного анализа крови и биохимической панели, в качестве контрольной группы.

Параметры	Группа			Сравнения ^ψ			
	Здоровые (n = 22) (a)	Подверженные (n = 10) (b)	Активная форма (n = 26) (c)	p- значение [^]	(b) vs. (a)	(c) vs. (a)	(b) vs. (b)
СОЭ	9.09 ± 7.97 (5.56 to 12.62) [§]	9.50 ± 3.31 (7.13 to 11.87) [§]	23.11 ± 16.07 (16.62 to 29.61) [§]	0.0001 ^γ	0.99	<0.001	0.01
СОЭ (%)	0.43 to 0.84 [§]	0.30 to 0.90 [§]	-0.02 to 0.18 [§]	<0.001 [^]	0.99	<0.001	0.07
0-10 мм/ч	14 (63.64)	6 (60.00)	2 (7.69)				
>10 мм/ч	8 (36.36)	4 (40.00)	24 (92.31)				

Таблица 1. Среднее значение (СЗ), стандартное отклонение (СО) и доверительный интервал (ДИ) для скорости оседания эритроцитов (СОЭ), а также количество и процент собак с измененным уровнем СОЭ среди здоровых собак, собак, подвергшихся воздействию, и животных, страдающих активной формой лейшманиоза собак (CanL).

*Представлено в виде:

Среднее значение и стандартное отклонение (M ± SD) для непрерывных переменных, и доли для категориальных переменных.

[§]Доверительный интервал 95 %.

^γТест Крускала-Уоллиса.

[^]Тест Фишера.

^ψp-значение для сравнений в ANOVA, или p-значение для попарных сравнений пропорций с корректировкой Бонферрони.

Анализ данных

Характеристики собак представлены как средние ± стандартные отклонения (M ± SD), а также в виде частот и процентов (%) для категориальных и их относительных доверительных интервалов при 95 % (ДИ 95 %). Были оценены количество и процент собак, страдающих от активной формы CanL, в соответствии с комбинацией СРБ и ферритина сыворотки, а также уровнем СОЭ. Для проверки связей между независимыми группами (то есть здоровыми собаками, и собаками с открытой и активной формой CanL) использовался тест Фишера для категориальных переменных, в то время как тест Краскала-Уоллиса на равенство рангов использовался для сравнения более чем двух независимых групп. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена использовался для проверки силы и направления связи, существующей между двумя исследуемыми переменными (то есть между альбумином, отношением альбумин/глобулины (А/Г), СРБ, СОЭ, ферритином, фибриногеном, глобулинами, гематокритом (HCT), эритроцитами (RBC) и общими белками). Множественные сравнения были проведены для всех возможных пар по ANOVA или пропорции, при необходимости, с корректировками Бонферрони.

При проверке нулевой гипотезы об отсутствии связи, вероятность ошибки на два хвоста составляла 0,05. Все статистические вычисления были сделаны с использованием StataCorp. 2021. Stata Statistical Software: Release 17. College Station, TX: StataCorp LLC.

	Подверженные (n = 10)		Активная форма (n = 26)	
	M ±SD or %	ДИ (95 %)	M ±SD or %	ДИ (95 %)
Альбумин	2.96 ± 0.27	2.84 to 3.08	2.56 ± 0.38	2.41 to 2.72
Альбумин (%)		0.02 to 0.56		0.40 to 0.80
≥2.80 г/дл	8 (80.00)		10 (38.46)	
<2.80 г/дл	2 (20.00)		16 (61.54)	
Глобулины	3.39 ± 0.25	3.21 to 3.57	4.53 ± 0.19	4.15 to 4.91
Глобулины (%)		0.00 to 0.31		0.48 to 0.86
≤3.90 г/дл	10 (100.00)		8 (30.77)	
>3.90 г/дл	0 (0.00)		18 (69.23)	
СРБ	0.08 ± 0.13	-0.01 to 0.18	0.83 ± 0.23	0.36 to 1.30
СРБ (%)		0.00 to 0.31		0.26 to 0.67
≤0.45 мг/дл	10 (100.00)		14 (53.85)	
>0.45 мг/дл	0 (0.00)		12 (46.15)	
Ферритин	160.50 ± 42.10	130.38 to 190.62	378.65 ± 39.92	296.44 to 460.86
Ферритин (%)		0.00 to 0.31		0.37 to 0.77
≤270.0 нг/мл	10 (100.00)		11 (42.31)	
>270.0 нг/мл	0 (0.00)		15 (57.69)	
Фибриноген	219.20 ± 115.48	136.59 to 301.81	346.44 ± 121.10	296.45 to 396.43
Фибриноген (%)		0.002 to 0.44		0.31 to 0.72
≤335.0 мг/дл	9 (90.00)		12 (48.00)	
>335.0 мг/дл	1 (10.00)		13 (52.00)	

Таблица 2. Среднее значение (СЗ), стандартное отклонение (СО) и доверительный интервал (ДИ) для положительных и отрицательных белков острой фазы у собак, подвергшихся воздействию, и у животных, пораженных активной формой лейшманиоза.



Рис. 1. Коробчатая и круговая диаграммы альбумина (А), глобулинов (В), С-реактивного белка (СРБ) (С), ферритина (Г), фибриногена (Е) и скорости оседания эритроцитов (СОЭ) (F) у собак, пораженных активной формой собачьего лейшманиоза.

Результаты

В исследование были включены 36 собак, серопозитивных на *L. infantum* (19 самцов и 17 самок), различного возраста ($7,6 \pm 4,4$ года) и породы (24 метиса, 5 английских сеттеров и по одной собаке пород ирландский сеттер, Эпаньоль Бретон, Дойч Курцхаар, Акита Ину, бультерьер, американский бульдог, немецкая овчарка). На основе

клинических и лабораторных данных эти собаки были классифицированы на две группы в соответствии с клинической формой CanL: обнаруженная форма ($n = 10$) и активная форма ($n = 26$). Кроме того, в исследование были включены 22 молодые ($1 \pm 0,5$ лет) и здоровые собаки (12 самцов и 10 самок) разных пород (5 метисов, 8 пойнтеров, 3 итальянских бракко, 2 среднеазиатских овчарки, 1 лаготто романоло, 1 шпиц, 1 мареммано-абруццкая овчарка и 1 английский сеттер).

Среднее, стандартное отклонение (СО) и доверительный интервал (ДИ) СОЭ у здоровых и *L. infantum*-серопозитивных собак статистически сравнивались и приводятся в таблице 1. Среднее, СО и ДИ воспалительных маркеров (то есть альбумина, СРБ, ферритина и фибриногена) и глобулинов у *L. infantum*-серопозитивных собак приводятся в соответствии с клинической формой в таблице 2. Число и процент собак, страдающих от активной формы CanL, в соответствии с комбинацией значений СРБ и сывороточного ферритина, а также уровнем СОЭ, показаны в таблице 3.

Среднее значение СОЭ у собак, страдающих от активной формы CanL, было значительно выше, чем у собак с обнаруженной формой и у здоровых собак ($p < 0,0001$; таблица 1). Кроме того, уровень СОЭ увеличивался у 92 % собак с активной формой CanL, тогда как положительные АПФ, такие как СРБ, фибриноген и сывороточный ферритин, увеличивались только у 46, 48 и 58 % животных соответственно (таблица 2; рисунок 1). Снижение альбумина и увеличение глобулинов обнаруживались у 61 и 69% собак, страдающих от активной формы CanL, соответственно (таблица 2; рисунок 1). У собак с обнаруженной формой АПФ с измененными уровнями были альбумин и фибриноген у 20 и 10 % животных соответственно, в то время как уровень СОЭ увеличивался у 40 % случаев (таблица 2).

Корреляции между СОЭ и показателями воспаления у собак с обнаруженной формой и собак, страдающих от активной формы, показаны в таблицах 4 и 5

соответственно. У собак с обнаруженной формой была найдена значимая положительная корреляция ($p = 0.02$) между СОЭ и фибриногеном (таблица 4). У собак с активной формой была обнаружена значимая положительная корреляция между СОЭ и общими белками ($p = 0.03$), глобулинами ($p = 0.01$), СРБ ($p = 0.02$) и фибриногеном ($p = 0.001$; таблица 5), а также значимая отрицательная корреляция между СОЭ и гематокритом ($p = 0.05$), гемоглобином ($p = 0.02$) и соотношением альбумина и глобулинов ($p = 0.03$; таблица 5).

Комбо	Активная форма (%)	СОЭ	
		≤10 мм/ч	>10 мм/ч
СРБ и ферритин			
СРБ ≤0.45 мг/дл и ферритин >270 нг/мл	6 (23.08)	1 (50.00)	5 (20.83)
СРБ >0.45 мг/дл и ферритин ≤270 нг/мл	3 (11.54)	0 (0.00)	3 (12.50)
СРБ >0.45 мг/дл и ферритин >270 нг/мл	9 (34.62)	0 (0.00)	9 (37.50)

Таблица 3. Количество собак, страдающих от активной формы собачьего лейшманиоза, в зависимости от сочетания значений С-реактивного белка (СРБ) и сывороточного ферритина, а также скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

р [¶]	СОЭ	Гематокрит	Гемаглобин	Эритроциты	Белки общие	Альбумин	Глобулины	Альбумин/глобулин	СРБ	Ферритин	Фибриноген
СОЭ	-										
Гематокрит	0.16 (0.67)	-									
Гемаглобин	0.13 (0.71)	0.60 (0.06)	-								
Эритроциты	0.18 (0.62)	0.09 (0.80)	0.72 (0.02)	-							
Белки общие	0.40 (0.25)	-0.39 (0.27)	-0.39 (0.26)	-0.39 (0.27)	-						
Альбумин	-0.02 (0.94)	0.09 (0.80)	-0.04 (0.91)	-0.09 (0.80)	0.51 (0.13)	-					
Глобулины	0.36 (0.30)	-0.53 (0.11)	-0.32 (0.37)	-0.29 (0.41)	0.58 (0.08)	-0.37 (0.29)	-				
Альбумин/глобулин	-0.35 (0.32)	0.17 (0.64)	-0.07 (0.84)	-0.07 (0.84)	0.05 (0.88)	0.81 (0.004)	-0.68 (0.03)	-			
СРБ	-0.21 (0.56)	0.50 (0.14)	0.17 (0.63)	-0.21 (0.55)	-0.58 (0.08)	-0.55 (0.10)	-0.09 (0.79)	-0.31 (0.38)	-		
Ферритин	0.31 (0.38)	0.51 (0.13)	0.42 (0.23)	0.08 (0.83)	-0.14 (0.69)	-0.30 (0.40)	0.14 (0.69)	-0.58 (0.08)	0.42 (0.22)	-	
Фибриноген	0.71 (0.02)	0.58 (0.08)	0.31 (0.38)	0.15 (0.68)	0.05 (0.89)	0.07 (0.85)	-0.19 (0.59)	-0.13 (0.72)	0.00 (0.99)	0.45 (0.19)	-

Таблица 4. Матрица корреляции между скоростью оседания эритроцитов (СОЭ), гематокритом, гемоглобином, количеством эритроцитов, соотношением альбумин/глобулины, С-реактивным белком (СРБ), ферритином и фибриногеном у собак, подверженных лейшманиозу ($n = 10$).

¶р, коэффициент корреляции Спирмена и соответствующее р-значение. Жирным шрифтом выделены статистически значимые результаты.

рґ	СОЭ	Гематокрит	Гемаглобин	Эритроциты	Белки общие	Альбумин	Глобулины	Альбумин/глобулин	СРБ	Ферритин	Фибриноген
СОЭ	–										
Гематокрит	–0.40 (0.05)	–									
Гемаглобин	–0.45 (0.02)	0.97 (<0.0001)	–								
Эритроциты	–0.30 (0.14)	0.93 (<0.0001)	0.92 (<0.0001)	–							
Белки общие	0.43 (0.03)	–0.16 (0.44)	–0.20 (0.34)	–0.21 (0.32)	–						
Альбумин	–0.37 (0.07)	0.43 (0.03)	0.44 (0.03)	0.25 (0.22)	–0.16 (0.45)	–					
Глобулины	0.50 (0.01)	–0.24 (0.24)	–0.30 (0.14)	–0.23 (0.27)	0.88 (<0.0001)	–0.56 (0.003)	–				
Альбумин/глобулин	–0.42 (0.03)	0.33 (0.10)	0.39 (0.05)	0.26 (0.21)	–0.57 (0.003)	0.81 (<0.0001)	–0.86 (<0.0001)	–			
СРБ	0.48 (0.02)	–0.50 (0.01)	–0.57 (0.003)	–0.44 (0.03)	0.23 (0.26)	–0.28 (0.18)	0.29 (0.16)	–0.36 (0.08)	–		
Ферритин	0.15 (0.46)	0.08 (0.72)	0.04 (0.85)	0.07 (0.72)	0.32 (0.12)	–0.23 (0.26)	0.42 (0.03)	–0.31 (0.13)	0.18 (0.39)	–	
Фибриноген	0.60 (0.001)	–0.57 (0.003)	–0.68 (0.0002)	–0.46 (0.02)	0.37 (0.07)	0.37 (0.0007)	0.60 (0.001)	–0.67 (0.0002)	0.42 (0.04)	0.001 (0.99)	–

Table 5. Матрица корреляции между СОЭ, гематокритом, гемоглобином, количеством эритроцитов, соотношением альбумин/глобулины, С-реактивным белком, ферритином и фибриногеном у собак, страдающих активной формой собачьего лейшманиоза (CanL) ($n = 26$).

ґр, коэффициент корреляции Спирмена и соответствующее р-значение. Жирным шрифтом выделены статистически значимые результаты.

Обсуждение

Это исследование впервые предоставляет данные о СОЭ у собак, серопозитивных на *L. infantum*, в сравнении со здоровыми животными и в зависимости от клинической формы CanL. Собаки, страдающие от активной формы CanL, показали наивысший уровень СОЭ, и большинство из этих собак (92 %) имели повышенный уровень СОЭ по сравнению с незараженными и здоровыми собаками. Увеличение уровня СОЭ, обнаруженное у этих животных, вероятно, связано с ФРВ, которая известна своим резким увеличением количества ФРВ, циркулирующих в крови, таких как СРБ и сывороточный ферритин [5, 6]. Агрегация эритроцитов, один из основных факторов, определяющих СОЭ, зависит от плазменных белков, таких как ФРВ, увеличение которых уменьшает отрицательные электростатические силы между эритроцитами и способствует их агрегации, ускоряя оседание [20]. В этом исследовании уровень СОЭ был положительно коррелирован с СРБ, общими белками и глобулинами, которые увеличиваются при активной форме CanL [3], а также с фибриногеном, являющимся наиболее важным фактором для образования больших агрегатов эритроцитов. Кроме того, обнаружена обратная корреляция между СОЭ и концентрациями гематокрита и гемоглобина у собак с активной формой CanL; это подтверждает, что, если гематокрит снижен, как при анемии, которая является признаком активного заболевания, скорость подъема плазмы меняется, так что агрегаты эритроцитов оседают быстрее [20].

Интересно, что, хотя положительные и отрицательные ФРБ были изменены у собак, страдающих от активной

формы CanL, как и ожидалось (например, СРБ, фибриноген и сывороточный ферритин увеличивались у 46, 52 и 58 % животных соответственно), только уровень СОЭ увеличивался у 92 % из этих собак, что возможно демонстрирует более высокую чувствительность по сравнению с другими показателями воспаления. Действительно, если учитывать комбинацию двух наиболее используемых ФРБ для классификации и лечения CanL согласно современной научной литературе (то есть СРБ и сывороточный ферритин) [21], только у девяти собак, страдающих от активной формы CanL, оба аналитика были изменены, в то время как уровень СОЭ был в основном всегда повышен (Таблица 3). Поэтому оценка СОЭ у собак, проживающих в эндемичных для *L. infantum* районах или прибывающих оттуда, с клиническими признаками и лабораторными отклонениями, совместимыми с активным заболеванием, может представлять собой готовый к использованию «водораздел» для ветеринара при принятии решения о необходимости проведения диагностических исследований.

У животных с выявленной инфекцией уровень СОЭ был аналогичен уровню здоровой группы. Следовательно, можно предположить, что у таких собак отсутствуют условия, приводящие к повышению СОЭ, это показывает отсутствие изменений показателей воспаления и индексов эритроцитов.

Возможным ограничением данного исследования может быть небольшое количество собак, участвующих в исследовании, из-за строгих критериев

включения. Кроме того, хотя оценка СОЭ доказала, что она является простым, быстрым и недорогим диагностическим тестом, она представляет собой диагностический инструмент для ветеринарной медицины, требующий будущих исследований для лучшего определения физиологических пределов этого исследования и возможных влияний таких факторов, как возраст, пол и репродуктивный статус собак, как это уже отмечалось в медицине человека. Однако значительно более высокий уровень СОЭ у собак, страдающих активной формой CanL, по сравнению с здоровыми и подверженными собаками, описанный здесь, вряд ли будет изменен пересмотром нормального диапазона.

В заключение, оценка СОЭ с помощью прибора, который можно использовать на дому у пациента, оказалась простым, недорогим и готовым к использованию настольным инструментом. СОЭ может рассматриваться как полезный и своевременный биомаркер воспаления для диагностики активной формы CanL. Более того, потребуются дальнейшие исследования для оценки того, могут ли определение и количественная оценка степени воспалительного ответа по оценке СОЭ быть также важными для терапевтического мониторинга в CanL.

Список литературы

1. Ajadi R. A., Adebisi A. A., Otesile E. B., Kasali O. B. Erythrocyte sedimentation rates and leukogram changes in canine model of osteoarthritis. *Niger J Physiol Sci.* (2018) 33: 105–8.
2. Asawapattanakul T., Pintapagung T., Piratae S., Juntautsa S., Chanchaoren P. Erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, and interleukin-6 as inflammatory biomarkers in dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*. *Vet World.* (2021) 14: 2325–31.
3. Baneth G., Koutinas A. F., Solano-Gallego L., Bourdeau P., Ferrer L. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol.* (2008) 24: 324–30.
4. Brigden M. The erythrocyte sedimentation rate. Still a helpful test when used judiciously. *Postgrad Med.* (1998) 103: 257–74.
5. Cantos-Barreda A., Escribano D., Cerón J. J., Bernal L.J., Furlanello T., Tecles F., et al. Relationship between serum anti-*Leishmania* antibody levels and acute phase proteins in dogs with canine leishmaniosis. *Vet Parasitol.* (2018) 260: 63–8.
6. Cerón J., Pardo-Marin L., Caldin M., Furlanello T., Solano-Gallego L., Tecles F., et al. Use of acute phase proteins for the clinical assessment and management of canine leishmaniosis: general recommendations. *BMC Vet Res.* (2018) 14: 196.
7. Cerón J.J. Acute Phase Proteins as Biomarkers in Canine Leishmaniosis. Malaga: Alive; (2022).
8. Dubova O., Feshchenko D., Bakhur T., Zghozinska O., Antipov A., Rublenko S., et al. Disseminated intravascular coagulation syndrome as a complication in acute spontaneous canine babesiosis. *Maced Vet Rev.* (2020) 43: 141–9.
9. Georgiadou S. P., Stefos A., Spanakos G., Skrimpas S., Makaritsis K., Sipsas N. V., et al. Current clinical, laboratory, and treatment outcome characteristics of visceral leishmaniasis: results from a seven-year retrospective study in Greece. *Int J Infect Dis.* (2015) 34: 46–50.
10. Hosein S., Blake D. P., Solano-Gallego L. Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniosis. *Parasitology.* (2017) 144: 95–115.
11. Liu X., Ni S., Li C., Xu N., Chen W., Wu M., et al. Circulating microRNA-23b as a new biomarker for rheumatoid arthritis. *Gene.* (2019) 712: 1–22.
12. Maia C., Campino L. Biomarkers associated with *Leishmania infantum* exposure, infection, and disease in dogs. *Front Cell Infect Microbiol.* (2018) 8:302.
13. Martínez-Subiela S., Tecles F., Eckersall P. D., Cerón J. J. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniosis. *Vet Rec.* (2002) 150: 241–4.
14. Martínez-Subiela S., Strauss-Ayali D., Cerón J. J., Baneth G. Acute phase protein response in experimental canine leishmaniosis. *Vet Parasitol.* (2011) 180: 197–202.
15. Martínez-Subiela S., Cerón J. J., Strauss-Ayali D., García-Martínez J. D., Tecles F., et al. Serum ferritin and paraoxonase-1 in canine leishmaniosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* (2014) 37: 23–9.
16. Militello C., Pasquini A., Medina Valentin A. A., Simčič P., De Feo G., Lubas G. The canine erythrocyte sedimentation rate (ESR): evaluation of a point-of-care testing device (MINIPET DIESSE). *Vet Med Int.* (2020) 2020:3146845.
17. Otranto D., Dantas-Torres F. The prevention of canine leishmaniosis and its impact on public health. *Trends Parasitol.* (2013) 29: 339–45.
18. Paltrinieri S., Solano-Gallego L., Fondati A., Lubas G., Gradoni L., Castagnaro M., et al. Canine Leishmaniosis Working Group, Italian Society of Veterinarians of Companion Animals. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniosis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* (2010) 236: 1184–91.
19. Shamsian S. A., Fata A., Alinezhad R., Mohebbi M., Sadabadi F., Moghaddas E., et al. Clinical and laboratory findings of visceral leishmaniosis in children hospitalized in Mashhad, Northeastern Iran: a twenty-year retrospective study. *Iran J Parasitol.* (2020) 15: 495–9.
20. Varma N., Naseem S. Hematologic changes in visceral leishmaniosis/kala azar. *Indian J Hematol Blood Transfus.* (2010) 26: 78–82.



West Medica Produktions- und Handels- GmbH
Brown-Boveri-Straße 6, B17-1, 2351 Wiener Neudorf, Austria
tel.: +43 (0) 22 36 89 24 65, fax: +43 (0) 22 36 89 24 64
vienna@westmedica.com, www.westmedica.com

Rev 1.0/06.23 RU
