

НАУКОВИЙ ВІСНИК

ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

Збірник наукових праць

Випуск 1 (154) 2020

Засновник, редакція, видавець і виготовлювач:
Білоцерківський національний аграрний університет (БНАУ)

Збірник розглянуто і затверджено до друку рішенням Вченої ради БНАУ
(Протокол № 4 від 21.05.2020 р.)

Збірник наукових праць «Науковий вісник ветеринарної медицини» («Scientific journal of veterinary medicine») є фаховим виданням, що включено до Переліку наукових фахових видань України категорії «Б» (Наказ Міністерства освіти і науки України № 1643 від 28.12.2019 р.) і є продовженням «Вісника Білоцерківського державного аграрного університету», започаткованого 1992 року. Збірник представлено на порталі Національної бібліотеки України ім. В.І. Вернадського, включено до міжнародних наукометричних баз *Index Copernicus*, *Google Scholar*, *Crossref*, *РІНЦ*.

Періодичність виходу збірника «Науковий вісник ветеринарної медицини» – двічі на рік.

Редакційна колегія:

Головний редактор – **Рубленко М.В.**, академік НААН, д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Заступник головного редактора – **Хіцька О.А.**, канд. вет. наук, доц., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Члени редакційної колегії:

Вілчек С., д-р наук, проф., Університет ветеринарної медицини та фармацевтики, Кошице, Словацька Республіка

Власенко В.М., д-р вет. наук, проф., академік НААН, Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Власенко С.А., д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Влізло В.В., д-р вет. наук, проф., академік НААН, Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна

Головаха В.І., д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Івченко В.М., д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Ільницький М.Г., д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Касіманікам Р., д-р філософії, проф., Державний університет штату Вашингтон, Пулман, Сполучені Штати Америки

Кільбович З., д-р габіл., проф., Вроцлавський університет природничих наук, Вроцлав, Польща

Козій В.І., д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Корнієнко Л.Є., д-р вет. наук, проф., Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, Київ, Україна

Красочко П.А., д-р вет. наук, проф., УО «Вітебська державна ордена «Знак Пошани» академія ветеринарної медицини», Вітебськ, Республіка Білорусь

Курдеко О.П., д-р вет. наук, проф., УО «Вітебська державна ордена «Знак Пошани» академія ветеринарної медицини», Вітебськ, Республіка Білорусь

Леблон А., д-р філософії, проф., Національна ветеринарна школа VetAgro Sup, Ліон, Франція

Мартіно С., д-р наук, проф., Національна ветеринарна школа VetAgro Sup, Ліон, Франція

Марчук В.В., канд. пед. наук, ст. викладач, Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Мисак А.Р., д-р вет. наук, проф., Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького, Львів, Україна

Мойжішова Я., д-р габіл., проф., Університет ветеринарної медицини та фармацевтики, Кошице, Словацька Республіка

Неджвеч А., д-р філософії, доц., Вроцлавський університет природничих наук, Вроцлав, Польща

Ніжанський В., д-р габіл., проф., Вроцлавський університет природничих наук, Вроцлав, Польща

Ніщененко М.П., д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Новак В.П., д-р біол. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Пістл Ю., д-р наук, проф., Університет ветеринарної медицини та фармацевтики, Кошице, Словацька Республіка

Рубленко С.В., д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Сахнюк В.В., д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Селчук Х.Б., д-р філософії, проф., Університет Афійон Косатепе, Афійон-Карахисар, Туреччина

Стефанік В.Ю., д-р вет. наук, проф., Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького, Львів, Україна

Томко М., д-р філософії, проф., Університет ветеринарної медицини та фармацевтики, Кошице, Словацька Республіка

Ушкалов В.О., д-р вет. наук, проф., Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

Царенко Т.М., канд. вет. наук, доц., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Ярчук Б.М., канд. вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Editorial board:

Editor-in-chief – **Rublenko M.V.**, D.Sc., Prof., Academician of NAAS, Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

Deputy Editor-in-chief – **Khitska O.A.**, PhD, Ass. Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

Members of editorial board:

Holovakha V.I., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

Ilitsky M.G., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

Ivchenko V.M., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

Kasimanickam R., D.Sc., Prof., Washington State University, Pullman, United States of America

Kielbowicz Z., D. habil, Prof., Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland

Kornienko L.E., D.Sc., Prof., State Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary Expertise, Kyiv, Ukraine

Kozyi V.I., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

Krasochko P.A., D.Sc., Prof., Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus

Kurdeko O.P., D.Sc., Prof., Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus

Leblond A., PhD, Prof., National Veterinary School VetAgro Sup, Lyon, France

Marchuk V.V., PhD, Ass. Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine
Martino S., D.Sc., Prof., National Veterinary School VetAgro Sup, Lyon, France
Mojzisova J., D. habil., Prof., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Kosice, Slovak Republic
Mysak A.R., D.Sc., Prof., Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology S.Z. Gzhytskogo, Lviv, Ukraine
Niedźwiedz A., PhD, Ass. Prof., Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland
Nishchemenko M.P., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine
Nizanski W., D. habil., Prof., Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland
Novak V.P., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine
Pistl J., PhD, Prof., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Kosice, Slovak Republic
Rublenko S.V., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine
Sakhniuk V.V., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine
Selcuk H.B., PhD, Prof., Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey
Stefanyk V.Yu., D.Sc., Prof., Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology S.Z. Gzhytskogo, Lviv, Ukraine
Tomko M., PhD, Prof., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Kosice, Slovak Republic
Tsarenko T.M., PhD, Ass. Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine
Ushkalov V.O., D.Sc., Prof., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine
Vilcek S., D.Sc., Prof., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Kosice, Slovak Republic
Vlasenko S.A., D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine
Vlasenko V.M., D.Sc., Prof., Academician of NAAS, Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine
Vlizlo V.V., D.Sc., Prof., Academician of NAAS, Animals Biology Institute of NAAS, Lviv, Ukraine
Yarchuk B.M., PhD, Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

Редакционная коллегия:

Главный редактор – **Рубленко М.В.**, академик НААН, д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина

Заместитель главного редактора – **Хицкая О.А.**, канд. вет. наук, доц., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина

Члены редакционной коллегии:

Вилчек С., д-р наук, проф., Университет ветеринарной медицины и фармацевтики, Кошице, Словацкая Республика
Власенко В.М., д-р вет. наук, проф., академик НААН, Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Власенко С.А., д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Влизло В.В., д-р вет. наук, проф., академик НААН, Институт биологии животных НААН, Львов, Украина
Головаха В.И., д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Ивченко В.М., д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Ильницький Н.Г., д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Касиманикам Р., д-р философии, проф., Государственный университет штата Вашингтон, Пулман, Соединенные Штаты Америки
Кильбович З., д-р габил., проф., Вроцлавский университет естественных наук, Вроцлав, Польша
Козий В.И., д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Корниенко Л.Е., д-р вет. наук, проф., Государственный научно-исследовательский институт лабораторной диагностики и ветеринарно-санитарной экспертизы, Киев, Украина
Красочко П.А., д-р вет. наук, проф., УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Витебск, Республика Беларусь
Курдеко А.П., д-р вет. наук, проф., УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Витебск, Республика Беларусь
Леблон А., д-р философии, проф., Национальная ветеринарная школа VetAgro Sup, Лион, Франция
Мартино С., д-р наук, проф., Национальная ветеринарная школа VetAgro Sup, Лион, Франция
Марчук В.В., канд. пед. наук, ст. преподаватель, Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Мойжишова Я., д-р габил., проф., Университет ветеринарной медицины и фармацевтики, Кошице, Словацкая Республика
Мысак А.Р., д-р вет. наук, проф., Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий им. С.З. Гжицкого, Львов, Украина
Неджвеч А., д-р философии, доц., Вроцлавский университет естественных наук, Вроцлав, Польша
Нижанский В., д-р габил., проф., Вроцлавский университет естественных наук, Вроцлав, Польша
Нищеменко Н.П., д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Новак В.П., д-р биол. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Пистл Ю., д-р наук, проф., Университет ветеринарной медицины и фармацевтики, Кошице, Словацкая Республика
Рубленко С.В., д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Сахнюк В.В., д-р вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Селчук Х.Б., д-р философии, проф., Университет Афйон Косатеппе, Афйон-Карахисар, Турция
Стефанык В.Ю., д-р вет. наук, проф., Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий им. С.З. Гжицкого, Львов, Украина
Томко М., д-р философии, проф., Университет ветеринарной медицины и фармацевтики, Кошице, Словацкая Республика
Ушкалов В.А., д-р вет. наук, проф., Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, Украина
Царенко Т.М., канд. вет. наук, доц., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина
Ярчук Б.М., канд. вет. наук, проф., Белоцерковский НАУ, Белая Церковь, Украина

Адреса редакції: Білоцерківський національний аграрний університет, Соборна площа, 8/1, м. Біла Церква, 09117, Україна, тел. +38(0456)33-11-01, e-mail: redakciaviddil@ukr.net.

ЗМІСТ ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА

АКУШЕРСТВО І БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

Ревунець А.С., Гришук Г.П., Веремчук Я.Ю. Тканинні препарати як ефективний засіб корекції статеві циклічності неплідних корів в умовах Лісостепу Житомирщини.....6

ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

Кісера Я.В., Божик Л.Я., Гриневич Н.С., Сторчак Ю.Г. Видовий склад циркулюючої мікрофлори та її стійкість до антибактеріальних препаратів в умовах ТОВ «Квант Систем».....12

Рубленко Н.М. Ідентифікація бактерій роду *Salmonella* та сероварів *Enteritidis* і *Typhimurium* методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР-РЧ).....21

Сиса Л.В. The effect of dry blood plasma as a biological supplement on pigs (Вплив сухої плазми крові як біологічної добавки на свиней)32

Солопова Х.Я., Вішур О.І. Стан Т- і В-клітинної ланки імунітету коропів, уражених аеромонозом, та за лікування препаратом Ентеронормін40

Тишківська Н.В., Лясота В.П., Тишківська А.М., Букалова Н.В., Богатко Н.М. Моніторинг та діагностика бактеріальних хвороб птиці у птахогосподарствах Київської області47

ПАЗАРИТАРНІ ХВОРОБИ

Сайченко І.В., Антипов А.А. Епізоотична ситуація щодо нематодозів шлунково-кишкового каналу собак.....54

ТЕРАПІЯ ТА КЛІНІЧНА ДІАГНОСТИКА

Трофім'як Р.М., Слівінська Л.Г. Показники гемопоєзу та біохімічного профілю крові собак за хронічної серцевої недостатності63

ФАРМАКОЛОГІЯ

Тишківська А.М., Духницький В.Б., Тишківський М.Я. Вплив польодоксину та тилмоксу 25 % на морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів.72

ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

Головаха В.І., Мостовий Є.В., Піддубняк О.В., Кюрчєв О.М. Стан еритроцитопоезу у службових собак за фізичного та емоційного навантаження80

Ємельяненко А.А., Шмаюн С.С., Ніщенко М.П., Ємельяненко О.В., Порошинська О.А., Стовбєцька Л.С., Козій В.І. Вплив комплексу наноаквахелатів селену і германію на гуморальний імунітет в організмі перепелів88

Журенко О.В. Корекція вмісту Натрію та Калію у крові корів кормовою добавкою Гермацінк із урахуванням типологічних особливостей нервової системи96

Новак В.П., Бєвз О.С., Мельниченко А.П., Присяжнюк Н.М., Нечипорук Є.В. Цито-, фіброархітектоніка та васкуляризація зовнішньої (червоної) зони менісків нутрій103

Оліяр А.В., Лєшова М.О., Логвінова В.В. Морфогенез осередків окостеніння кісткових органів поросят у ранньому постнатальному періоді онтогенезу113

ХІРУРГІЯ

Рубленко М.В., Мельніков В.В. Цитокіновий профіль у корів з некробактеріозними ураженнями пальців.....121

Рубленко С.В., Яремчук А.В., Власенко В.М. Клініко-експериментальне обґрунтування використання високо-частотного електрокоагулятора ЕК-300М1 за хірургічного лікування новоутворень молочної залози у сук129

Чемєровський В.О. Рентгенографічна, макроморфологічна і гематологічна оцінка гідроксиапатитної кераміки з різними фізико-хімічними властивостями140

Шевченко С.М. Динаміка гематологічних показників, макроморфологічна і рентгенологічна картини репаративного остеогенезу в кролів за використання тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної кераміки.....153

CONTENT

OBSTETRICS AND BIOTECHNOLOGY REPRODUCTION

Revunets A., Gryshchuk G., Veremchuk Ya. Tissue preparations as an effective means of correction of sexual cyclicity of infertile cows in the conditions of forest-steppe zone in Zhytomyr region.....6

EPISOOTOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

Kisera Ya., Bozhyk L., Grynevych N., Storchak Yu. Specific composition of microflora circulating at the FARM "Quant System" and its resistance to antibacterial medicines12

Rublenko N. Identification of *Salmonella* spp and serovars *Typhimurium*, *Enteritidis* by qPCR.....21

Sysa L. The effect of dry blood plasma as a biological supplement on pigs.....32

Solopova Kh., Vishchur O. Number of T- and B-lymphocytes and their functional activity in the blood of common carps affected by Aeromonosis, and in the treatment of probiotic Enteronormin.....40

Tyshkivska N., Lyasota V., Tyshkivska A., Bukalova N., Bogatko N. Monitoring and diagnosis of poultry bacterial diseases in poultry farms of the Kiev region.....47

PARASITARY DISEASES

Saichenko I., Antipov A. An epizootic situation is in relation to the nematodosis of gastroenteric channel of dogs.....54

THERAPY AND CLINICAL DIAGNOSTICS

Trofimjak R., Slivinska L. Hematopoiesis and biochemical profiles of dogs' blood by chronic heart failure63

PHARMACOLOGY

Tyshkivska A., Dukhnitsky V., Tyshkivsky M. The effect of polidoxin and tilmox 25% on the morphological and biochemical parameters of the blood of broiler chickens.....72

PHYSIOLOGY, PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY AND MORPHOLOGY

Holovakha V., Mostovoy E., Piddubnyak O., Kurchev O. The state of erythrocytopoiesis in dogs in physical and emotional load.....	80
Yemelyanenko A., Shmayun S., Nishmenenko M., Yemelyanenko O., Poroshinska O., Stovbetska L., Koziy V.I. The influence of the Selenium and Germanium on humoral immunity content in quails.....	88
Zhurenko E. Correction of sodium and potassium content in the blood of the cows with the aid of feed additives of Hermatsins taking into account typological features of the nervous	96
Novak V., Bezv O., Melnychenko A., Prisyazhniuk N., Nechiporuk Ye. Cyto-, fibroarchitectonics and vascularization of the external (red) zone of the coypu's meniscus	103
Oliyar A., Lieshchova M., Logvinova V. Morphogenesis of the centers of ossification of bone organs of piglets in the early postnatal period of ontogenesis.....	113

SURGERY

Rublenko M., Melnikov V. Cytokine profile in cows with necrobacterious fingers.....	121
Rublenko S., Yaremchuk A., Vlasenko V. Clinical and experimental justification for the use of high-frequency electrocoagulator EK-300M1 for the surgical treatment of breast tumors in female dogs.....	129
Chemerovsky V. Radiographic, macromorphological and hematological evaluation of hydroxyapatite ceramics with different physicochemical properties.....	140
Shevchenko S. Dynamics of hematological parameters, macromorphological and radiological results of reparative osteogenesis in rabbits for the use of platelet concentrates and hydroxyapatite ceramics.....	153

СОДЕРЖАНИЕ

АКУШЕРСТВО И БИОТЕХНОЛОГИЯ ВОСПРОИЗВОДСТВА

Ревунец А. С., Гришук Г. П., Веремчук Я. Ю. Тканевые препараты как эффективное средство коррекции половой цикличности бесплодных коров в условиях Лесостепи Житомирщины.....	6
--	---

ЭПИЗООТОЛОГИЯ И ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Кисера Я.В., Божик Л.Я., Гриневич Н.Е., Сторчак Ю.Г. Видовой состав циркулирующей микрофлоры и ее устойчивость к антибактериальным препаратам в условиях ООО «Квант Систем».....	12
Рубленко Н. М. Идентификация бактерий рода <i>Salmonella</i> и сероваров <i>Enteritidis</i> , <i>Typhimurium</i> методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ)	21
Сыса Л.В. Влияние сухой плазмы крови как биологической добавки на свиней.....	32
Солопова К.Я., Вишур О.И. Состояние Т- и В-клеточного звена иммунитета карпов, пораженных аэромонозом, и за лечения препаратом Энтеронормин.....	40
Тышківська Н.В., Лясота В.П., Тышківська А.М., Букалова Н.В., Богатко Н.М. Мониторинг и диагностика бактериальных болезней птицы в птицеводствах Киевской области.....	47

ПАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

Сайченко И.В., Антипов А.А. Эпизоотическая ситуация относительно нематодозов желудочно-кишечного канала собак	54
---	----

ТЕРАПИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

Трофимьяк Р.М., Сливинская Л.Г. Показатели гемопоэза и биохимического профиля крови собак с хронической сердечной недостаточности	63
---	----

ФАРМАКОЛОГИЯ

Тышківська А.М., Духницький В.Б., Тышківський М.Я. Влияние польодоксина и тилмокса 25% на морфологические и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров	72
---	----

ФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И МОРФОЛОГИЯ

Головаха В.И., Мостовой Е.В., Пиддубняк О.В., Кюрчев А.Н. Состояние эритроцитопоза у служебных собак при физической и эмоциональной нагрузке.....	80
Емельяненко А.А., Шмаюн С.С., Нищенко М.П., Емельяненко А.В., Порошинская А.А., Стовецкая Л.С., Козий В.И. Влияние комплекса наноаквахелатив селена и германия на гуморальный иммунитет в организме перепелов.....	88
Журенко Е.В. Коррекция содержания Натрия и Калия в крови коров с помощью кормовой добавки Гермацинк с учетом типологических особенностей нервной системы.....	96
Новак В.П., Бевз О.С., Мельниченко А.П., Присяжнюк Н.М., Нечипорук Е.В. Цито-, фиброархитектоника и васкуляризация внешней (красной) зоны менисков нутрий.....	103
Олияр А. В., Лещёва М. А., Логвинова В. В. Морфогенез очагов окостенения костных органов поросят в раннем постнатальном периоде онтогенеза	113

ХИРУРГИЯ

Рубленко М.В., Мельников В.В. Цитокиновый профиль у коров с некробактериозными поражениями пальцев.....	121
Рубленко С.В., Яремчук А.В., Власенко В.М. Клинико-экспериментальное обоснование использования высокочастотного электрокоагулятора EK-300M1 для хирургического лечения новообразований молочной железы у сук.....	129
Чемеровский В. А. Рентгенографическая, макроморфологическая и гематологическая оценка гидроксиапатитной керамики с различными физико-химическими свойствами.....	140
Шевченко С. Н. Динамика гематологических показателей, макроморфологическая и рентгенологическая картины репаративного остеогенеза в кроликах за использования тромбоцитарных концентратов и гидроксиапатитной керамики.....	153

АКУШЕРСТВО І БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

УДК 619:636.2:616-085.36(477.42)

Тканинні препарати як ефективний засіб корекції статевої циклічності неплідних корів в умовах Лісостепу Житомирщини

Ревунець А.С. , Гришук Г. П. , Веремчук Я.Ю. 

Поліський національний університет

 E-mail: revunets@ukr.net



Ревунець А.С., Гришук Г. П., Веремчук Я.Ю.
Тканинні препарати як ефективний засіб
корекції статеві циклічності неплідних
корів в умовах Лісостепу Житомирщини.
Науковий вісник ветеринарної медицини,
2020. № 1. С. 6–11.

Revunec' A.S., Gryshuk G. P., Veremchuk
Ja.Ju. Tkanynni preparaty jak efektyvnyj
zasib korekcii' statevoi' cyklichnosti ne-
plidnyh koriv v umovah Lisostepu Zhyto-
myrshhyny. Naukovyj visnyk veterynarnoi'
medycyny, 2020. № 1. PP. 6–11.

Рукопис отримано: 20.04.2020р.

Прийнято: 05.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-6-11

Запровадження новітніх технологій відтворення тварин зумовлює зміни в життєдіяльності їх організму та впливає на прояв статеві циклічності. Як результат, одними з основних завдань фахівців ветеринарної медицини є ліквідація неплідності телиць та корів і вдосконалення методів регуляції їх відтворної функції.

Останніми роками у ветеринарії з профілактичною та лікувальною метою окремо, так і в комбінації з іншими засобами під час вагітності, в після-родовий період, за гінекологічних хвороб, для стимуляції функції статеві апарату тварин, а також за їх вирощування для підвищення продуктивності досить ефективно застосовують біогенні стимулятори, виготовлені з тканин та органів тварин і рослин – тканинні препарати. Однак недостатньо вивченими залишаються зміни в статеві апараті неплідних корів за їх використання.

Саме тому метою досліджень було вивчити дію тканинних препаратів в комплексі з їхглюковітом для корекції статеві циклу неплідних корів в умовах Лісостепу Житомирської області.

Встановлено, що у корів при застосуванні тканинного препарату, виготовленого з печінки і плаценти та їхглюковіту, час результативного осіменіння був мінімальним і становив $47,0 \pm 5,11$ діб. Також спостерігали позитивний вплив на повноцінність перебігу статеві циклу за використання в комплексі тканинних препаратів з печінки і плаценти, як результат – неплідність на корову складала $17,00 \pm 1,14$ діб.

Оскільки всім дослідним тваринам вводили їхглюковіт, а термін виникнення повноцінного статеві циклу та ефективність осіменіння у корів були неоднакові, то, припускаємо, що зміни в організмі тварин зумовлені насамперед впливом тканинних препаратів. Вважаємо, що застосування «плацентарного» тканинного препарату, виготовленого з матки тільки корів разом із вмістим було найрезультативнішим, тому що до його складу входять біологічно активні речовини, які подібні до статеві апарату корови.

Аналізуючи отримані результати, рекомендуємо застосовувати тканинний препарат з печінки і плаценти та їхглюковіт у дозі по 20 см^3 з розрахунку на одну тварину, трикратно з інтервалом 8–10 діб з метою корекції статеві циклу великої рогатої худоби і профілактики неплідності.

Ключові слова: біогенний стимулятор, тканинний препарат, їхглюковіт, відтворення, статеві цикл, неплідність, корови.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. На сьогодні в умовах використання новітніх технологій відтворення тварин необхідним є вивчення прояву їх статеві циклічності та змін в життєдіяльності організму [1, 2]. Відтак дослідження чинників, що впли-

вають на плідність та перебіг повноцінного статеві циклу у корів залишається актуальним [3–5].

Останнім часом значного поширення набули патології репродуктивної функції тварин, які є однією з головних причин неплідності і

відповідно знижують їх відтворювальну здатність та продуктивність [6–8]. Тому ліквідація неплідності телиць та корів, вдосконалення методів регуляції їх відтворної функції – одні із основних завдань фахівців ветеринарної медицини [1, 9].

Для відновлення і корекції статевого циклу корів, поряд з впровадженням організаційно-господарських заходів, широко застосовують різні лікарські засоби різнобічної дії [7, 10], основою яких є гормональні препарати. Останні досить часто є дороговартісними і їх застосування може зумовлювати зміни гормонального профілю організму тварин [11]. Однак враховуючи економічні проблеми, які виникли в галузі тваринництва та накопичені знання щодо природного механізму нервово-гормональної регуляції репродуктивної функції корів та телиць, у ветеринарній медицині з успіхом застосовують альтернативні методи терапії, зокрема тканинні препарати, виготовлені з тканин та органів тварин і рослин [11–15].

Академік В. П. Філатов [12] встановив, що відокремлені від організму тканини за несприятливих умов впродовж певного періоду продовжують свою життєздатність, адаптуючись до нових умов, утворюючи при цьому біологічно активні речовини високої фізіологічної активності. Біогенні стимулятори діють шляхом мобілізації природних захисних сил організму, покращують трофічні процеси, підвищують активність ферментів, сприяють відновленню метаболічних процесів як в нормі, так і за патології [9, 13, 15–18].

Тканинні препарати широко застосовують у ветеринарній медицині з лікувальною метою, як окремо, так і в комбінації з іншими засобами під час вагітності, в післяродовий період за гінекологічних хворобах, для стимуляції функції статевого апарату тварин, а також за їх вирощування з метою підвищення продуктивності [7, 9, 13, 14, 20]. Проте, недостатньо вивчені

зміни в статевому апараті неплідних корів у різних зонах Лісостепу Житомирщини при застосуванні тканинних препаратів.

Мета дослідження – вивчити дію тканинних препаратів в комплексі з іхглюковітом для корекції статевого циклу неплідних корів в умовах Лісостепу Житомирської області.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проведені протягом 2016–2018 рр. на коровах віком від 5 до 9 років, із середнім надоєм 4700 кг молока за лактацію, середньої вгодованості, української чорно-рябї породи, які належать приватному сільськогосподарському підприємству «Україна» (с. Почуйки Попільнянського району Житомирської області), що належить до Лісостепої зони Житомирщини. Із неплідних корів у весняно-літній період було сформовано три дослідні і одну контрольну групи. Препарати вводили за даною схемою (табл. 1).

Використані тканинні препарати виготовлені на кафедрі акушерства і хірургії Поліського національного університету за методикою академіка В. П. Філатова в модифікації професора Г. М. Калиновського [12, 20].

Санітарно-гігієнічний стан приміщень, умови утримання і ветеринарного обслуговування тварин були на задовільному рівні. В осінньо-весняний період корів утримували прив'язно з щоденним пасивним моціоном, а влітку вони знаходилися в літніх таборах без випасу.

Тривалість тільності, час прояву першої стадії статевого циклу після отелення та ефективність осіменіння досліджуваних тварин контролювали згідно з записами журналів штучного осіменіння і за результатами акушерської та гінекологічної диспансеризації.

Результати дослідження та обговорення. За результатами проведених досліджень встановлено, що показники ефективності осіменіння корів за часом виникнення повноцінного статевого циклу були найкращими у тварин

Таблиця 1 – Схема обробки неплідних корів

Група	Кількість тварин у групі, гол.	Препарати, дози, шляхи введення і кратність
I (дослідна)	14	Тканинний препарат з плаценти (40 см ³), підшкірно в ділянку лопатко-плечового суглобу, трикратно з інтервалом 8–10 діб; іхглюковіт (20 см ³), внутрішньом'язово один раз на добу протягом 5-ти діб.
II (дослідна)	15	Тканинний препарат з печінки (40 см ³), підшкірно в ділянку лопатко-плечового суглобу, трикратно з інтервалом 8–10 діб; іхглюковіт (20 см ³), внутрішньом'язово один раз на добу протягом 5-ти діб.
III (дослідна)	15	Тканинний препарат з плаценти та печінки (20 см ³), підшкірно в ділянку лопатко-плечового суглобу, трикратно з інтервалом 8–10 діб; іхглюковіт (20 см ³), внутрішньом'язово один раз на добу протягом 5-ти діб.
IV (контрольна)	15	Препарати не вводили.

третьої дослідної групи, яким вводили комплексно іхглюковіт і тканинний препарат з печінки та плаценти (табл. 2).

На нашу думку, високий терапевтичний ефект поєднаного використання тканинних препаратів з різних органів обумовлений їх

Таблиця 2 – Ефективність застосування тканинних препаратів для відновлення відтворної функції корів

Показник	Група тварин			
	1 дослідна	2 дослідна	3 дослідна	4 контрольна
Час від отелення до введення препарату, діб	30–36	30–36	30–36	30–36
Час результативного осіменіння, діб	60,1±4,87*	62,5±4,89*	47,0±5,11**	94,6±16,25
Неплідність на корову, діб	30,1±2,35***	32,5±1,52***	17,00±1,14***	64,6±1,82

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ порівняно з тваринами контрольної групи

Із наведених даних таблиці 2 видно, що в корів третьої групи час результативного осіменіння був мінімальним та меншим ($p < 0,01$) у порівнянні з контрольними тваринами ($94,6 \pm 16,25$ діб) і складав $47,0 \pm 5,11$ діб. Відповідний показник у дослідних корів першої та другої груп мав подібні середні значення ($60,1 \pm 4,87$ та $62,5 \pm 4,89$ діб), проте був меншим порівняно з групою контрольних корів ($p < 0,05$).

Зважаючи на те, що повноцінний статевий цикл і час прояву першої статевої охоти та ефективне осіменіння мають наступати впродовж 30 діб після отелення, неплідність досліджуваних корів в середньому становила: в першій групі (за введення тканинного препарату з плаценти та іхглюковіту) – $30,1 \pm 2,35$ діб, в другій (за введення тканинного препарату з печінки та іхглюковіту) – $32,5 \pm 1,52$, в третій групі (за введення тканинного препарату з плаценти та печінки і іхглюковіту) – $17,00 \pm 1,14$ і в контрольній групі – $64,6 \pm 1,82$ діб.

Аналізуючи отримані результати нами з'ясовано, що найефективнішим виявилось поєднане застосування тканинних препаратів з печінки і плацентарного комплексу та іхглюковіту, яке використовували для тварин третьої дослідної групи. Показник неплідності в даній групі був меншим ($p < 0,001$), порівняно з коровами першої та другої дослідних і контрольної груп. Між тим, введення дослідним тваринам іхглюковіту і окремо тканинного препарату з печінки або з плаценти також мало високий терапевтичний ефект порівняно із контролем. Найгірші результати відмічали у корів контрольної групи, яким вищевказані препарати не вводили.

Враховуючи, що всім дослідним тваринам вводили іхглюковіт, а термін виникнення повноцінного статевого циклу та ефективність осіменіння у корів були неоднакові, то, можливо, встановлені зміни в організмі зумовлені насамперед дією тканинних препаратів.

синергізмом. Вважаємо, що застосування «плацентарного» тканинного препарату, виготовленого з матки тільних корів разом із вмістимим було найрезультативнішим, тому що до його складу входять біологічно активні речовини, які подібні до статевих апаратів корови.

Таким чином, за результатами проведених досліджень рекомендуємо застосовувати тканинний препарат з печінки і плаценти та іхглюковіту в дозі по 20 см^3 з розрахунку на одну тварину, трикратно з інтервалом 8–10 діб з метою корекції статевих циклів великої рогатої худоби і профілактики неплідності.

Висновки.

1. У корів при застосуванні тканинного препарату з печінки та плаценти і іхглюковіту час результативного осіменіння був мінімальним і становив $47,0 \pm 5,11$ діб.

2. За використання біогенних стимуляторів в комплексі тканинних препаратів з печінки та плаценти спостерігали позитивний вплив на повноцінний перебіг статевих циклів – неплідність на корову складала $17,00 \pm 1,14$ діб.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні тривалого впливу застосування тканинних препаратів на відтворювальну здатність та статеві органи корів. Дослідження будуть спрямовані на розробку і апробацію ефективних заходів з відтворення тварин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Концепція розвитку біотехнології відтворення тварин на 2014–2020 роки / Яблонський В. А. та ін. Ветеринарна медицина України. 2014. № 6 (220). С. 5–6.
2. Evans A. C. O. Causes, prevention and management of infertility in dairy cows. Achieving sustainable production of milk. 2017. 3. P. 385–398. DOI: 10.19103/AS.2016.0006.20
3. Емброзе Дж. Фактори, що впливають на плідність корів. Ветеринарна практика. 2015. № 4. С. 38–46.
4. Diskin M. G., Sreenan J. M. Expression and detection of oestrus in cattle. Reproduction Nutrition Development. 40. 2000. P. 481–491. Doi:https://doi.org/ 10.1051/rnd:2000112
5. Muller C. J. C., Cloete S. W. P., Botha J. A. Fertility in dairy cows and ways to improve it. South African Journal

of Animal Science. 2018. 48 (No. 5). P. 858–868. Doi:https://doi.org/10.4314/sajas.v48i5.6

6. Калиновський Г. М., Ревунець А. С., Гришук Г. П. Стан відтворення і причини неплідності корів. Вісник ЖНАЕУ. 2016. № 1 (55), т. 3. С. 442–447.

7. Гончаренко В. В. Клініко-симптоматичне і патогенетичне обґрунтування профілактики неплідності корів-первісток : автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.07. Суми, 2011. 19 с.

8. Pelyh K., Fedorenko S. Поширеність кіст яєчників у корів за їх неплідності. Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування. 2019. № 3. С. 225–229. Doi:https://doi.org/10.31890/vtpp.2019.03.30.

9. Бондар О., Керничний С., Бетлінська Т. Застосування біостимуляторів при акушерській патології у корів. Аграрна наука та освіта в умовах євроінтеграції: зб. наук. пр. міжнар. наук.-практ. конф., 20-21 березня 2019 р., м. Кам'янець-Подільський. Тернопіль: Крок, 2019. Ч. 1. С. 295–296.

10. Ribeiro B. L. Evaluation of alternative treatments for the control of uterine infertility in cattle. Avaliação de tratamentos alternativos no controle das infertilidades uterinas em bovinos. 2019. 82 p. Doi:https://doi.org/10.11606/T.10.2019.tde-27092019-115735

11. Корняк С. Б., Шаран М. М., Шаловило С. Г. Ефективність використання фітопрепаратів для лікування лютеальних кіст у корів. Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. 2015. № 2 (17). С. 72–78.

12. Филатов В. П. Лечебный эффект тканевых пересадок. Медицина. 1937. № 11–12. С. 3–8.

13. Калашник И. А. Тканевые препараты в ветеринарии и животноводстве. Биогенные стимуляторы, механизм воздействия стимуляторов на организм животных и их применение в нормальном и патологическом состоянии животных и птиц: материалы междунар. науч.-метод. совещания научных учреждений социалистических стран, состоявшегося в Москве 4-8 окт. 1966 г. Боровск, 1967. С. 213–220.

14. Прус В., Шеремет С., Захарін В., Гончаренко В. Ефективність використання тканинного препарату Метрофет М для синхронізації статевих охот у корів. Тваринництво України. 2019. № 2. С. 20–23.

15. Pan S.Y. Placental therapy: An insight to their biological and therapeutic properties. J Med Therap. 2017. 1 p. Doi:https://doi.org/10.15761/jmt.1000118

16. Ganapathy H., Kameswaran S., Kumar P. V. R. Role of biogenic stimulants in otorhinolaryngology. Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery. 1978. Vol. 30. 143 p. Doi:https://doi.org/10.1007/BF02992221

17. Verma S., Choudhary A., Maini S., Ravikanth K. Evaluation of Efficacy of Herbal Intrauterine Infusion Uterofix Liquid in Treatment of Various Reproductive Disorders in Cows: A Field Study / Pharmacognosy Res. 2016. 8(3). P. 173–175. Doi:https://doi.org/10.4103/0974-8490.181459

18. Ataka S. Putative prophylaxes updated of placenta extract and aloe vera as biogenic stimulants. Journal of Gastroenterology and Hepatology Research. 2014. № 12. P. 1367–1387. Doi:https://doi.org/10.17554/j.issn.2224-3992.2014.03.443

19. Ефективність біологічно активного тканинного препарату при вирощуванні поросят / І.Я. Коцюмбас та ін. Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та Держ.

н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок. 2019. Вип. 20. № 2. С. 67–74. Doi: https://doi.org/10.36359/scivp.2019-20-2.09.

20. Гришук Г.П., Ревунець А.С. Склад тканинного препарату виготовленого з матки різних видів тварин. Біологія тварин. 2016. Т. 18, № 3: Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., 29–30 верес. 2016 р. 131 с.

REFERENCES

1. Yablonskyi, V. A., Liubetskyi, V. Y., Koshevoi, V. P., Kharenko, M. I., Kalynovskyi, H. M. (2014). Kontseptsiia rozvytku biotekhnolohii vidtvorennia tvaryn na 2014–2020 roky [The concept of development of animal reproduction biotechnology for 2014–2020]. Veterynarna medytsyna Ukrainy [Veterinary medicine of Ukraine]. no. 6 (220), pp. 5–6.

2. Evans, A.C.O. (2017). Causes, prevention and management of infertility in dairy cows. Achieving sustainable production of milk, no. 3, pp. 385–398. Available at:https://doi.org/10.19103/AS.2016.0006.20

3. Embroze, Dzh. (2015). Faktory, shcho vplyvaiut na plidnist koriv [Factors affecting for cow's fertility]. Veterynarna praktyka [Veterinary practice]. no. 4, pp. 38–46.

4. Diskin, M.G., Sreenan, J.M. (2000). Expression and detection of oestrus in cattle. Reproduction Nutrition Development. no. 40, pp. 481–491. Available at:https://doi.org/10.1051/rnd:2000112

5. Muller, C. J. C., Cloete, S. W. P., Botha, J. A. (2018). Fertility in dairy cows and ways to improve it. South African Journal of Animal Science. no. 48 (5), pp. 858–868. Available at:https://doi.org/10.4314/sajas.v48i5.6

6. Kalynovskyi, H.M., Revunets, A.S., Hryshchuk, H.P. (2016). Stan vidtvorennia i prychyny neplidnosti koriv [Condition of reproduction and causes of cow infertility]. Visnyk ZhNAEU [Bulletin of ZHNAEU]. no. 1 (55), Vol. 3, pp. 442–447.

7. Honcharenko, V.V. (2011). Kliniko-symptomatychnie i patohenetychnie obgruntuvannia profilaktyky neplidnosti koriv-pervistok : avtoref. dys. na zdobuttia nauk. stupenia kand. vet. nauk: 16.00.07. [Clinical-symptomatic and pathogenetic substantiation of prevention of infertility of first-born cows: abstract. diss. for the candidate of veterinary sciences: 16.00.07]. Sumy, 19 p.

8. Pelyh, K., Fedorenko, S. (2019). Poshyrenist kist yaiechnykyv u koriv za yikh neplidnosti [Cows have prevalence of cysts of ovaries at their infertility]. Veterynariia, tekhnolohii tvarynnytstva ta pryrodokorystuvannia [Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management]. no. 3, pp. 225–229. Available at:https://doi.org/10.31890/vtpp.2019.03.30

9. Bondar, O., Kernychnyi, S., Betlinska, T. (2019). Zastosuvannia biostymuliatoriv pry akusherskii patolohii u koriv. Ahrarna nauka ta osvita v umovakh yevrointehratsii: zb. nauk. pr. mizhnar. nauk.-prakt. konf., 20-21 bereznia 2019 r., m. Kamianets-Podilskyi [The using of biostimulants in obstetric pathology in cows. Agrarian Science and Education in the Conditions of European Integration: Coll. of sciences. ave. Research Practice Conf., March 20-21, 2019, Kamianets-Podilskyi]. Ternopil: Krok [Ternopil: Step]. Part 1, pp. 295–296.

10. Ribeiro, B. L. (2019). Evaluation of alternative treatments for the control of uterine infertility in cattle. Avaliação de tratamentos alternativos no controle das infertilidades uterinas em bovinos. 82 p. Available at: <https://doi.org/10.11606/T.10.2019.tde-27092019-115735>
11. Korniat, S.B., Sharan, M.M., Shalovylo, S.H. (2015). Efektyvnist vykorystannia fitopreparativ dlia likuvannia liutealnykh kist u koriv [Effectiveness of use of herbal remedies for the treatment of luteal cysts in cows]. Naukovyi visnyk LNUVMBT im. S.Z. Gzhytskoho [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. no. 2 (17), pp. 72–78.
12. Filatov, V.P. (1937). Lechebnyy efekt tkanevykh peresadok [The healing effect of tissue transplants]. Meditsina [The medicine]. no. 11–12, pp. 3–8.
13. Kalashnik, I. A. (1967). Tkanevyie preparaty v veterinarii i zhivotnovodstve. Biogennyye stimulyatory, mehanizm vozdeystviya stimulyatorov na organizm zhivotnykh i ih primenenie v normalnom i patologicheskom sostoyanii zhivotnykh i ptits: materialy mejdunar. nauch.-metod. soveshaniya nauchnykh uchrejdeniy sotsialisticheskikh stran, sostoyavshegoya v Moskve 4-8 okt. 1966 g. [Tissue preparations in veterinary medicine and animal husbandry. Biogenic stimulants, the mechanism of action of stimulants on the animal organism and their use in the normal and pathological state of animals and birds: international materials. scientific method. meeting of scientific institutions of the socialist countries, held in Moscow on October 4-8, 1966]. Borovsk, pp. 213–220.
14. Prus, V., Sheremet, S., Zakharin, V., Honcharenko, V. (2019). Efektyvnist vykorystannia tkanynnoho preparata Metrofet M dlia synkhronizatsii statevoi okhoty u koriv [Efficiency of use of tissue preparation Metrofet M for synchronization of sexual hunting in cows]. Tvarynnystvo Ukrainy [Livestock of Ukraine]. no. 2, pp. 20–23.
15. Pan, S.Y. (2017). Placental therapy: An insight to their biological and therapeutic properties. J Med Therap. 1 p. Available at: <https://doi.org/10.15761/jmt.1000118>
16. Ganapathy, H., Kameswaran, S., Kumar, P. V. R. (1978). Role of biogenic stimulants in otorhinolaryngology. Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery. Vol. 30, 143 p. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF02992221>.
17. Verma, S., Choudhary, A., Maini, S., Ravikanth, K. (2016). Evaluation of Efficacy of Herbal Intrauterine Infusion Uterofix Liquid in Treatment of Various Reproductive Disorders in Cows: A Field Study. Pharmacognosy Res. no. 8 (3), pp. 173–175. Available at: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.181459>.
18. Ataka, S. (2014) Putative prophylaxes updated of placenta extract and aloe vera as biogenic stimulants. Journal of Gastroenterology and Hepatology Research. no. 12, pp. 1367–1387. Available at: <https://doi.org/10.17554/j.issn.2224-3992.2014.03.443>
19. Kotsiumbas, I. Ya., Zhyla, M. I., Lisova, N. E., Halkin, A. V., Mykhaliuk, O. V., Mykhalus, H. M. (2019). Efektyvnist biolohichno aktyvnoho tkanynnoho preparatu pry vyroshchuvanni porosiat [The effectiveness of biologically active tissue preparation in growing piglets]. Nauk.-tekhn. biul. In-tu biolohii tvaryn ta Derzh.n.-d. kontrol. in-tu vetpreparativ ta korm. dobavok [Scientific-technical bul. Institute of Animal Biology and Gos. n.d. control. other veterinary products and feed. additives]. no. 20, no. 2, pp. 67–74. Available at: <https://doi.org/10.36359/scivp.2019-20-2.09>
20. Hryshchuk, H.P., Revunets, A.S. (2016). Sklad tkanynnoho preparatu vyhotovlenoho z matky riznykh vydiv tvaryn [Composition of tissue preparation made from the uterus of different species of animals]. Biologija tvaryn. 2016. T. 18, № 3: Aktual'ni problemy suchasnoi' biologii', tvarynnystva ta veterinarnoi' medycyny: materialy mizhnar. nauk.-prakt. konf., 29–30 veres [Animal biology. 2016. T. 18, № 3: Actual problems of modern biology, animal husbandry and veterinary medicine: materials of the international. scientific-practical Conf., Sept. 29-30]. 131 p.
- Тканевые препараты как эффективное средство коррекции половой цикличности бесплодных коров в условиях Лесостепи Житомирщины**
Ревунец А.С., Гришук Г. П., Веремчук Я. Ю.
Внедрение новейших технологий воспроизводства животных вызывает изменения в жизнедеятельности их организма и влияет на проявление половой цикличности. Как результат, одними из основных задач специалистов ветеринарной медицины является ликвидация бесплодия телок и коров, совершенствование методов регуляции их воспроизводительной функции.
В последние годы в ветеринарной медицине, с профилактической и лечебной целью, в отдельности, так и в комбинации с другими средствами во время беременности, в послеродовой период, при гинекологических болезнях, для стимуляции функции полового аппарата животных, а также при их выращивании для повышения производительности достаточно эффективно применяют биогенные стимуляторы, изготовлены из тканей и органов животных и растений – тканевые препараты. Однако недостаточно изученными остаются изменения в половом аппарате бесплодных коров при их использовании.
Именно поэтому целью исследований было изучить действие тканевых препаратов в комплексе с ихглюковитом для коррекции полового цикла бесплодных коров в условиях Лесостепи Житомирской области.
Установлено, что у коров при применении тканевого препарата, изготовленного из печени, плаценты и ихглюковита, время результативного осеменения было минимальным и составляло $47,0 \pm 5,11$ суток. Также наблюдали положительное влияние на полноценность течения полового цикла при использовании в комплексе тканевых препаратов из печени и плаценты, как результат – бесплодие на корову составляло $17,00 \pm 1,14$ суток.
Поскольку всем опытным животным вводили ихглюковит, а срок возникновения полноценного полового цикла и эффективность осеменения у коров были разными, то, предполагаем, что изменения в организме животных обусловлены, прежде всего, влиянием тканевых препаратов. Считаем, что применение «плацентарного» тканевого препарата, изготовленного из матки стельных коров вместе с содержащим было самым результативным, потому что в его состав входят биологически активные вещества, которые подобны половому аппарату коровы.
Анализируя полученные результаты, рекомендуем применять тканевый препарат из печени, плаценты и ихглюковит в дозе по 20 см^3 из расчета на одно животное, трехкратно с интервалом 8–10 суток с целью коррекции полового цикла и профилактики бесплодия.
Ключевые слова: биогенный стимулятор, тканевый препарат, ихглюковит, воспроизводство, половой цикл, бесплодие, коровы.

Tissue preparations as an effective means of correction of sexual cyclicity of infertile cows in the conditions of forest-steppe zone in Zhytomyr region

Revunets A., Gryshchuk G., Veremchuk Ya.

Implementation of the latest technologies of animal reproduction causes changes in the life of their body and influences the manifestation of sexual cyclicity. As a result, one of the main tasks of specialists of veterinary medicine is the elimination of infertility of cows and heifers and improvement of methods of regulation of their reproductive functions.

In recent years, in veterinary medicine for prophylactic and therapeutic purposes individually or in combination with other agents during pregnancy, in the postpartum period for gynecological diseases, to stimulate the functions of the sexual apparatus of animals, and their farming to improve productivity effectively used biogenic stimulators, that are made of tissues and organs of animals and plants – tissue preparations. But remain changes of the sexual apparatus of infertile cows are not studied in their use.

Therefore, the purpose of the research was to study the effect of tissue preparations in a complex with ihglukovit for the correction of the sexual cycle of the infertile cows in the conditions of forest-steppe in Zhytomyr region.

It has been found that the using tissue preparations make from the liver and placenta and ihglukovit for cows, time successful insemination was minimal and was 47.0 ± 5.11 days. We also observed a positive effect on the usefulness of the flow of the sexual cycle when used in complex tissue preparations from the liver and placenta, as a consequence of infertility in the cow was of 17.00 ± 1.14 days.

As all experienced animals received ihglukovit, and the period of occurrence of complete sexual cycle and the effectiveness of insemination of cows was different, then we assume that the changes in animals are due primarily to the influence of tissue preparations. We believe that the using of "placental" tissue preparation make from the uterus of pregnant cows with contents was the most effective, because it includes biologically active substances that are similar to the sexual apparatus of a cow.

Analyzing the obtained results, we recommend to apply the tissue preparation liver, placenta and ihglukovit at a dose of 20 cm^3 per animal, three times with an interval of 8-10 days to correct the sexual cycle of cattle and prevention of infertility.

Key words: biogenic stimulant, tissue preparation, ihglukovit, reproduction, sexual cycle, infertility, cows.



Copyright: © Ревунець А.С., Гришук Г.П., Веремчук Я.Ю. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Ревунець А.С.
Гришук Г.П.
Веремчук Я.Ю.

ID <https://orcid.org/0000-0002-1098-5283>
ID <https://orcid.org/0000-0001-7092-2412>
ID <https://orcid.org/0000-0002-9285-7110>

ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.98:619:616.11

Видовий склад циркулюючої мікрофлори та її стійкість до антибактеріальних препаратів в умовах ТОВ «Квант Систем»

Кісера Я.В.¹ , Божик Л.Я.¹ , Гриневич Н.Є.² , Сторчак Ю.Г.¹ ¹ Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького² Білоцерківський національний аграрний університет

Кісера Я.В., E-mail: kiser53@ukr.net; Божик Л.Я., E-mail: lbozyk31@gmail.com;

Гриневич Н.Є., E-mail: gnatbc@ukr.net; Сторчак Ю.Г., E-mail: juliettus1@gmail.com



Кісера Я.В., Божик Л.Я., Гриневич Н.Є., Сторчак Ю.Г. Видовий склад циркулюючої мікрофлори та її стійкість до антибактеріальних препаратів в умовах ТОВ «Квант систем». Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 12–20.

Kisera Ja.V., Bozhyk L.Ja., Grynevych N.Je., Storchak Ju.G. Vydovij sklad cyrkuljuchoj mikroflory ta i'i' stijkist' do antibakterial'nyh preparativ v umovah TOV «Kvant system». Naukovyj visnyk veterinary medycyny, 2020. № 1. PP. 12–20.

Рукопис отримано: 11.12.2019р.

Прийнято: 20.01.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-12-20

Нагромадження умовно-патогенних бактерій у водному середовищі може призвести до змін у структурі мікробіоценозу поверхневих покривів, кишкового тракту риб, що в свою чергу зумовлює розвиток патологічних процесів у їхньому організмі, знижує бар'єрні функції тканин, слизу і, як наслідок, може індукувати розвиток бактеріальних інфекцій. Тому, для оцінки стану організму риб потрібно враховувати аналіз епізоотичної ситуації у водоймах (наявність інфекційних та інвазійних хвороб риб, загибель райдужної форелі); стан шкірного покриву, зябер та шлунково-кишкового тракту.

Результати бактеріологічних досліджень змивів зі шкіри, зябер та кишечника засвідчили, що в умовах господарства серед райдужної форелі різних вікових груп циркулює *E. coli*, *E. coli* із слабоферментативними властивостями, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* та *Citrobacter spp.*

За визначення чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів встановлено, що *Enterobacter spp.* чутливі до енрофлоксацину, котримаксазолу, доксациліну, хлорамфеніколу, гентаміцину, цефтріаксону, цефоперазону, цефтазидиму і цефпірому та проявили стійкість до окситетрацикліну, амоксициліну і ампіциліну субальтаму. *E. coli* проявила стійкість до амоксициліну і цефпірому та чутливість до енрофлоксацину, окситетрацикліну, котримаксазолу, доксациліну, хлорамфеніколу, ампіциліну субальтаму, гентаміцину, цефтріаксону, цефоперазону, цефтазидиму. *Klebsiella pneumoniae* стійка до енрофлоксацину, амоксициліну та ампіциліну субальтаму, а *Flavibacterium spp.* – до амоксициліну та ампіциліну субальтаму, а до всіх інших антибактеріальних препаратів чутливі.

Ключові слова: райдужна форель, мікрофлора, шкіра, зябра, кишечник, антибактеріальні препарати, стійкість, чутливість.

Постановка проблеми. В останнє десятиліття підвищилися вимоги до безпечності та якості риби і морепродуктів. Згідно з прийнятими законами України [6, 7] виробник риби несе повну відповідальність за її безпеку та якість.

Розвиток аквакультури залежить від фізіологічного стану організму риб та механізмів їх природної резистентності, здатності організму протистояти впливу патогенних чинників навколишнього середовища, в тому числі збудників інвазійних та інфекційних захворювань,

що зумовлюють пригнічення захисних функцій організму [4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Використання інтенсивних форм вирощування риби в садках дозволяє перевести риборізнництво на промислову основу. Проте методи інтенсифікації, що застосовують у форелівництві, призводять до погіршення гідрохімічного режиму за рахунок забруднення водного середовища продуктами метаболізму, залишками корму, сприяють активізації зростання чисель-

ності не тільки сапрофітної мікрофлори, а й умовно-патогенної і патогенної. Все це може зумовити розвиток інфекційних хвороб форелі бактеріальної етіології [3, 8, 14].

Збільшення кількості умовно-патогенних бактерій у водному середовищі може призвести до змін у структурі мікробіоценозу поверхневих покривів, кишкового тракту риб, що в свою чергу зумовлює розвиток патологічних процесів у їхньому організмі, знижує бар'єрні функції тканин, слизу [12, 13].

Серед численних мікробних популяцій водного середовища та об'єктів аквакультури особливе місце посідають грамнегативні бактерії, до складу яких входять як умовно-патогенні, так і патогенні бактерії – збудники інфекційних захворювань риб. Такі інфекційні захворювання риб як фурункульоз (*Aeromonas salmonicida*), хвороба “червоного рота” лососевих риб (*Yersinia ruckeri*), бактеріальна геморагічна септицимія (*Aeromonas hydrophila*), колумнарна хвороба (*Flavobacterium columnare*), бактеріальна септицимія сома (*Edwardsiella ictaluri*), псевдомоноз *Pseudomonas spp.* та хвороба “холодної води” (BCWD) (*Flavobacterium psychrophila*) широко поширені у всьому світі і призводять до значних економічних збитків в рибному господарстві [10]. Проведення комплексного моніторингу дає можливість виявляти та вчасно попереджувати захворювання риб, запобігати впливу негативних чинників на здоров'я та продуктивність, а також зменшити збитки господарств і підвищити економічні показники господарської діяльності [5, 9].

Мета роботи – визначити видовий склад циркулюючої бактеріальної мікрофлори в умовах господарства ТОВ «Квант Систем» та її стійкість до антибактеріальних препаратів. Для досягнення мети були поставлені наступні завдання: провести бактеріологічні дослідження змивів шкірного покриву, зябер та кишечника різних вікових груп райдужної форелі; вивчити морфологічні властивості виділеної мікрофлори та визначити чутливість її до антибактеріальних препаратів.

Матеріал та методи досліджень. Дослідження проводили в умовах господарства ТОВ «Квант Систем» у с. Лози Збаразького району Тернопільської області та кафедри епізоотології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Для досліджень від особин райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss*) масою 2 г (3 міс.), 10 г (5–6 міс.), 80 г (8–10 міс.), 150 г (11–12 міс.), 350 г (13–16 міс.) брали змиви зі шкірного покриву, зябер та кишечника.

Первинні бактеріологічні посіви проводили за загальноприйнятими методиками [2]. Досліджуваний матеріал висівали на середовище Ендо та кров'яний агар. Визначення приналежності до роду ентеробактерій проводили шляхом пересіву виділених колоній штрихом по скошеній частині та уколом у стовпчик середовища Олькеницького (трицукровий агар із сечовиною), принцип дії якого полягає у ферментації вуглеводів та утворенні сірководню. Для подальшої ідентифікації – з використанням середовища Гісса з глюкозою, сахарозою, лактозою, манітом; середовища Сімонса, ацетатного середовища та тесту на рухливість. Ідентифікацію виділених штамів бактерій встановлювали за сукупністю культуральних, морфологічних і біохімічних ознак за Берджі [11]. Для вивчення чутливості до антибіотиків ізоляти висівали на середовище Мюллера-Хілтона.

Результати досліджень та їх обговорення.

За результатами бактеріологічних досліджень змивів зі шкіри, відібраних від молоді райдужної форелі масою до 2 г виявлено *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae* у 100 % проб; в 90 % проб були наявні *E. coli* слабоферментативна та *Staphylococcus spp.* (табл. 1). У молоді масою 10 г встановлено *E. coli* у 100 % проб; *E. coli* із зміненою ферментативною активністю – у 60 % проб; *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae* – у 100 % проб. Від риб масою 80 г виділили *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae* та *Staphylococcus spp.* у 100 % випадків.

За визначення концентрації мікроорганізмів на шкірному покриві форелі масою 150 г встановили наявність *E. coli* та *Enterobacter spp.* у всіх досліджуваних пробах. Дослідження складу мікрофлори товарної риби масою до 350 г показали, що на шкірному покриві наявні *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Flavobacterium spp.* у 100 % проб.

Під час дослідження складу мікрофлори зябер райдужної форелі виявлено в пробах відібраних від молоді масою 2 г *E. coli* та *Enterobacter spp.* у 100 % проб та *Staphylococcus spp.* у 20 % досліджуваних проб; у риб масою до 10 г – *E. coli*, *E. coli* слабоферментативну, *Klebsiella pneumoniae* – у всіх пробах та наявність *Staphylococcus spp.* у 90 % досліджуваних проб; у молоді масою 80 г – *E. coli*, *E. coli* слабоферментативну та *Enterobacter spp.* – у всіх пробах; у риб масою 150 г – *E. coli*, *E. coli* слабоферментативну, *Enterobacter spp.* та *Citrobacter spp.* – у 100 % проб; у всіх досліджуваних пробах відібраних від товарної риби масою 350 г виявляли *E. coli*, *E. coli* слабоферментативну та *Enterobacter spp.* (табл. 2).

Таблиця 1 – Видовий склад мікрофлори, виділеної зі змивів шкіри райдужної форелі, КУО, n = 5

№ п/п	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> (слабо-ферм.)	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Flavibacteriu spp.</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Риба масою 2 г						
1	10 ³	10 ²	10 ²	10 ²	-	10 ²
2	10 ⁴	10 ²	10 ²	-	-	10 ³
3	10 ³	-	10 ²	10 ²	-	10 ²
4	10 ⁵	10 ²	10 ¹	10 ²	-	10 ²
5	10 ⁴	10 ²	10 ³	10 ²	-	10 ²
Риба масою 10 г						
1	10 ³	10 ¹	10 ³	-	-	10 ²
2	10 ⁴	-	10 ²	-	-	10 ²
3	10 ⁴	-	10 ²	-	-	10 ²
4	10 ⁴	10 ¹	10 ³	-	-	10 ³
5	10 ²	10 ¹	10 ²	-	-	10 ²
Риба масою 80 г						
1	10 ⁵	-	10 ²	10 ¹	-	10 ²
2	10 ⁵	-	10 ²	10 ¹	-	10 ³
3	10 ⁴	-	10 ²	10 ¹	-	10 ²
4	10 ⁴	-	10 ²	10 ¹	-	10 ²
5	10 ⁵	-	10 ²	10 ¹	-	10 ²
Риба масою 150 г						
1	10 ⁵	-	10 ³	-	-	-
2	10 ⁵	-	10 ³	-	-	-
3	10 ⁴	-	10 ⁴	-	-	-
4	10 ⁵	-	10 ³	-	-	-
5	10 ⁵	-	10 ²	-	-	-
Риба масою 350 г						
1	10 ⁵	-	10 ²	-	10 ²	-
2	10 ⁵	-	10 ²	-	10 ²	-
3	10 ⁵	-	10 ³	-	10 ²	-
4	10 ⁵	-	10 ²	-	10 ³	-
5	10 ⁵	-	10 ³	-	10 ²	-

Під час дослідження змивів із кишечника райдужної форелі у пробах відібраних від молоді до 2 г виявлено *E. coli*, *E. coli* із слабоферментативними властивостями, *Enterococcus spp.*, *Enterobacter spp.* у 100 % досліджуваних проб та *Staphylococcus spp.* у 60 % проб; у риб масою до 10 г – *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae* – у всіх досліджуваних пробах (табл. 3).

У всіх пробах змивів із кишечника відібраних від риб масою 80 та 150 г виділили *E. coli*, *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae*.

Дослідження складу мікрофлори товарної риби масою до 350 г показали, що у кишечника наявні *E. coli*, *E. coli* слабоферментативна, *Enterobacter spp.* та *Klebsiella pneumoniae* у 100 % досліджуваних проб.

Проведені культуральні та біохімічні дослідження з метою ідентифікації збудників показали наявність збудників із різними ферментативними властивостями. Зокрема, виділено на середовищі Ендо округлі, гладкі колонії ешерихій, з рівними краями. Лактозопозитивні

бактерії на живильному середовищі росли у вигляді червоних колоній, з металевим блиском.

Під час проведення ідентифікації мікроорганізмів за біохімічними властивостями встановлено наявність *E. coli* (рис. 1), які ферментативно активні та рухливі. У них добре виражені цукролітичні властивості: розщеплюють глюкозу, лактозу, маніт, сахарозу до кислоти і газу, не використовують цитрат натрію в середовищі Сімонса (без змін) та утилізують ацетат натрію. Під час проведення посіву на середовище Олькеницького спостерігали зміну забарвлення всього середовища з червоного на жовте, що свідчить про ферментацію збудником цукрів, а також виділення CO₂.

E. coli із слабоферментативними властивостями, на середовищі Ендо проростали у вигляді рожевих або безбарвних колоній з червонуватим центром (рис. 2). За визначення біохімічних властивостей колоній встановлено, що вони не розщеплювали глюкозу та сахарозу, проте мали здатність ферментувати маніт

Таблиця 2 – Видовий склад мікрофлори, виділеної зі змивів зябер райдужної форелі, КУО, n = 5

№ п/п	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> (слабо-ферм.)	<i>Enterobacter</i> <i>spp.</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i>	<i>Citrobacter</i> <i>spp.</i>	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>
Риба масою 2 г						
1	10 ⁵	-	10 ²	-	-	-
2	10 ⁵	-	10 ²	10 ¹	-	-
3	10 ⁴	-	10 ³	-	-	-
4	10 ⁵	-	10 ²	-	-	-
5	10 ⁵	-	10 ²	-	-	-
Риба масою 10 г						
1	10 ⁴	10 ²	-	10 ¹	-	10 ³
2	10 ³	10 ²	-	10 ¹	-	10 ³
3	10 ⁴	10 ²	-	10 ¹	-	10 ²
4	10 ⁴	10 ²	-	10 ¹	-	10 ³
5	10 ⁵	10 ²	-	-	-	10 ³
Риба масою 80 г						
1	10 ⁴	10 ³	10 ²	-	-	-
2	10 ⁵	10 ³	10 ²	-	-	-
3	10 ⁴	10 ²	10 ²	-	-	-
4	10 ⁴	10 ²	10 ²	-	-	-
5	10 ⁴	10 ³	10 ²	-	-	-
Риба масою 150 г						
1	10 ³	10 ²	10 ³	-	10 ²	-
2	10 ⁴	10 ³	10 ⁴	-	10 ²	-
3	10 ⁵	10 ²	10 ⁴	-	10 ²	-
4	10 ⁴	10 ²	10 ²	-	10 ²	-
5	10 ⁵	10 ²	10 ²	-	10 ²	-
Риба масою 350 г						
1	10 ⁵	10 ²	10 ³	-	-	-
2	10 ⁵	10 ²	10 ³	-	-	-
3	10 ⁴	10 ²	10 ⁴	-	-	-
4	10 ⁵	10 ²	10 ⁴	-	-	-
5	10 ⁵	10 ²	10 ³	-	-	-

Рис. 1. *E. Coli*.

1. Рухливість. 2. Глюкоза. 3. Сахароза. 4. Лактоза. 5. Маніт.
6. Середовище Сімонса. 7. Ацетатне середовище. 8. Середовище Олькеницького.

Рис. 2. *E. coli* слабоферментативна.

та лактозу до кислоти і газу, не використовували цитрат натрію в середовищі Сімонса та утилізували ацетат натрію. Під час проведення посіву на середовище Олькеницького спостерігали зміну забарвлення всього середовища з червоного на жовте, а також виділення газу.

Цей різновид кишкової палички прямої небезпеки для організму риб зазвичай не становить. Вона займає місце повноцінної *E. coli*, не виконуючи при цьому властивих повноцінних *E. coli* корисних функцій. В результаті організм недоотримує необхідні йому вітаміни,

Таблиця 3 – Видовий склад мікрофлори, виділеної зі змивів кишечника райдужної форелі, КУО, n = 5

№ п/п	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> (слабо-ферм.)	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
Риба масою 2 г						
1	10 ⁴	10 ²	10 ²	10 ²	10 ¹	-
2	10 ⁵	10 ²	10 ²	10 ²	10 ¹	-
3	10 ⁴	10 ²	10 ²	10 ²	-	-
4	10 ⁴	10 ²	10 ²	10 ²	-	-
5	10 ⁴	10 ²	10 ²	10 ²	10 ¹	-
Риба масою 10 г						
1	10 ⁴	-	-	10 ³	-	10 ²
2	10 ⁴	-	-	10 ³	-	10 ²
3	10 ⁵	-	-	10 ²	-	10 ²
4	10 ⁴	-	-	10 ³	-	10 ²
5	10 ⁴	-	-	10 ³	-	10 ²
Риба масою 80 г						
1	10 ⁴	-	-	10 ³	-	10 ²
2	10 ⁵	-	-	10 ⁴	-	10 ²
3	10 ⁴	-	-	10 ⁴	-	10 ²
4	10 ⁴	-	-	10 ³	-	10 ²
5	10 ⁵	-	-	10 ³	-	10 ²
Риба масою 150 г						
1	10 ⁵	-	-	10 ³	-	10 ²
2	10 ⁴	-	-	10 ²	-	10 ²
3	10 ⁵	-	-	10 ²	-	10 ²
4	10 ⁵	-	-	10 ⁴	-	10 ²
5	10 ⁵	-	-	10 ³	-	10 ²
Риба масою 350 г						
1	10 ⁵	10 ²	-	10 ²	-	10 ²
2	10 ⁵	10 ²	-	10 ³	-	10 ²
3	10 ⁵	10 ²	-	10 ⁴	-	10 ²
4	10 ⁶	10 ²	-	10 ⁴	-	10 ²
5	10 ⁴	10 ²	-	10 ³	-	10 ²

ферменти та інші корисні речовини, синтезовані повноцінними ешеріхіями, що в підсумку може призвести до серйозних обмінних порушень і навіть запальних захворювань. Відомо також, у разі дисбіотичних порушень мікробіоценозного гомеостазу відбувається здебільшого збільшення чисельності представників аеробної частини мікрофлори (зокрема ешеріхій зі зниженою ферментативною активністю) та посилення агресивного потенціалу цих бактерій [1]. Це сприяє подоланню ними бар'єру проєпителиального шару кишечника, транслокації у внутрішнє середовище організму та розвитку позакишкових форм інфекцій і ускладнень.

За комплексом культуральних і біохімічних ознак виділено колонії, із роду *Enterobacter spp.* (рис. 3), які на середовищі Олькеницького ферментували глюкозу з утворенням газу, розщеплювали сечовину та не утворювали сірководень. За мікроскопії мазків клітини мали вигляд прямих тонких паличок, забарвлених за Грамом негативно. Не рухливі, використовують цитрат натрію у середовищі Сімонса та ацетатному середовищі,

розщеплюють глюкозу, маніт, сахарозу до кислоти і газу. Слабко ферментують лактозу.

За сукупністю культурально-біохімічних ознак, виявлено у пробах *Flavibacterium spp.*, які фарбуються за Грамом негативно, рухливі (рис. 4). На середовищі Олькеницького розщеплюють сечовину. Не ферментують глюкозу, лактозу, маніт та сахарозу. Не використовують цитрат та ацетат натрію.

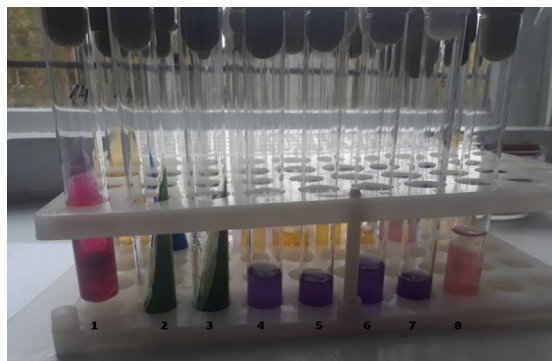
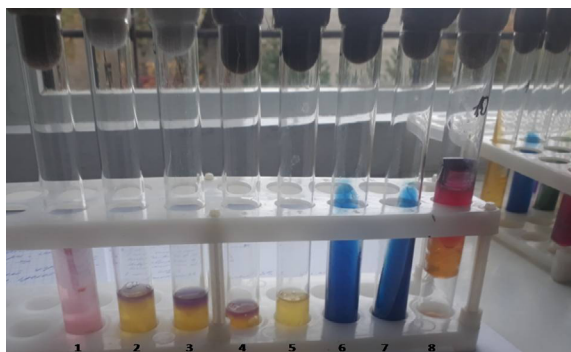
Виділено *Citrobacter spp.*, які на середовищі Олькеницького ферментували лактозу та глюкозу з утворенням газу, розщеплювали сечовину та утворювали сірководень, не рухливі, здатні рости (використовувати цитрат натрію) на середовищі Сімонса та ацетатному середовищі, розщеплюють глюкозу, маніт, лактозу до кислоти і газу (рис. 5). Слабко ферментують сахарозу.

Виділено у пробах *Klebsiella pneumoniae*, яка на середовищі Ендо росла у вигляді малинових слизистих, тягучих колоній (рис. 6).

За пересіву на середовище Олькеницького – ферментувала лактозу та глюкозу з утворенням газу, розщеплювала сечовину та не

Рис. 3. *Enterobacter spp.*

1. Середовище Олькеницького. 2. Ацетатне середовище. 3. Середовище Сімонса.
4. Маніт. 5. Лактоза. 6. Сахароза. 7. Глюкоза. 8. Рухливість.

Рис. 4. *Flavibacterium spp.*Рис. 5. *Citrobacter spp.*

1. Рухливість. 2. Глюкоза. 3. Сахароза. 4. Лактоза. 5. Маніт.
6. Середовище Сімонса. 7. Ацетатне середовище. 8. Середовище Олькеницького.

Рис. 6. *Klebsiella pneumoniae.*

утворювала сірководень. Ростає на середовищі Сімонса та ацетатному середовищі, розщеплювала лактозу і сахарозу до кислоти і газу. Слабо ферментувала маніт і глюкозу.

За визначення чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів встановлено, що *Enterobacter spp.* чутливі до енрофлораксацину, котримаксазолу, доксаміцину, хлорамфеніколу, гентаміцину, цефтріаксону, цефоперазону, цефтазидиму і цефпірому та проявили стійкість до окситетрацикліну, амоксициліну і ампіциліну субальктам (табл. 4). *E. coli* проявила стійкість до амоксициліну і цефпірому та чутливість до енрофлораксацину, окситетрацикліну, котримаксазолу, доксаміцину, хлорамфеніколу, ампіциліну субальктам, гентаміцину, цефтріаксону, цефоперазону, цефтазидиму. *Klebsiella pneumoniae* стійка до енрофлораксацину, амоксициліну та ампіциліну субальктам, а *Flavibacterium spp.* – до амоксициліну та ампіциліну субальктам, а до всіх інших антибактеріальних препаратів чутливі.

Мікрофлора риб є чутливим індикатором їх фізіологічного стану, якості живлення, змін у

водному середовищі. Систематичний контроль її складу дає можливість виявляти та вчасно запобігати виникненню хвороб риб та впливу інших негативних чинників на їх здоров'я та продуктивність.

В результаті проведених бактеріологічних досліджень змивів зі шкіри, зябер та кишечника встановлено, що в умовах господарства ТЗО «Квант Системс» серед райдужної форелі різних вікових груп циркулює *E. coli*, в т.ч. із слабоферментативними властивостями, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* та *Citrobacter spp.*

За визначення чутливості виділених культур до антибактеріальних препаратів встановлено, що *Enterobacter spp.* проявили стійкість до окситетрацикліну, амоксициліну і ампіциліну субальктам, *E. coli* стійка до амоксициліну і цефпірому, *Klebsiella pneumoniae* та *Flavibacterium spp.* – до енрофлораксацину, амоксициліну та ампіциліну субальктам, а *Flavibacterium spp.* – до амоксициліну та ампіциліну субальктам. До всіх інших антибактеріальних препаратів чутливі.

Тому, основну увагу потрібно звертати на гідрохімічний режим водойм, підвищення неспецифічної резистентності організму риб (згодовування доброякісних збалансованих кормів з необхідною кількістю вітамінів), своєчасне проведення дезінфекції басейнів, ставів та інвентарю, а також запобігати стресуванню риби під час рибоводних маніпуляцій.

Висновки. 1. В умовах господарства ТОВ «Квант Систем» серед райдужної форелі різних вікових груп циркулює така бактеріальна мікрофлора: *E. coli*, *E. coli* слабоферментативна, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* та *Citrobacter spp.*

2. *Enterobacter spp.* стійкі до окситетрацикліну, амоксициліну і ампіциліну субальбату. *E. coli* стійка до амоксициліну і цефпірому. *Klebsiella pneumoniae* стійка до енрофлоксацину, амоксициліну, ампіциліну субальбату. *Flavibacterium spp.* – до амоксициліну та ампіциліну субальбату.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Експериментальні дослідження проводили відповідно до Закону України «Про захист від жорстокого поводження з тваринами» від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р.

Відомості про конфлікт інтересів. Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Войда Ю.В. Фенотипові прояви біологічного різноманіття клінічних ізолятів *Escherichia coli*. Медичні науки Scientific Journal «Science Rise». 2015. 10/3(15). С. 91–96. Doi: <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.51835>
2. Висоцький А.Є., Барановская З.Н. Справочник по бактериологическим методам изысканий в ветеринарии. Изд. Министерства с.-х. республики Беларусь. 2002. 900 с.
3. Вовк Н.І. Іхтіопатологічні дослідження — важлива складова біомоніторингу водойм. Рибогосподарська наука України. 2009. № 3. С. 106–108. URL: <http://fsu.ua/index.php/ru/2009/3-2009-9/2009-03-106-109>.
4. Ідентифікація небезпечних чинників під час вирощування райдужної форелі в умовах замкнутого водопостачання / Н.Є. Гриневич та ін. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. 2017. Т. 19. № 78. С. 48–52. Doi: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7810>.

5. Давидов О.М., Куровська Л.Я. Сучасна епізоотологічна ситуація іхтіофауни прісноводних водойм України. Вісник ДАУ: науково-теоретичний збірник. Житомир, 2007. № 2 (19). Т. 1. С. 101–106. URL: http://ir.znau.edu.ua/bitstream/123456789/6498/1/VZNAU_2007_2_1_101-106.pdf.

6. Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів: Закон України № 771/97 ВР (23.12.1997) та № 191-У від 24.10.2002. В редакції Закону № 2042-VIII від 04.04.2018.

7. Про рибу, інші водні живі ресурси та харчову продукцію з них: Закон України № 486-IV від 06.02.2003. Відомості Верховної Ради України.

8. Кухтин М.Д., Малімон З.В., Ярошенко Т.Я., Покотило О.С. Зміна біохімічних і мікробіологічних показників замороженої риби за наявності залишкових кількостей антибактеріальних препаратів. Медична та клінічна хімія. 2019. Т. 21. № 3. С. 78–84. Doi: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i3.10563>

9. Патогены, рыба и среда обитания / О.Н. Давыдов и др. Київ: Інститут зоології НАН України, 1998. 250 с.

10. Рудь Ю.П. Ідентифікація грамнегативних бактерій у риб методом ПЛР- ПДРФ гену 16s PPHK. Рибогосподарська наука України. 2013. № 1. С. 80–86.

11. Хоулт Дж. Краткий определитель бактерий Берджи. Москва: Мир, 1997. 444 с.

12. Matvienko N.M., Vashchenko A.V., Tsiganok I.O., Buchatsky L.P. Results of surveillance studies of infectious fish diseases in freshwater aquaculture of Ukraine. Agricultural Science and Practice. 2015. Vol. 2. № 2. P. 32–37. Doi: <https://doi.org/10.15407/agrisp2.02.032>

13. Cunnigam C.O. Molecular diagnosis of fish and shellfish disease: present status and potential use in disease control. Aquaculture. 2002. Vol. 206. P. 19–55. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00864-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00864-X).

14. Woo P.T.K., Bruno D.W. Fish Diseases and Disorders. Vol. 3. 2011. Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI. 944 p.

REFERENCES

1. Vojda, Ju.V. (2015) Fenotipovi прояви biologichnogo riznomanittja klinichnih izoljatov *Escherichia coli* [Phenotypic manifestations of clinical diversity of clinical isolates *Escherichia coli*]. Medichni nauki Scientific Journal «Science Rise» [Medical Sciences Scientific Journal «Science Rise»]. 10/3(15), pp. 91–96. Available at: <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.51835>
2. Vysoc'kyj, A.Je., Baranovskaja, Z.N. (2002) Spravochnik po bakteriologicheskim metodam izyskanij v veterinarii [Handbook of bacteriological research methods in veterinary medicine]. Izd. Ministerstva s.-h. respubliki Belarus' [Publishing House of the Ministry of Agriculture The Republic of Belarus]. 900 p.

3. Vovk, N.I. (2009) Ihtiopatologichni doslidzhennja — vazhliva skladova biomonitoringu vodojm. Ribogospodars'ka nauka Ukrainy. no. 3. pp. 106–108. Available at: <http://fsu.ua/index.php/ru/2009/3-2009-9/2009-03-106-109>.

4. Grynevych, N.Je., Diman', T.M., Kuhtin, M.D. (2017). Identifikacija nebezpečnih činnikiv pid čas viroshhuvannja rajduzhnoi foreli v umovah zamknutogo vodopostachannja [Identification of hazardous factors during rainbow trout cultivation under closed water supply]. Naukovij visnik LNUVMB imeni S.Z. G'zhyc'kogo [Scientific Bulletin Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Vol. 19, no. 78, pp. 48–52. Available at: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7810>.

5. Davidov, O.M., Kurovs'ka, L.Ja. (2007). Suchasna epizootologichna situacija ihtiofauni prysnovodnih vodojm Ukrainy [The current epizootological situation of ichthyofauna of freshwater bodies of water of Ukraine]. Visnik DAU: naukovo-teoretichnij zbirnik [GAU Bulletin: scientific and theoretical collection]. Zhytomyr, no. 2 (19), Vol. 1, pp. 101–106. Available at: http://ir.znau.edu.ua/bitstream/123456789/6498/1/VZNAU_2007_2_1_101-106.pdf.

6. Pro osnovni pryncypy ta vymogy do bezpečnosti ta jakosti harchovyh produktiv: Zakon Ukrainy № 771/97 VR (23.12.1997) ta № 191-U vid 24.10.2002. V redakcii' Zakonu № 2042-VIII vid 04.04.2018 [On the basic principles and requirements for safety and security of this product: Law of Ukraine No. 771/97 BP (23.12.1997) and No. 191-U of 24.10.2002. As amended by Law No. 2042-VIII of 04/04/2018].

7. Pro rybu, inshi vodni zhyvi resursy ta harchovu produkciju z nyh: Zakon Ukrainy № 486-IV vid 06.02.2003. Vidomosti Verhovnoi' Rady Ukrainy [On fish, other aquatic living resources and food products: Law of Ukraine No. 486-IV of 06.02.2003. Information of the Verkhovna Rada of Ukraine].

8. Kuhtin, M.D., Malimon, Z.V., Jaroshenko, T.Ja., Pokotilo, O.S. (2019). Zmina biohimichnyh i mikrobiologichnyh pokaznykiv zamorozhenoi' ryby za najavnosti zalyshkovykh kil'kostej antybakterial'nyh preparativ [Change of biochemical and microbiological parameters of frozen fish in the presence of residual amounts of antibacterial preparations]. Medichna ta klinichna himija [Medical and clinical chemistry]. Vol. 21, no. 3, pp. 78–84. Available at: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i3.10563>

9. Davydov O.N., Isaeva N.M., Balahnin I.A., Kurovs'ka L.Ja., Prosjanaja V.V., Kozinenko I.I. (1990). Patogeny, ryba i sreda obitanija [Pathogens, fish and habitat]. K.: Institute of Zoology of the NAS of Ukraine, 250 p.

10. Rud', Ju.P. (2013) Identyfikacija gramnegatyvnyh bakterij u ryb metodom PLR- PDRF genu 16s RRNK [Identification of gram-negative bacteria in fish by PCR-RFLP gene 16s RNA]. Rybogospodars'ka nauka Ukrainy [Fisheries Science of Ukraine]. no. 1, pp. 80–86.

11. Hoult, Dzh. (1997). Kratkij opredelitel' bakterij Berdzhii [Brief Guide to Buggy Bacteria]. 444 p.

12. Matvienko, N.M., Vashchenko, A.V., Tsiganok, I.O., Buchatsky, L.P. (2015). Results of surveillance studies of infectious fish diseases in freshwater aquaculture of Ukraine. Agricultural Science and Practice. Vol. 2, no. 2, pp. 32–37. Available at: <https://doi.org/10.15407/agrisp2.02.032>

13. Cunningham, C.O. (2002) Molecular diagnosis of fish and shellfish disease: present status and potential use in disease control. Aquaculture. Vol. 206, pp. 19–55. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00864-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00864-X).

14. Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (2011). Fish Diseases and Disorders. Vol. 3. Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI, 944 p.

Видовой состав циркулирующей микрофлоры и ее устойчивость к антибактериальным препаратам в условиях ООО «Квант Систем»

Кисера Я.В., Божик Л.Я., Гриневич Н.Е., Сторчак Ю.Г.

Накопление количества условно-патогенных бактерий в водной среде может привести к изменениям в структуре микробиоценоза поверхностных покровов, кишечника рыб, что в свою очередь обуславливает развитие патологических процессов в их организме, снижает барьерные функции тканей, слизи и, как следствие, может индуцировать развитие бактериальных инфекций. Таким образом, при оценке состояния организма рыб нужно учитывать анализ эпизоотической ситуации в водоемах (наличие инфекционных и инвазионных болезней рыб, гибель рыбы), состояние кожного покрова, жабр и желудочно-кишечного тракта.

Результаты бактериологических исследований смывов с кожи, жабр и кишечника показали, что в условиях хозяйства среди радужной форели разных возрастов циркулирует *E. coli*, *E. coli* с измененной ферментативной активностью, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* и *Citrobacter spp.*

При определении чувствительности выделенных культур к антибактериальным препаратам установлено, что энтеробактерии чувствительны к энрофлоксацину, котримаксозолу, доксицилину, хлорамфениколу, гентамицину, цефтриаксону, цефоперазону, цефтазидиму и цефпирому и проявили устойчивость к окситетрациклину, амоксициллину и ампициллину субалькату. Кишечная палочка проявила устойчивость к амоксициллину и цефпирому и чувствительность к энрофлоксацину, окситетрациклину, котримаксозолу, доксицилину, хлорамфениколу, ампициллину субалькату, гентамицину, цефтриаксону, цефоперазону, цефтазидиму; клебсиеллы были устойчивы к энрофлоксацину, амоксициллину и ампициллину субалькату, а флавибактерии — к амоксициллину и ампициллину субалькату, ко всем другим антибактериальным препаратам — чувствительны.

Ключевые слова: радужная форель, микрофлора, кожа, жабры, кишечник, антибактериальные препараты, устойчивость, чувствительность.

Specific composition of microflora circulating at the FARM “Quant System” and its resistance to antibacterial medicines**Kisera Ya., Bozhyk L., Grynevych N., Storchak Yu.**

Accumulation of opportunistic pathogenic bacteria in the aquatic environment may lead to the changes in the structure of the surface cover microbiocenosis as well as the fish intestinal tract. In its turn, it causes the growth of pathological processes in the fish organism, reduces the barrier functions of tissues and mucus and, as a consequence, may induce the spread of bacterial infections. Thus, assessing the state of fish organism, it is necessary to take into account the analysis of the epizootic situation in water (i.e. presence of infectious and invasive diseases of fish, death of fish) as well as condition of the skin, gills and gastrointestinal tract.

The results of bacteriological studies of washes from the skin, gills and intestines showed that in the conditions of farming among rainbow trout of different age groups, *E.*

coli, low fermented *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Flavibacterium spp.*, *Enterococcus spp.* and *Citrobacter spp.*

For the purposes of determining the sensitivity of isolated cultures to antibacterial drugs, it was found that *Enterobacteriaceae* are sensitive to enrofloxacin, cotrimoxazole, doxycillin, chloramphenicol, gentamicin, ceftriaxone, cefoperazone, ceftazidime and ceftiofur and resistant to oxytetracycline, amoxicillin and ampicillin sulbactam.

E. coli also demonstrated resistance to amoxicillin and ceftiofur and sensitivity to enrofloxacin, oxytetracycline, cotrimoxazole, doxycillin, chloramphenicol, ampicillin sulbactam, gentamicin, ceftriaxone, cefoperazone, ceftazidime. *Klebsiella pneumoniae* was resistant to enrofloxacin, amoxicillin and ampicillin sulbactam, while *Flavobacteriaceae* were resistant to amoxicillin and ampicillin sulbactam and sensitive to all other antibacterial drugs.

Key words: rainbow trout, microflora, skin, gills, intestines, antibacterial agents, resistance, sensitivity.



Copyright: © Кісера Я.В. та ін. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Кісера Я.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-3503-4572>

Божик Л.Я.

ID <https://orcid.org/0000-0001-6968-1690>

Гриневич Н.Є.

ID <https://orcid.org/0000-0001-7430-9498>

Сторчак Ю.Г.

ID <https://orcid.org/0000-0001-8318-0120>

ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 636.09:614.4:579.842.1/.2:57.063.8

Ідентифікація бактерій роду *Salmonella* та сероварів *Enteritidis* і *Typhimurium* методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР-РЧ)

Рубленко Н.М.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

✉ Rublenko@biocontrol.com.ua



Рубленко Н.М. Ідентифікація бактерій роду *Salmonella* та сероварів *Enteritidis* і *Typhimurium* методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР-РЧ). Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С.21–31.

Rublenko N.M. Identifikacija bakterij rodu *Salmonella* ta serovariv *Enteritidis* i *Typhimurium* metodom polimeraznoi' lancjugovoi' reakcii v real'nomu chasi (PLR-RCh). Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 21–31.

Рукопис отримано: 06.05.2020р.

Прийнято: 15.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-21-31

У статті наведено результати ідентифікації бактерій роду *Salmonella* методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР-РЧ). Було сконструйовано три пари фланкуючих праймерів та флуоресцентні зонди, які дозволяють одночасно ідентифікувати рід *Salmonella*, а також серовари *Enteritidis* та *Typhimurium* у полімеразній ланцюговій реакції в реальному часі. Оцінку специфічності набору праймерів проводили на штамів бактерій роду *Salmonella* різних сероварів Національного центру штамів мікроорганізмів (НЦШМ) Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ) та на 46 польових штамів роду *Salmonella*, що були ізольовані від птиці. Для перевірки специфічності праймерів у якості гетерологічних зразків було використано штами *E. Coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes* ATCC 19112 з колекції НЦШМ. Виділення ДНК бактерій проводили з використанням набору «ДНК-сорб Б» (Амплісенс), постановку реакції ПЛР в реальному часі виконували з реагентами «Набору для ПЛР-РЧ» (Синтол) на приладі Bio-rad CFX.

Для оцінки чутливості праймерів було досліджено серію 10-кратних розведень ДНК *S. Typhimurium* та *S. Enteritidis*: 10^{-1} – 10^{-5} . Встановлено, що аналітична чутливість праймерів для детекції роду *Salmonella* складає: для *S. typhimurium* – 0,25 нг/зразок (*Typhimurium*) та *S. Enteritidis* – 0,27 нг/зразок (*Enteritidis*).

У результаті проведених досліджень підтверджено специфічність набору праймерів та високу чутливість. Встановлено відсутність гібридизації праймерів зі зразками ДНК інших видів бактерій, зокрема, відмічено відсутність неспецифічних продуктів реакції. Також встановлено специфічність наборів праймерів для детекції ДНК сероварів *Enteritidis* та *Typhimurium*. За потреби дані набори праймерів можна використовувати для постановки мультиплексного варіанта ПЛР-РЧ, що дозволить одночасно ідентифікувати бактерії роду *Salmonella* та диференціювати серовари *Enteritidis* і *Typhimurium*.

Ключові слова: *Salmonella*, бактерії, полімеразна ланцюгова реакція, ДНК, ПЛР у режимі реального часу.

Постановка проблеми. Щороку захворюваність на сальмонельоз зростає, що призводить до значних збитків у агропромислових господарствах [1]. Переважно це стосується птахівництва. Зростання поголів'я птахів у промислових господарствах призводить до пропорційного зростання ризику інфікування сальмонелами харчових продуктів [2]. Най-

частіше за контролю виявляють ізоляти сальмонел, що належать до убівітарних сероварів *Enteritidis*, *Typhimurium*, *Nadar*, *Kentucky*, *Infantis*, *Heidelberg* [3].

Циркуляція сальмонел в межах господарств промислового птахівництва спричинена особливістю перебігу інфекції серед поголів'я. Інфікована птиця з безсимптомним перебігом

інфікує воду, корми, предмети догляду та підстилку [4].

Додатковим чинником, який ускладнює контроль та можливі шляхи ліквідації сальмонельозу є значна антигенна різноманітність збудника, здатність виробляти резистентність до антибактеріальних препаратів та чинники, що підвищують патогенність окремих популяцій [5].

На сьогодні для контролю над сальмонельозною інфекцією розроблено програми, що дозволяють охопити малі приватні господарства та великі промислові підприємства з виробництва м'яса птиці та яєць і яєчних продуктів.

В Україні з 2016 року діє Інструкція з профілактики та ліквідації сальмонельозу птиці [6]. В країнах ЄС контроль здійснюють відповідні заклади ветеринарної медицини та референс-лабораторії з сальмонельозу. Відповідно до цих інструкцій, постановку діагнозу здійснюють за умови виділення чистої живої культури бактеріологічними методами [7].

Додатковими методами є імуноферментні та молекулярно-біологічні. Полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі є одним із найбільш перспективних методів. Основна відмінність цієї модифікації методу – збільшена чутливість, специфічність та скорочення часу до отримання результату [8–9].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У загальній структурі патології птиці сальмонела має особливе значення, оскільки через високу антигенну різноманітність може спричинювати як спалахи захворюваності у господарствах, наслідком яких є високий падіж, так і субклінічний інфекційний процес [10]. При цьому значно знижується продуктивність птиці та відбувається контамінація м'яса і яєць [11].

Номенклатура антигенної структури сальмонел періодично оновлюється Референтним центром з дослідження сальмонел BOO3 – WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Відповідно до останньої редакції, що була опублікована у 2007 році, рід *Salmonella* включає 2579 сероварів. Серед них 22 відносять до виду *bongori*, а 2557 – до виду *enterica* [12]. Серовари виду *bongori* найчастіше виділяють від холонокровних тварин, хоча вони також можуть бути збудниками сальмонельозу у ссавців та людей. Щодо інфікування птиці сальмонелами виду *bongori* у науковій літературі є мало даних, описані лише поодинокі випадки виділення сальмонел виду *bongori* з курячих яєць та від синантропних птахів [13; 14]. З цього можна зробити висновок, що *bongori* не має значного впливу на епізоотичний процес у птиці.

Серовари Pullorum та Gallinarum найчастіше спричиняють захворювання у курчат, індиків та

фазанів, рідше – у перепелів, качок, цесарок та павичів [15]. Смертність може досягати 100 %. Це залежить насамперед, від віку птиці, вгодованості, умов утримання та наявності супутніх інфекцій, оскільки відомо, що за несприятливих умов знижується резистентність сальмонелозів [16]. В Україні збудники пулорозу і тифу птиці досі є одними з найбільш поширених ізолятів сальмонел, які виділяють за моніторингу [17].

Серовари Enteritidis та Typhimurium є часково адаптованими збудниками. Зумовлюють сальмонельоз у молодяку птиці, а в дорослого поголів'я перебігають субклінічно [6]. Однак у інфікованої дорослої птиці відмічають зниження продуктивності та інтенсивну колонізацію кишечника, внаслідок чого відбувається контамінація підстилки, кормів та води фекаліями, що містять сальмонелу [16].

Таким чином, небезпеку для птахівництва становлять як адаптовані серовари, які спричиняють системну інфекцію у птиці, так і неадаптовані – збудники хронічної інфекції. У першому випадку виникає висока смертність поголів'я птиці, зменшення продуктивності, що наносить значні економічні збитки. Насамперед це витрати на протиепізоотичні заходи, що включають дезінфекцію, оновлення стад і вакцинацію. Адаптовані та частково адаптовані серовари становлять небезпеку в першу чергу для харчової продукції. Тому моніторинг епізоотичної ситуації в промислових господарствах є першою ланкою у процесі забезпечення ветеринарно-санітарного контролю.

Виділення чистої культури – еталонний метод діагностики бактеріальних інфекцій, який є основним, хоча і може доповнюватися імунологічними та молекулярно біологічними методами [6, 7]. Початкові етапи бактеріологічної діагностики сальмонельозу завжди включають попереднє збагачення дослідного зразка на забуференій пептонній воді та селективне збагачення на середовищах, що пригнічують ріст бактерій *Proteus spp.* і грампозитивної мікрофлори. Після цього дослідні зразки культивують на селективних і диференційних хромогенних середовищах з наступним підтвердженням роду *Salmonella* та визначенням серовару у реакції аглютинації за схемою Вайта-Кауфмана [12].

Однак у бактеріологічного методу є свої недоліки:

1) значна тривалість у часі. Кожен етап – преселективне збагачення, селективне накопичення та диференціація – займає не менше 18 годин [18];

2) трудомісткість. Метод потребує використання великої кількості посуду, середовищ та тривалої роботи фахівців-мікробіологів;

3) необхідність високої концентрації збудника, оскільки за його невеликої кількості у відібраному зразку не завжди вдається виділити культуру, що призводить до хибно негативних результатів.

З розвитком молекулярної біології значно-го поширення у діагностиці та впровадження у рутинну практику набув метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). За допомогою ПЛР можливо виявити генетичний матеріал збудника у низьких концентраціях, особливо це стосується модифікації ПЛР у реальному часі (далі – ПЛР-РЧ), яка крім ідентифікації дозволяє провести кількісний аналіз.

ПЛР-РЧ можна використовувати як для детекції однієї мішені, так і для мультиплексних реакцій [19, 20]. Так, у ПЛР-РЧ можна одночасно підтвердити належність бактерії до роду *Salmonella* та диференціювати її відповідно до серовару – Enteritidis та Typhimurium.

Мета роботи – провести ідентифікацію ДНК ізолятів роду *Salmonella* в полімеразній ланцюговій реакції у реальному часі та підтвердити серовари Enteritidis і Typhimurium.

Матеріал і методи дослідження. Виділення препаратів ДНК виконували за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб» (Амплі-сенс), згідно з інструкціями виробників. Концентрацію препаратів ДНК визначали спектрофотометрично («NanoDrop 1000C»).

Для постановки реакції використовували набір реагентів (Синтол) для ПЛР в реальному часі. Реакційна суміш складалася з 10х буфера, 25 мМ MgCl₂, ДНК-полімерази SynTaq (5 О/мкл), суміші dNTP у концентрації 2,5 мМ, води, 10 пмоль/мкл фланкуючих праймерів та 10 пмоль/мкл флуоресцентного зонду. У пробірці об'ємом 0,2 мл додавали 22 мкл реакційної суміші та 3 мкл ДНК.

За результатами досліджень було сконструйовано 3 пари праймерів та зонди для ідентифікації роду *Salmonella*, сероварів *S. Typhimurium* та *S. Enteritidis*. Аналіз гомології нуклеотидних послідовностей та підбір праймерів проводили з використанням програмного забезпечення Vector NTI™ v.11.0.1 (Invitrogen, США). Зонди було синтезовано за технологією TaqMan [21].

Реакцію ампліфікації проводили на приладі Bio-rad CFX (США) з використанням наступного термопрофілю:

1: 95,0 °C 5:00

2: 95,0 °C 0:15

3: 60,0 °C 0:50

Флуоресценцію вимірювали за каналами Cy5 (*S. Typhimurium*), HEX (*S. Enteritidis*) та FAM (*Salmonella spp.*). Облік результатів аналізу проводили на основі наявності або відсутності перетину кривої флуоресценції з пороговою лінією (що відповідає наявності/відсутності значення порогового циклу Ct у відповідній графі в таблиці результатів).

Інтерпретацію результатів ПЛР-РЧ проводили відповідно до таблиці 2.

Як референтні зразки використовували ДНК штамів з Колекції Національного центру штамів (НЦШМ) Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ): *S. Adabraka* 1, *S. Abortusovis* 372, *S. Typhimurium* 371, *S. Typhimurium* 144, *S. Typhimurium* B, *S. Typhimurium* 3, *S. Enteritidis* P1, *S. Enteritidis* M, *S. Pullorum* K, *S. Choleraesuis* 9, *S. Choleraesuis* 370, *S. Dublin* 373.

ДНК штамів *E. Coli* ATCC25922, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes* ATCC 19112 з Колекції НЦШМ були використані як гетерологічні зразки.

Таблиця 1 – Послідовності олігонуклеотидних праймерів та зондів, використаних у дослідженні

Праймер	55'	Послідовність	3'	Tm	%GC	
dSTY-F		GCTGCTACAACCACCGAAAAC	-	54,8 °C	60	Typhimurium
dSTY-R		GATACGGCTACGGGCAGAAAG	-	53,9 °C	60	
dSTY-proba	Cy5	CAACCTGGGCAACACCTAAACAAC	RTQ2	62,3 °C	50	
dSE-F	-	CGTTATTGCCGAGGTGGATT	-	54,0 °C	50	Enteritidis
dSE-R	-	TAAGGGGAGAGGGAAAGATGG	-	53,8 °C	52,4	
dSE-proba	HEX	TGAGCCAAAACATATCCCATCCATT	BHQ2	60,4 °C	38,5	
dSsp-F	-	CTGTTTACCGGCATACCATC	-	53,5 °C	52,4	<i>Salmonella spp.</i>
dSsp-R	-	TCGCACTGAATATCGTACTGGC	-	54,4 °C	50	
dSproba	FAM	CAAAACCCACCGCCAGGCTATCG	BHQ1	65 °C	60,9	

Таблиця 2 – Таблиця значень, що використовуються для обліку результатів

Результат	Значення «Ct» по каналу «Cy5»	Значення «Ct» по каналу «HEX»	Значення «Ct» по каналу «FAM»
Позитивний	≤38	≤38	≤38
Сумнівний	>38	>38	>38
Негативний	≥ 40	≥ 40	≥ 40

Статистичну обробку результатів (обчислення стандартного відхилення SD) проводили за допомогою програми Excel (Microsoft 365) і "Bio-Rad CFX Manager 2.1" (v. 2.1.1022.0523).

Результати дослідження. Об'єктом дослідження були 12 штамів *S. enterica* з колекції НЦШМ та 46 польових штамів *Salmonella enterica*: *Salmonella* Hadar, *Salmonella* Kentucky, *Salmonella* Virchow, 3 польових штами *Salmonella* Infantis, 4 *Salmonella* Gallinarum, 14 *Salmonella* Typhimurium та 21 *Salmonella* Enteritidis.

Для розрахунків було відібрано 97 повногеномних послідовностей з електронних баз даних: GenBank (США), EMBL (Європейська молекулярно-біологічна бібліотека) та DDBJ (Японська база даних). Після вирівнювання та аналізу гомології нуклеотидних послідовностей було обрано можливі таргетні гени для ПЛР в реальному часі.

Як таргетний ген для *Salmonella spp.* обрано ген *invA*. Для ідентифікації серовару Enteritidis ми обрали ген *fljC*, який кодує джгутиковий антиген I фази, специфічний для даного серовару [22, 23]. Таргетним геном для ідентифікації серовару Enteritidis став ген гіпотетичного білка, що містить домен DUF1391. Специфічність фланкуючих праймерів перевіряли у програмі BLAST 2.0 (NCBI, США).

Облік та інтерпретацію результатів ПЛР-РЧ виконували за наявності або відсутності перетину кривої флуоресценції з встановленою на відповідному рівні пороговою лінією (Ct). Зразок вважали позитивним, якщо значення Ct становило ≤ 38 , за відсутнього значення Ct негативного контролю. Зразок вважали негативним, якщо значення Ct були відсутні.

Після оптимізації умов реакції, усі варіанти були перевірені на діагностичну специфічність, яку визначали за критерієм нездатності праймерів гібридизуватись з ДНК гетерологічних зразків, про що свідчила відсутність будь-яких значень у цих пробах за детекції флуоресценції на відповідному каналі. Специфічність складала 100 % (табл. 3, рис. 1).

У негативних зразках та зразках із сторонніми збудниками були відсутні значення порогового циклу Ct, а в позитивних зразках, що містили ДНК *Salmonella spp.*, Ct не перевищувало встановлених меж для позитивного значення (≤ 38), що свідчить про специфічність щодо виявлення ДНК *Salmonella spp.* Реакцію проводили у трьох повторях та обчислювали стандартне відхилення (SD). У таблицях 3 і 5 наведено середнє значення Ct та SD.

Аналітичну чутливість олігонуклеотидних праймерів dSsp-F/dSsp-R/ dS-proba визначали шляхом тестування серії 10-кратних розведень ДНК паралельно для *S. Typhimurium* та *S. Enteritidis*. З цією метою спектрофотометрично було визначено початкову концентрацію ДНК в зразку, яка становила 20,5 нг (*Typhimurium*) та 27,0 нг (*Enteritidis*) (рис. 3, табл. 4).

Межею виявлення (limit of detection, LOD) вважали останнє розведення ДНК, за якого спостерігається збільшення росту кривої флуоресценції, а отримане значення Ct по каналу FAM становить ≤ 38 .

Отримані результати свідчать, що аналітична чутливість праймерів dSsp-F/dSsp-R/dS-proba до ДНК бактерій роду *Salmonella* складає: для *S. Typhimurium* – 0,25 нг/зразок; *S. Enteritidis* – 0,27 нг/зразок (табл. 4).

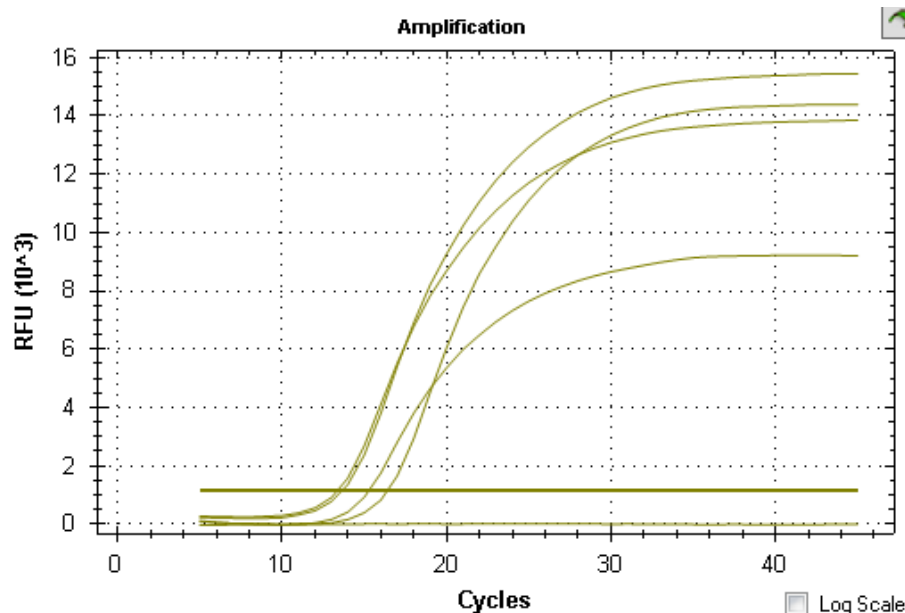


Рис. 1. Результат перевірки в ПЛР-РЧ праймерів, специфічних до *Salmonella spp.*

Таблиця 3 – Результати перевірки специфічності праймерів (за каналом FAM) до штамів *Salmonella enterica* різних сероварів та до гетерологічних зразків

Штам	Середнє значення Ct	SD	Результат, щодо наявності ДНК <i>Salmonella spp</i>
S. Adabraka 1	15,82	0,28	Позитивний
S. Abortusovis 372	16,25	0,23	Позитивний
S. Typhimurium 371	15,41	0,43	Позитивний
S. Typhimurium 144	15,44	0,43	Позитивний
S. Typhimurium B	16,15	0,15	Позитивний
S. Typhimurium 3	17,13	0,16	Позитивний
S. Dublin 373	16,15	0,21	Позитивний
S. Enteritidis P1	16,95	0,09	Позитивний
S. Enteritidis M	15,84	0,34	Позитивний
S. Choleraesuis 9	16,90	0,10	Позитивний
S. Choleraesuis 370	16,04	0,46	Позитивний
S. Gallinarum Pullorum K	17,88	0,30	Позитивний
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	Негативний
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	-	-	Негативний
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19112	-	-	Негативний
Негативний контроль	-	-	Негативний
S. Enteritidis DN1	16,17	0,08	Позитивний
S. Enteritidis DN3	17,10	0,11	Позитивний
S. Enteritidis N6	23,64	0,45	Позитивний
S. Enteritidis 2679	19,61	0,18	Позитивний
S. Enteritidis GT	16,28	0,46	Позитивний
S. Enteritidis 9	18,34	0,15	Позитивний
S. Enteritidis 15	19,06	0,05	Позитивний
S. Enteritidis G22	19,05	0,02	Позитивний
S. Enteritidis 10	25,25	0,07	Позитивний
S. Enteritidis K13	17,12	0,17	Позитивний
S. Typhimurium PN	15,55	0,27	Позитивний
S. Typhimurium 000173	16,87	0,42	Позитивний
S. Typhimurium 771	17,75	0,37	Позитивний
S. Typhimurium 16	14,79	0,35	Позитивний
S. Typhimurium VM1	18,75	0,44	Позитивний
S. Typhimurium VM2	17,19	0,16	Позитивний
S. Typhimurium VM3	17,98	0,07	Позитивний
S. Typhimurium VM4	15,97	0,12	Позитивний
S. Typhimurium VM5	17,63	0,29	Позитивний
S. Gallinarum 15	16,75	0,35	Позитивний
S. Gallinarum 25	16,23	0,21	Позитивний
S. Gallinarum N1	15,99	0,38	Позитивний
S. Gallinarum 31	18,12	0,09	Позитивний
S. Hadar	18,93	0,15	Позитивний
S. Kentucky	16,74	0,19	Позитивний
S. Infantis00317	16,67	0,43	Позитивний
S. Infantis21	18,94	0,07	Позитивний
S. Virchow L116	16,53	0,43	Позитивний
S. Virchow 8v	18,19	0,16	Позитивний

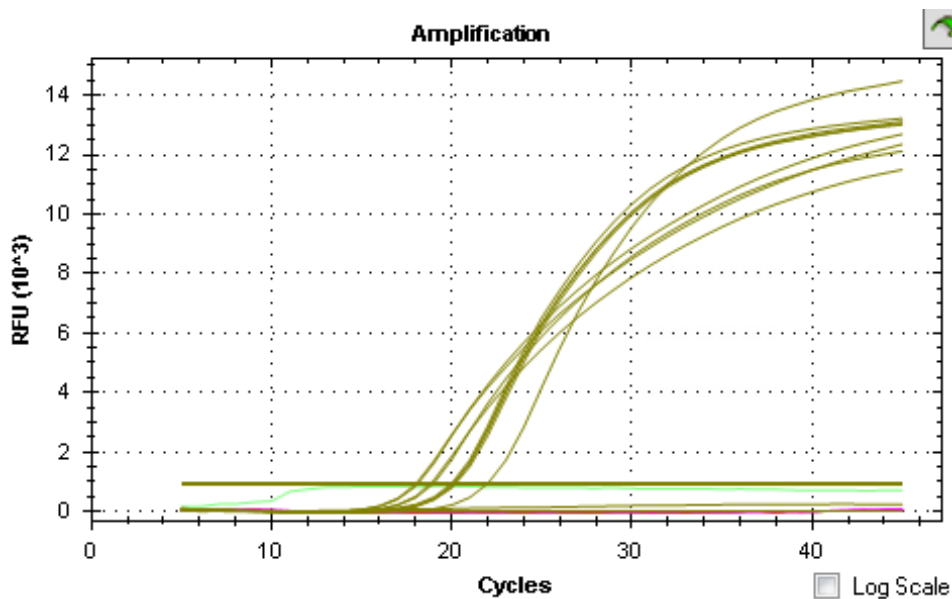


Рис. 2. Перевірка в ПЛР-РЧ специфічності праймерів dSsp-F/dSsp-R/dSp-proba до різних сероварів бактерій роду *Salmonella*.

Таблиця 4 – Визначення аналітичної чутливості праймерів dSsp-F/dSsp-R/dS-proba до ДНК бактерій роду *Salmonella*

№	Розведення ДНК (<i>S. Typhimurium</i>)	Значення Ct за каналом FAM (<i>S. Typhimurium</i>)	Розведення ДНК (<i>S. Enteritidis</i>)	Значення Ct за каналом HEX (<i>S. Enteritidis</i>)
1	20,5 нг	21,03	27,0 нг	20,20
2	$1,0 \times 10^{-1}$	23,66	$1,0 \times 10^{-1}$	23,98
3	$1,0 \times 10^{-2}$	27,81	$1,0 \times 10^{-2}$	27,16
4	$1,0 \times 10^{-3}$	30,93	$1,0 \times 10^{-3}$	30,24
5	$1,0 \times 10^{-4}$	34,09	$1,0 \times 10^{-4}$	34,22
6	$1,0 \times 10^{-5}$	36,95	$1,0 \times 10^{-5}$	36,82
7	K _{Typh} (-)	-	K _{Ent} (-)	-

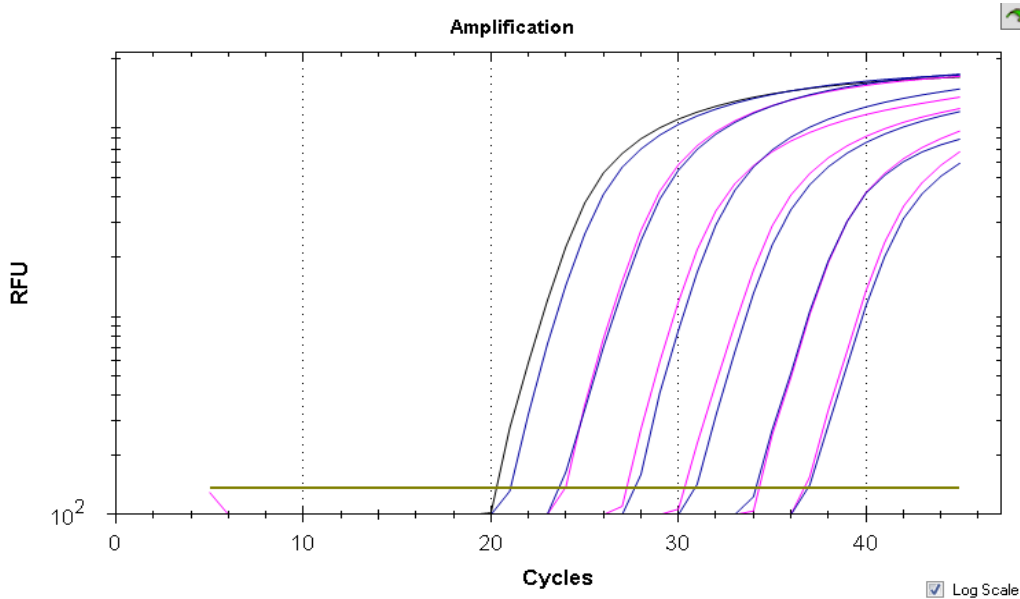


Рис. 3. Перевірка аналітичної чутливості праймерів dSsp-F/dSsp-R/ dS-proba до ДНК бактерій роду *Salmonella*.

Таблиця 5 – Визначення специфічності праймерів сероварів *S. Enteritidis* та *S. Typhimurium*

Зразок	FAM (<i>Salmonella spp</i>)		HEX (Enteritidis)		Cy5(Typhimurium)	
	Ct середнє	SD	Ct середнє	SD	Ct середнє	SD
S. Enteritidis DN1	16,17	0,08	25,10	0,12	-	-
S. Enteritidis DN3	17,10	0,11	21,60	0,25	-	-
S. Enteritidis GT	16,28	0,46	30,47	0,26	-	-
S. Enteritidis 9	18,34	0,15	35,64	0,37	-	-
S. Enteritidis P81	18,86	0,23	21,50	0,47	-	-
S. Enteritidis 4v	35,03	0,15	33,85	0,18	-	-
S. Gallinarum 15	16,75	0,35	-	-	-	-
S. Gallinarum N1	15,99	0,38	-	-	-	-
S. Gallinarum 31	18,12	0,09	-	-	-	-
S. Typhimurium PN	15,55	0,27	-	-	20,46667	0,352184
S. Typhimurium VM1	18,75	0,44	-	-	21,95667	0,295691
S. Typhimurium S1	18,96	0,19	-	-	37,45333	0,240069
S. Typhimurium L1	27,02	0,14	-	-	35,66	0,308058
S. Typhimurium Pg1	31,33	0,31	-	-	32,09	0,291033
S. Enteritidis L2	22,13	0,17	23,30	0,41	-	-
S. Enteritidis PN	18,87	0,36	29,07	0,10	-	-
S. Enteritidis K13	17,12	0,17	21,22	0,14	-	-
S. Infantis PN	22,74	0,48	-	-	-	-
S. Virchow L116	30,79	0,38	-	-	-	-
S. Typhimurium 000173	16,87	0,42	-	-	31,12	31,17
S. Typhimurium 771	17,75	0,37	-	-	33,15	34,01
S. Typhimurium 16	14,79	0,35	-	-	26,24	26,22
S. Typhimurium VM2	17,19	0,16	-	-	25,18	25,98
S. Typhimurium VM 3	17,98	0,07	-	-	19,33	19,65
S. Typhimurium VM 4	15,97	0,12	-	-	27,29	27,24
S. Typhimurium VM 5	17,63	0,29	-	-	18,43	18,54
S. Typhimurium M1003	22,30	0,21	-	-	29,15	29,33
S. Typhimurium PgA2	21,38	0,17	-	-	32,12	32,57
S. Enteritidis N6	23,64	0,45	32,05	0,08	-	-
S. Enteritidis 2679	19,61	0,18	34,06	0,10	-	-
S. Enteritidis 15	18,26	0,42	23,25	0,08	-	-
S. Enteritidis G22	19,05	0,02	21,50	0,47	-	-
S. Enteritidis 6PR	21,59	0,37	30,61	0,42	-	-
S. Enteritidis S0822	22,56	0,15	27,07	0,07	-	-
S. Enteritidis S1	19,85	0,19	27,40	0,24	-	-
S. Enteritidis T16	19,47	0,48	19,03	0,04	-	-
S. Enteritidis P18	23,37	0,34	32,91	0,23	-	-
S. Enteritidis 4	27,20	0,03	26,71	0,41	-	-
S. Enteritidis PgA	28,28	0,33	23,24	0,28	-	-
S. Enteritidis 10	25,25	0,07	25,74	0,35	-	-

З метою оцінки специфічності праймерів, що диференціюють серотипи *S. Enteritidis* і *S. Typhimurium*, були використані польові штами та штами НЦШМ (табл. 5).

За необхідності праймери для *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* та *Salmonella spp.* можуть бути використані в мультиплексному варіанті ПЛР-РЧ, оскільки відрізняються за

розміром фрагменту та не утворюють вторинних структур між собою (рис. 4).

Обговорення. Метод полімеразної ланцюгової реакції є перспективним у лабораторній діагностиці бактеріальних інфекцій, зокрема,

варіальне інфікування [26]. За даними EFSA серовар Enteritidis є домінуючим у стадах курей-несучок, і його відсоток зростає з 2016 [27]. У 2017 захворюваність серед людей зросла до 91662 випадків, серед яких у 36,8 % ін-

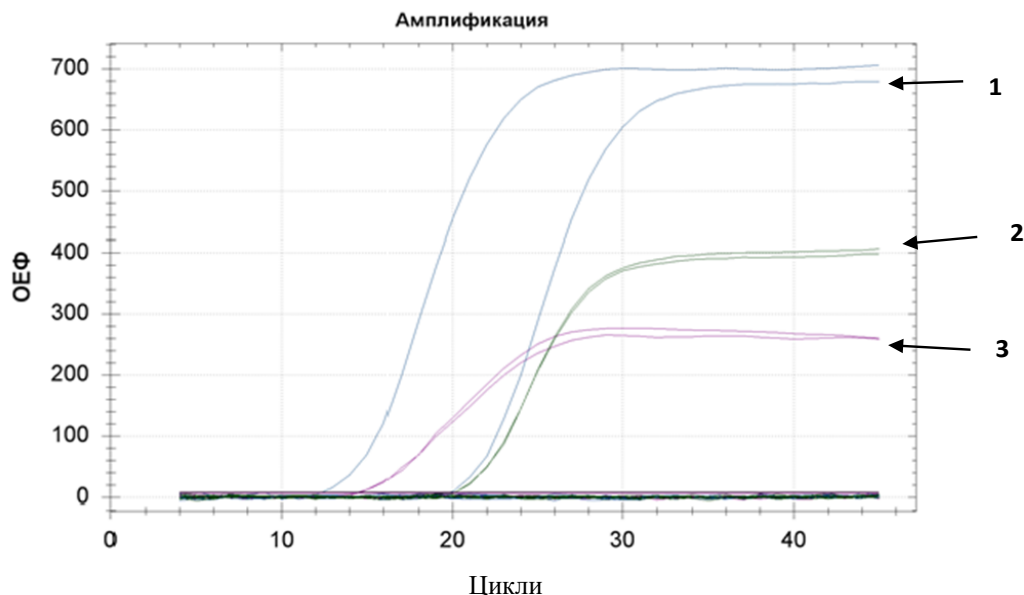


Рис. 4. Використання праймерів в мультиплексному варіанті ПЛР-РЧ:

1 – праймери для *Salmonella spp.*; 2 – праймери для *S. Typhimurium*;

3 – праймери для *S. Enteritidis*.

через швидкість отримання результатів та високу чутливість методу. ПЛР використовують не лише для ідентифікації геному збудника, але, в деяких випадках, і для підтвердження результатів виділення чистої культури бактеріологічним методом та для диференціації вакцинних і польових штамів [24, 25]. Залежно від мети і завдань використовують різні модифікації, найчастіше – полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі.

У даному дослідженні проводили підтвердження роду *Salmonella* та сероварів Enteritidis і Typhimurium у ПЛР-РЧ. Було встановлено, що специфічність даного набору праймерів становить 100 %. Окрім того дані праймери можуть бути використані також і в мультиплексному варіанті, що дозволяє одночасно проводити ідентифікацію роду *Salmonella*, а також сероварів Enteritidis та Typhimurium.

Дані серовари є одними з найбільш поширених. В Україні протягом 2015–2018 років їхня частка становила 35,2 % серед усіх сальмонел, виділених з біологічного та патологічного матеріалу тварин і птиці [17]. Варто зазначити, що ці серовари відносять до неадаптованих, оскільки вони є патогенними для різних видів, зокрема у дорослого поголів'я птиці інфекція перебігає безсимптомно та спричиняє транс-

фекція була спричинена споживанням курячих яєць [27]. Тому існує необхідність ретельного контролю циркуляції нетифоїдних сероварів у птахівництві для безпеки харчової продукції.

Висновки.

1. Доведено специфічність відповідних пар фланкуючих праймерів та зондів до роду *Salmonella* та сероварів Enteritidis і Typhimurium.

2. Встановлено, що аналітична чутливість праймерів dSsp-F/dSsp-R/ dSsp-probe до ДНК бактерій роду *Salmonella* складає: для *S. Typhimurium* – 0,25 нг/зразок; для *S. Enteritidis* – 0,27 нг/зразок.

3. За результатами статистичної обробки отриманих даних встановлено високу збіжність, оскільки при обробці результатів ПЛР-РЧ, проведеної у трьох повторах, статистично значимих розбіжностей не виявлено ($SD \leq 0,5$).

Відомості про дотримання біоетичних норм.

Тварин для дослідження не використовували.

Відомості про конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Стегній Б.Т., Медвідь К.О., Музика Д.В., Рула О.М. Динаміка формування імунної відповіді у курей після щеплення інактивованою бівалентною вакциною проти сальмонельозу птиці. Ветеринарна біотехнологія. 2018. Вип. 32. N. 1. С. 265–271.

2. Biofilm formation by *Salmonella* sp. in the poultry industry: Detection, control and eradication strategies/ L. Merino et al. Food Research International. 2019. Vol. 119. No. July. C. 530–540. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.024>.
3. Andreoletti O., Budka H., Buncic S. Quantitative estimation of the impact of setting a new target for the reduction of *Salmonella* in breeding hens of *Gallus gallus*. EFSA Journal. 2009. Vol. 7. No. 4. C. 1–68. Doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1036>.
4. Инфекционные болезни животных / Бессарабов и др.; под ред. А. А. Сидорчука. Москва: КолосС, 2007. 671 с.
5. Swayne D. E. Diseases of poultry, John Wiley & Sons, Inc. 2013. 1423 p.
6. Інструкція з профілактики та ліквідації сальмонельозу птиці: Наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України 19.09.2016 № 310. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/z1344-16>.
7. Prevention, detection and control of *Salmonella* in poultry / Terrestrial Animal Health Code. Paris. Office International des Epizooties (OIE). 2015.
8. Rapid detection of *Salmonella* in poultry environmental samples using real-time PCR coupled with immunomagnetic separation and whole genome amplification / J.Y. Hyeon et al. Poultry Science. 2019. Vol. 98. No. 12. P. 6973–6979. Doi:<https://doi.org/10.3382/ps/pez425>.
9. Selenite enrichment broth to improve the sensitivity in molecular diagnostics of *Salmonella*/ M.D. Boer et al. Journal of Microbiological Methods. 2019. Vol. 157. No. November 2018. P. 59–64. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.12.018>.
10. Circulation dynamics of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. *Gallinarum* biovar *Gallinarum* in a poultry farm infested by *Dermanyssus gallinae*/ N. Pugliese et al. Medical and Veterinary Entomology. 2019. Vol. 33, No. 1. P. 162–170. Doi:<https://doi.org/10.1111/mve.12333>.
11. Small non-coding RNA STnc640 regulates expression of *fimA* fimbrial gene and virulence of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*/ X. Meng et al. BMC veterinary research. 2019. Vol. 15. No. 1. 319 p. Doi:<https://doi.org/10.1186/s12917-019-2066-7>.
12. Grimont P.A., Weill F.X. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. Paris, France: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. 2007.
13. *Salmonella bongori* 48:z35:- In migratory birds, Italy/ M. Foti et al. Emerging Infectious Diseases. 2009. Vol. 15, No. 3. P. 502–503. Doi:<https://doi.org/10.3201/eid1503.080039>.
14. Characterization of Antibiotic Resistant *Salmonella* spp Isolated from Chicken Eggs of Dhaka City/ M.M. Ahmed et al. Journal of Scientific Research. 2010. Vol. 3. No. 1. 191 p. Doi:<https://doi.org/10.3329/jsr.v3i1.6109>.
15. Shivaprasad, H. L. Fowl typhoid and pullorum disease. OIE Revue Scientifique et Technique. 2000. Vol. 19. No. 2. P. 405–424. Doi:<https://doi.org/10.20506/rst.19.2.1222>.
16. Каришева, А. Ф. "Спеціальна епізоотологія: підручник." Київ: Вища освіта. 2002. 703 с.
17. Поширення сальмонельозу тварин та птиці в Україні у 2015–2018 роках/ І.В. Галка та ін. Ветеринарна біотехнологія. 2019. Том. 35. С. 22–29. Doi:<https://doi.org/10.31073/vet>.
18. Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety / K.M. Lee et al. Food Control. 2015. Vol. 47. P. 264–276. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.011>.
19. Development of a multiplex real-time PCR method for simultaneous detection of *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in raw shrimp/ Z. Zhang et al. Food Control. 2015. Vol. 51. P. 31–36. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.007>.
20. Multiplex real-time PCR and culture methods for detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Salmonella* Thompson in strawberries, a lettuce mix and basil/ S. Delbeke et al. International Journal of Food Microbiology. 2015. Vol. 193. P. 1–7.
21. Jia Y. Chapter 3 – Real-Time PCR: Methods in Cell Biology. Elsevier, 2012. P. 55–68. Doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405914-6.00003-2>.
22. Transcriptional and translational control of the *Salmonella* *fliC* gene/ P. Aldridge et al. Journal of Bacteriology. 2006. Vol. 188. No. 12. P. 4487–4496. <https://doi.org/10.1128/JB.00094-06>.
23. Detection of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by selective amplification of *fliC*, *fliB*, *iroB*, *invA*, *rflB*, STM2755, STM4497 genes by polymerase chain reaction in a monoplex and multiplex format/ M. Shanmugasundaram et al. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2009. Vol. 25. No. 8. P. 1385–1394. Doi:<https://doi.org/10.1007/s11274-009-0025-3>.
24. Simultaneous Detection and Differentiation between Wild-Type and Vaccine Measles Viruses by a Multiplex Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay/ K. Pabbaraju et al. Journal of clinical microbiology. 2019. Vol. 57. No. 4. P. 1–9. Doi:<https://doi.org/10.1128/JCM.01828-18>.
25. A TaqMan probe-based real-time PCR to differentiate porcine epidemic diarrhea virus virulent strains from attenuated vaccine strains/ J. Liu et al. Molecular and Cellular Probes. 2019. Vol. 45. No. April. P. 37–42. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.mcp.2019.04.003>.
26. Rukambile E., Alders R. Infection, colonization and shedding of *Campylobacter* and *Salmonella* in animals and their contribution to human disease : A review. 2019. No. June 2018. P. 1–17.
27. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017 EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2018. EFSA Journal. 2018. Vol. 16(12):5500. 262 p. Doi:<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500>

REFERENCES

1. Stegnij B.T., Majboroda O.V., Medvid' K.O., Muzika D.V., Rula O. M. (2018). Dinamika formuvannja imunnoi vidpovidi u kurej pislja shheplennja inaktivovanoju bivalentnoju vakcinoju proti sal'monel'ozu ptici' [Dynamics of formation of immune response in chickens after vaccination with inactivated bivalent vaccine against avian salmonellosis]. Veterinarna biotekhnologija [Veterinary biotechnology]. Vol. 32(1), pp. 265–271.
2. Merino, L., Procura, F., Trejo, F. M. (2019). 'Biofilm formation by *Salmonella* sp. in the poultry industry: Detection, control and eradication strategies', Food Research International, 119(July), pp. 530–540. Available at:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.024>.

3. Andreoletti, O., Budka, H., Buncic, S. (2009). 'Quantitative estimation of the impact of setting a new target for the reduction of Salmonella in breeding hens of Gallus gallus', EFSA Journal. Vol. 7, no. 4, pp. 1–68. Available at: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1036>.
4. Bessarabov, B.F., Vashutin, A.A., Voronin, E.S. (2007). Infekcionnye bolezni zhivotnyh/Pod red. AA Sidorchuka [Infectious diseases of animals / Bessarabs and others; under the editorship of A.A. Sidorchuk]. Moscow: KolosS, 671 p.
5. Swayne, D. E. (2013). Diseases of poultry. John Wiley & Sons. 1423 p.
6. Instrukcija z profilaktiki ta likvidacii sal'monel'ozu ptici, zatverdzhena Ministerstvom agrarnoi politiki ta prodovol'stva Ukraini 19.09.2016 № 310 [Instruction on prevention and elimination of salmonellosis of poultry: Order of the Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine 09/19/2016 № 310]. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/z1344-16>.
7. Terrestrial Animal Health Code. (2015). In Office International des Epizooties (OIE) editors. Prevention, detection and control of Salmonella in poultry (pp. 1e5). Paris: Office International des Epizooties.France.
8. Hyeon, J.Y., Mann, D.A., Wang, J. (2019). Rapid detection of Salmonella in poultry environmental samples using real-time PCR coupled with immunomagnetic separation and whole genome amplification', Poultry Science. Poultry Science Association Inc. Vol. 98(12), pp. 6973–6979. Available at: <https://doi.org/10.3382/ps/pez425>.
9. Boer, M.D., de Boer, R.F., Lameijer, A. (2019). Selenite enrichment broth to improve the sensitivity in molecular diagnostics of Salmonella. Journal of Microbiological Methods. Elsevier. Vol. 157(November 2018), pp. 59–64. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.12.018>.
10. Pugliese, N., Circella, E., Marino, M. (2019). Circulation dynamics of Salmonella enterica subsp. enterica ser. Gallinarum biovar Gallinarum in a poultry farm infested by Dermanyssus gallinae. Medical and Veterinary Entomology. Vol. 33(1), pp. 162–170. Available at: <https://doi.org/10.1111/mve.12333>.
11. Meng, X., Meng, X., Wang, J. (2019). Small non-coding RNA STnc640 regulates expression of fimA fimbrial gene and virulence of Salmonella enterica serovar Enteritidis', BMC veterinary research. BMC Veterinary Research. Vol. 15(1), 319 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2066-7>.
12. Grimont, P.A., Weill, F.X. (2019). Antigenic formulae of the Salmonella serovars. Paris, France: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. 2007.
13. Foti, M., Aleo, A., Daidone, A. (2009.) Salmonella bongori 48:z35:- In migratory birds, Italy. Emerging Infectious Diseases. Vol. 15, no. 3, pp. 502–503. Available at: <https://doi.org/10.3201/eid1503.080039>.
14. Ahmed, M.M., Rahman, M.M., Mahbub, K.R. (2010). Characterization of Antibiotic Resistant Salmonella spp Isolated from Chicken Eggs of Dhaka City. Journal of Scientific Research. Vol. 3, no. 1, 191 p. Available at: <https://doi.org/10.3329/jsr.v3i1.6109>.
15. Shivaprasad, H. L. (2000) 'Fowl typhoid and pullorum disease', OIE Revue Scientifique et Technique, 19(2), pp. 405–424. Available at: <https://doi.org/10.20506/rst.19.2.1222>.
16. Karisheva, A.F. (2002). "Special'na epizootologija: pidruchnik" ["Special Epizootology: A Textbook"]. Kiiv, Vishha osvita [Kyiv: Higher education]. 703 p.
17. Galka, I.V., Muzikina, L.M., Mandigra, S.S., Chehun, A.I., Sidorenko, T.V., Kravcova, O.L. (2019). Poshirennja sal'monel'ozu tvarin ta ptici v Ukraini u 2015–2018 rokah [Prevalence of salmonellosis in animals and poultry in Ukraine in 2015–2018]. Veterinarna biotekhnologija [Veterinary biotechnology]. Issue 35, pp. 22–29. Available at: <https://doi.org/10.31073/vet>.
18. Lee, K.M., Runyon, M., Herrman, T.J. (2015). Review of Salmonella detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. Food Control. Elsevier Ltd. Vol. 47, pp. 264–276. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.011>.
19. Zhang, Z., Xiao, L., Lou, Y. (2015). Development of a multiplex real-time PCR method for simultaneous detection of Vibrio parahaemolyticus, Listeria monocytogenes and Salmonella spp. in raw shrimp. Food Control. Elsevier Ltd. Vol. 51, pp. 31–36. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.007>.
20. Delbeke, S., Ceuppens, S., Holvoet, K. (2015). Multiplex real-time PCR and culture methods for detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli and Salmonella Thompson in strawberries, a lettuce mix and basil. International Journal of Food Microbiology. Vol. 193, pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.009>.
21. Jia, Y. (2012). Chapter 3 – Real-Time PCR, Methods in Cell Biology. Elsevier. pp. 55–68. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405914-6.00003-2>.
22. Aldridge, P., gnerer, J., Karlinsey, J.E. (2006). Transcriptional and translational control of the Salmonella fliC gene. Journal of Bacteriology. Vol. 188, no. 12, pp. 4487–4496. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.00094-06>.
23. Shanmugasundaram, M., Radhika, M., Murali, H.S. (2009). Detection of Salmonella enterica serovar Typhimurium by selective amplification of fliC, fljB, iroB, invA, rfbJ, STM2755, STM4497 genes by polymerase chain reaction in a monoplex and multiplex format', World Journal of Microbiology and Biotechnology. Vol. 25, no. 8, pp. 1385–1394. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0025-3>.
24. Pabbaraju, K. Gill, K., Wong, A.A. (2019). Simultaneous Detection and Differentiation between Wild-Type and Vaccine Measles Viruses by a Multiplex Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay. Journal of clinical microbiology. Vol. 57, no. 4, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1128/JCM.01828-18>.
25. Liu, J., Li, L. Min., Han, J. quan. (2019). A TaqMan probe-based real-time PCR to differentiate porcine epidemic diarrhea virus virulent strains from attenuated vaccine strains. Molecular and Cellular Probes. Elsevier. Vol. 45, pp. 37–42. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2019.04.003>.
26. Rukambile, E., Alders, R. (2019). Infection, colonization and shedding of Campylobacter and Salmonella in animals and their contribution to human disease : A review. No. June 2018. pp. 1–17.
27. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017 EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). 2018. EFSA Journal 2018. 16(12):5500, 262 p. Available at: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500>

Идентификация бактерий рода *Salmonella* и сероваров *Enteritidis*, *Typhimurium* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ)**Рубленко Н.М.**

В статье представлены результаты идентификации бактерий рода *Salmonella* в полимеразной цепной реакции в реальном времени. Сконструированы три пары фланкирующих праймеров и флуоресцентных зондов, которые позволяют одновременно идентифицировать род *Salmonella*, а также серовары *Enteritidis* и *Typhimurium* в полимеразной цепной реакции в реальном времени. Оценку специфичности набора праймеров осуществляли на штаммах бактерий рода *Salmonella* разных сероваров Национального центра штаммов микроорганизмов (НЦШМ) Государственного научно-контрольного института биотехнологии штаммов микроорганизмов (ДНКИБШМ) и на 46 полевых штаммах рода *Salmonella*, изолированных от птиц. Для оценки специфичности праймеров в качестве гетерологичных образцов были использованы штаммы *E. Coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes* ATCC 19112 из коллекции НЦШМ. Выделение ДНК бактерий проводили с использованием набора «ДНК-сорб Б» (Амплисенс), постановку реакции ПЦР в реальном времени выполняли с реагентами «Набора для ПЦР в реальном времени» (Синтол) на приборе Bio-rad CFX.

Для оценки чувствительности праймеров исследовали серию 10-кратных разведений ДНК *S. Typhimurium* и *S. Enteritidis*: 10^{-1} - 10^{-5} . Установлено, что аналитическая чувствительность праймеров для детекции рода *Salmonella* составляет: для *S. Typhimurium* – 0,25 нг/образец (*Typhimurium*) и *S. Enteritidis* – 0,27 нг/образец (*Enteritidis*).

В результате проведенных исследований подтверждено специфичность набора праймеров и высокую чувствительность. Установлено отсутствие гибридизации праймеров с образцами ДНК других видов бактерий, в частности, отмечено отсутствие неспецифических продуктов реакции. Также подтверждено специфичность наборов праймеров для детекции ДНК сероваров *Enteritidis* и *Typhimurium*. При необходимости данные наборы праймеров могут быть использованы для постановки мультиплексного варианта ПЦР в реальном времени, что позволит одновременно идентифицировать бактерии

рода *Salmonella* и дифференцировать серовары *Enteritidis* и *Typhimurium*.

Ключевые слова: *Salmonella*, бактерии, полимеразная цепная реакция, ДНК, ПЦР в режиме реального времени.

Identification of *Salmonella* spp and serovars *Typhimurium*, *Enteritidis* by qPCR**Rublenko N.**

This article presents the results of the identification of the *Salmonella* genus as well as serovars *Enteritidis* and *Typhimurium* by a real-time polymerase chain reaction. We constructed three pairs of primers and fluorescent probes to simultaneously identify the *Salmonella* genus, serovars *Enteritidis* and *Typhimurium* in a qPCR. The specificity of the primers was evaluated on *Salmonella* strains of different serovars from the National Center for Strains of Microorganisms (UNCMS) strains of the State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms (SSCIBSM) and 46 *Salmonella* strains isolated from poultry. *E. coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes* ATCC 19112 from UNCMS collection were used to check the specificity of the primers as heterologous samples. Bacterial DNA was extracted using a DNA Sorb B (Amplisens) kit, and real-time PCR was accomplished with the "Real-time PCR kit" (Syntol) on Bio-rad CFX.

A series of 10-fold *S. Typhimurium* and *S. Enteritidis* DNA dilutions were studied to evaluate the sensitivity of the primers: 10^{-1} - 10^{-5} . The analytical sensitivity of primers for detection of the genus *Salmonella* is: for *S. Typhimurium* - 0.25 ng/sample (*Typhimurium*) and *S. Enteritidis* - 0.27 ng/sample (*Enteritidis*).

The results of the studies confirmed the specificity of the primer set and the high sensitivity. No hybridization of primers with DNA samples of other bacteria found, in particular, the nonspecific reaction products were absent. The primer sets for the detection of DNA of *Enteritidis* and *Typhimurium* serovars also has high specificity. If necessary, this set of primers can be used to perform a multiplex qPCR, that can simultaneously identify bacteria of the *Salmonella* genus and differentiate *Enteritidis* and *Typhimurium* serovars.

Keywords: *Salmonella*, bacteria, polymerase chain reaction, DNA, qPCR.



Copyright: © Рубленко Н.М. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



UDK 619:615.37:636.4

The effect of dry blood plasma as a biological supplement on pigs

Sysa L.

Vitebsk State Academy of the Veterinary Medicine

 E-mail: lina.sysa.92@mail.ru



Sysa L. The effect of dry blood plasma as a biological supplement on pigs. *Naukovy visnyk veterynarnoi' medycyny*, 2020. № 1. PP. 32–39.

Рукопис отримано: 29.10.2019р.

Прийнято: 05.12.2019р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-32-39

The effect of preparations from whole blood (dry plasma) on the animal organism was studied. In the course of our research, 2 groups of animals with 15 animals in each of 10 days of age were formed on the basis of analogues. The first group of animals was given dry plasma mixed with mixed feed (based on 5% of the feed weight), the second group was the control one and received no additives. Piglets of both groups were kept in the same sanitary and hygienic conditions, every day they evaluated the clinical status of animals, took into account morbidity, mortality, mortality, weighed, and blood was taken for morphological and biochemical blood tests.

It was found that in the group of animals that used dry plasma, they gained weight more intensively during 1.5-2 months than the pigs of the control group, a low percentage of the incidence of pathologies from the gastrointestinal tract and respiratory system was established (2-4% whereas in the control group - 9-14%), higher weight gain (10-15%), mortality was not observed (whereas in the control group 2 pigs fell on the background escherichiosis and salmonellosis). Piglets of the experimental group were mobile, active, appetite expressed. In the control group, in addition to the above morbidity and mortality, low daily weight gain was observed (350 grams per day), some animals were inactive, lethargic, and a decrease in appetite was observed (50% of the animals of the group). The results of laboratory studies showed that the use of dry plasma in the diet of piglets contributes to the fastest restoration of blood counts to physiological norm. So already on the 15th day after giving dry plasma, the number of red blood cells was in the range $6.0 \pm 0.42 \times 10^{12} / l$, platelets $180.5 \pm 1.3 \times 10^9 / l$, the amount of hemoglobin in the range of $90.5 \pm 0.95 \text{ g} / l$, white blood cells $15.33 \pm 0.62 \times 10^9 / l$, a decrease in ESR to $1.55 \pm 0.07 \text{ mm} / h$ was observed, the amount of total protein was in the range of $64.55 \pm 2.12 \text{ g} / l$, the level of albumin is $18.89 \pm 3.52 \text{ g} / l$, the activity of the enzymes AsAT, AlAT $0.55 \pm 0.06 \mu\text{kat} / l$ and $0.66 \pm 0.03 \mu\text{kat} / l$, respectively, the activity of alkaline phosphatase was at level 1, $01 \pm 0.12 \mu\text{kat} / l$, bilirubin $7.51 \pm 0.168 \text{ mmol} / l$, which indicates an improvement in metabolism, in the first The next step is protein metabolism.

Feeding dry plasma increases the average daily growth (500 grams per day), positively affects the improvement of the overall metabolism (especially protein metabolism), which leads to an increase in the body's resistance and, as a result, a decrease in the incidence and mortality of animals.

Key words: antibiotics, antibiotic resistance, piglets, prebiotics, probiotics, synbiotics, blood products, dry blood plasma.

Introduction. When raising animals, their adequate feeding is important. Swine being omnivorous animals, feeds of both plant and animal origin are used. For the animal to develop

properly, it is necessary to balance the diet so that it should include all types of food and the necessary additives. The composition of a complete feed must include: grain crops, meals of various types, chalk,

salt and premixes. It is more likely to achieve the desired result and to obtain high-quality palatable meat with the use of a balanced mixed feed, with vitamin supplements, than with the use of food waste and root crops [8].

The absorption and digestion of nutrients in pigs occurs primarily in the intestines. In pigs, intestinal digestion predominates. The main functions of the intestine, such as secretory, absorption, and motor, take place simultaneously, which determines the structure of the intestine: secretion is secreted by the glands, absorption by the special structure of the intestinal epithelium and villi, the movement of food masses is carried out by the action of smooth muscles [5].

An abrupt change in feeds during this period, as well as poor zoohygienic conditions can easily cause disorders in the nervous activity of the digestive organs of growing young animals [1].

To achieve high production and economic indicators, a rhythmic supply of livestock with adequate feeds, strict adherence to the technological processes, requirements, rational use of all sources, and ensuring of material interest of workers in their working activities are necessary.

The state of the pig's body and its productivity depends on proper nutrition. It is very important to correctly design a diet for feeding pigs, as well as calculate the norms of feeding. If the pigs do not receive the nutrients in the right amount, then the weight gain will decrease, and excessive consumption of feed will lead to farm losses [8].

In recent years, two major problems have occurred in the antibiotic therapy: an increase in the frequency of isolation of antibiotic-resistant strains and the constant introduction of new active antibiotics and their new dosage forms into medical practice [16].

The development of resistance of microorganisms is inevitable even with the administering of antibiotics in a therapeutic dose. This is facilitated by many factors, among them - inadequate access to medicines, improper diagnosis, lack of objective information and others [2].

As antibiotics lose their efficiency, it becomes more difficult (and sometimes impossible) to treat infections that affect both humans and animals, including pneumonia, tuberculosis, sepsis and gonorrhea [13].

Most countries are already taking measures to reduce the use of antimicrobials in food livestock. For example, since 2006, the use of antibiotics to stimulate growth has been prohibited in the European Union. Some large food producers adopt a policy of providing meat products "free from antibiotics", and there is an increase in demand for

meat from animals raised without the regular use of antibiotics [17, 18].

Today, there is a large number of feeds and additives for feeding pigs. Of all the nutrients in the feed, proteins are most important. However, the excess amount of protein in feed can lead to its poor use in animals, which in its turn, leads to higher costs for pork production. The lack of protein in the diet negatively influences the productivity of pigs.

Due to the fact that the industry constantly feels the need to reduce the use of antimicrobial agents because of the development of antibiotic resistance, it becomes necessary to search for new therapeutic agents. In the literature, there are few data on the introduction of new treatment regimens that would help reduce the number of antibiotics used in animals. To date, there is evidence of the use of probiotics and prebiotics, blood products (dry hemoglobin, dry plasma) for the prevention of infectious diseases by improving metabolism and increasing body resistance, and, due to this, reducing the use of antibiotics [11, 12].

A prebiotic fails to be digested in the stomach and intestine and reaches the colon practically unchanged. Normal intestinal microflora. Bifidobacteria and lactobacilli utilize the prebiotic, secrete lactic acid, which suppresses the growth of putrefactive and pathogenic microflora. Suppression of the growth of pathogenic microflora leads to the formation in animals of a powerful protective barrier, such as normal intestinal microflora [14].

The probiotic recovers the normal intestinal microflora. In the process of microbial metabolism, biologically active substances (volatile fatty acids, vitamins, amino acids, etc.) are formed. This drug promotes the propagation of beneficial microflora, prevents the multiplication of pathogenic microorganisms, enhances the detoxification functions of microflora, increases the ability of the intestinal microflora to support all types of metabolism in the body, and all gastrointestinal functions [3, 15].

Synbiotics are complex preparations that are microflora stimulants, consisting of prebiotics and probiotics, which allows to quickly obtain the desired effect [7].

Let us mark the beneficial properties of the blood plasma: specific immunoglobulins bind antigens; glycoproteins block the E. coli receptors; glycoproteins bind plant ANF; short chain fragments can block receptors; appetency; stimulation of the secretion of enzymes in the intestine; effect on intestinal morphology; stimulation of growth hormone releasing factors; It is easily digested and does not contain ANF,

which are usually present in plant sources of raw materials. Hygienic taking of samples is carried out in animals that have undergone a pre- and post-slaughter veterinary examination. The action of Ig in the intestine: IgG can trigger the immune response of the GALT system; in different animal species the serotypes of pathogenic bacteria are often identical; Specific IgGs can attach to adsorption sites of nonspecific pathogenic microorganisms; IgG can block the mannose receptors in the intestine; IgG can have a positive effect on the length of the villi and the depth of the crypts [9].

The use of blood plasma proteins can improve intestinal function, intestinal barrier integrity, tissue repair, immune response, range of motion, step length, growth, feed intake, digestibility, stool quality and volume, bone strength, reproductive ability. Also, plasma proteins can reduce inflammation, stress, ulcers, diarrhea, respiratory symptoms, drug treatment, and mortality [4].

Given the relevance of the issue of full-fledged feeding of pigs, especially at the stages of early development, the need to correct the immune status of young animals in order to reduce the incidence of infectious diseases, it is necessary to select environmentally friendly, complete biological additives to the diet of pigs, allowing to solve the above issues.

Today, both in the Republic of Belarus and in a number of European and former CIS countries, blood preparations (dry hemoglobin, dry plasma, dry blood) are widely used as biological additives. Despite the fact that the largest pig-breeding enterprises of the republic today already use a number of blood supplements when feeding animals, this direction is only beginning to develop.

The **objective** of our research was to determine the effect of the dry blood plasma on the body of pigs, indicators of morbidity and mortality in production conditions.

Methodology and methods of research. To determine the effect of additives obtained from the whole blood on the animal organism, two groups of piglets were formed in each with 15 animals, 10 days old, on the basis of analogues. The following indicators served as the criterion for the selection of animals in the groups: growth and development retardation (hypotrophy), incline to diseases (infectious and non-infectious pathologies of the upper respiratory tract and gastrointestinal tract), and higher mortality in the nest.

The first group of animals was given a mixture of dry plasma and mixed feeds (calculated on 5 % of the feed weight), the second group was the control and received no additives.

Every day, an assessment was made of the clinical status of animals, taking into account morbidity and mortality rate. Before using the drug and after each administration, the animals were weighed. Before the experiment, on the 15th, 30th, 45th and 60th days of the studies, blood samples were taken for morphological and biochemical analysis of the blood. Blood samples were taken from the orbital sinus in two dry clean tubes in compliance with the rules of asepsis and antisepsis. In one of the tubes, blood was stabilized with heparin (2.0 U / ml), and the other was used to obtain serum [10].

In the blood the number of red blood cells, white blood cells, platelets, ESR, hemoglobin content was determined, the leukogram was developed. The concentration of total protein, albumin, the level of alkaline phosphatase, bilirubin, and the activity of aminotransferases (AcAT, AlAT) were determined in blood serum).

In the study of the blood and its serum, the following techniques were used:

- Counting the number of red blood cells and white blood cells in 1 mm³ was carried out on a Mindray BC-2800 Vet automatic hematology analyzer and the counting in the Goryaev chamber was monitored.

- To derivate the leukocyte formula, blood smears were prepared on slides, dried in the air, fixed for 5 minutes with methyl alcohol, and stained with azure-eosin according to Romanovsky-Giemsa. Differential leukocyte counts were performed using the four-field method. 200 blood cells in each smear were counted.

A biochemical study of blood serum was performed on a Mindray BC-2800 Vet veterinary automatic hematological analyzer [10].

Findings. The blood counts of piglets reflect the clinical status of the animal organism at the time of the experiment. Thus, from table 1 it can be seen that in piglets of all groups, before treatment with blood products, the number of erythrocytes was either at the lower limit of the norm, or even below the norm (with a norm of $6.0\text{--}7.5 \times 10^{12}/\text{l}$), platelets (with a norm of $180.0\text{--}300.0 \times 10^9/\text{l}$), some animals showed an increase in ESR (with a norm of $0.5\text{--}1.5 \text{ mm/h}$), an increase in the number of leukocytes (with a norm of $8\text{--}16.0 \times 10^9/\text{l}$). In individual animals, a decrease in the amount of hemoglobin was noted (at the normal rate of $90\text{--}110 \text{ g/l}$).

On the 15th day after giving dry plasma, the improvements were recorded in the blood counts of piglets. In the 1st group of animals there was an increase in the number of red blood cells, platelets, an increase in the amount of hemoglobin, a decrease (normalization) in the number of leuko-

cytes, a decrease in ESR, which indicates an improvement in the clinical status of animals and the absence of serious pathologies in the animal body.

Table 1 shows that by the 30th day of the experiment, all the studied morphological blood parameters in the 1st group of animals to which the dry plasma was given, were within the physiological norm, while in the control group the blood parameters in a number of animals differed from that, and showed the presence (development) in animals of pathological processes. On the 45th and 60th days of receiving dry plasma, blood counts were within the physiological norm.

According to the experimental conditions, we selected the weaker animals into the groups, with reduced resistance, prone to various diseases. From table 2 it is obvious that in piglets of all groups at the beginning of the experiment was observed: hypoproteinemia (from changes in the concentration of total protein, at a norm of 63–78 g/l). In the study of serum protein fractions, we revealed hypoalbuminemia (at a rate of 12–60 g/l). The activity of enzymes such as AcAT, AlAT is increased (at a rate of 0.10–0.55 μ kat/L, 0.10–0.68 μ kat/L, respectively). The activity of alkaline phosphatase in animals of all groups was also in-

Table 1 – Morphological indicators of the blood in piglets

Groups n = 15	White blood cells, 109/l	Erythrocytes, 10 ¹² /l	Hemoglobin, g/l	ESR, mm/h	Platelets 109/l
Physiological standard	8-16	6,0 – 7,5	90-110	0,5 – 1,5	180,0-300,0
Before the use of drugs					
Dry plasma	18,3±0,2***	4,1±0,07**	78,4 ±7,15*	3,01±0,23**	163,5±0,58*
The control	19,3±0,14	4,5±0,13	85,3±4,2	2,03±0,06	161,3±0,91
15th day					
Dry plasma	15,33±0,62*	6,0±0,42*	90,5±0,95*	1,55±0,07***	180,5±1,3***
The control	18,10±1,2	4,5±0,64	87,3±1,24	2,25±0,18	164,3±4,2
30th day					
Dry plasma	13,05±0,98**	7,3±0,79*	94,5±3,7**	1,5±0,03*	186,5±3,92***
The control	17,55 ±1,5	4,9±0,86	82,3±2,39	2,54±0,28	162,4±5,23
45th day					
Dry plasma	9,05±0,98***	7,4±0,8*	99,05±5,4**	1,3±0,09***	198,5±7,5**
The control	17,05 ±1,94	5,1±0,79	81,3±3,6	2,7±0,37	158,3±7,98
60th day					
Dry plasma	8,77±0,93***	7,23±0,76*	103,4±5,33**	1,1±0,09***	215,3±12,9***
The control	16,35 ±1,84	5,05±0,74	84,3±4,48	2,9±0,48	155,3±9,92

Note: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.

Table 2 – Biochemical blood parameters of piglets

Groups	Albumen, g/l	total protein, g/l	AsAT mkkat/l	AlAT, mkkat/l	Alkaline phosphatase mkkat/l	Bilirubin, μ mol/l
Before the use of drugs						
Dry plasma	10,25±0,1*	58,3±0,36*	0,65±0,03*	0,77±0,007*	1,33±0,01*	8,87± 0,06*
The control	10,53±0,09	59,4±0,4	0,73±0,02	0,75±0,007	1,28±0,02	8,68±0,07
15th day						
Dry plasma	18,89±3,52*	64,55±2,12*	0,55±0,06*	0,66±0,03*	1,01±0,12*	7,51± 0,168*
The control	10,01±2,52	59,32±1,41	0,74±0,07	0,76±0,038	1,37±0,127	8,03± 0,19
30th day						
Dry plasma	32,68±5,6***	68,23±2,41*	0,47±0,05*	0,54±0,04*	0,55±0,15*	5,65± 0,72*
The control	9,05±3,2	62,33±1,56	0,70±0,1	0,74±0,09	1,33±0,35	8,35±1,1
45th day						
Dry plasma	38,15±7***	72,15±4,2*	0,38±0,09*	0,41±0,06*	0,32±0,16*	3,45± 0,9*
The control	10,23±3	61,23±3,27	0,72±0,14	0,76±0,16	1,36±0,48	8,32±2,19
60th day						
Dry plasma	45,46±9,3***	74,44±4,9*	0,29±0,09*	0,33±0,09*	0,28±0,18*	2,34± 0,97*
The control	9,34±3,2	60,19±4,92	0,70±0,178	0,78±0,2	1,39±0,51	8,41±2,8

Note: * p≤0.05, *** p≤0.001.

creased (at a rate of 0.10–0.68 μ kat/l). An increase in bilirubin (with a norm of 0.3–8.2 mmol/l).

When blood tests were performed in animals of the 1st group on the 15th day after the administration of the preparations, positive dynamics of the indicators was established: a gradual increase in the amount of total protein, an increase in the level of albumin, a decrease in the activity of AsAT, AlAT enzymes and a decrease in the activity of alkaline phosphatase, a decrease in the level of bilirubin indicates an improvement in metabolism, protein metabolism mainly.

By the 30th day of treatment, all blood parameters analyzed (morphological and biochemical) were within the physiological norm, and the best indicators were in the group where dry plasma was used. While in the control group throughout the experiment, the positive dynamics was insignificant (table 2).

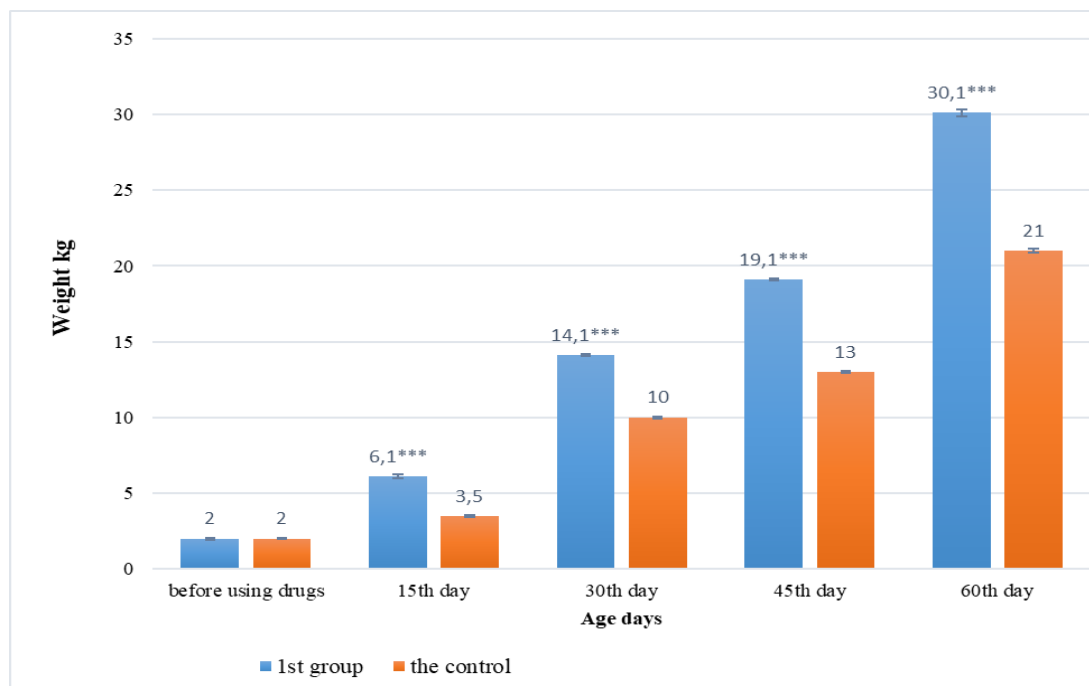
On the 45th and 60th days of using dry plasma in the 1st group of animals, the biochemical parameters of the blood of piglets continued to improve and were within the physiological norm.

As it can be seen from the Figure 1, during 1.5-2 months, the piglets given the dry plasma gained weight more intensively than the control group pigs. Thus, by the 30th day of the experiment, the weight in the group using dry plasma was 14.1 kg, while in the control group it was 10 kg, and by the 60th day of the study the weight difference was 9.1 kg.

It should be noted, that in the group of animals that were given the dry plasma, a low percentage of incidence of Escherichiosis, salmonellosis of the gastrointestinal tract and respiratory system was established (2–4 %, while in the control group – 9–14 %), higher weight gain (by 10–15 %); there was no mortality observed (whereas in the control group 2 pigs died on the background of escherichiosis and salmonellosis). The Animals in the experimental group were mobile, active, with marked appetite. In the control group, in addition to the above mentioned morbidity and mortality rate, a low daily weight gain was observed, some animals were inactive, lethargic, and a decrease in appetite was observed.

Discussion. The findings obtained during the studies allow us to conclude that the introduction of the dry plasma into the diet will improve the clinical status of piglets. The piglets were active, willingly taking the food, the weight gain was higher than in the control group (in the experimental group 500 grams, in the control group 350 grams), a low percentage of the incidence of pathologies in the gastrointestinal tract and respiratory system was found (2–4 % whereas in the control group – 9–14 %), there was no mortality observed (whereas in the control group 2 pigs died on the background of escherichiosis and salmonellosis).

Our studies have shown that the use of plasma is effective at an early age, while in a number of works the authors describe the use of plasma



Note: *** $p < 0,001$.

Fig. 1. Dynamics of body weight of piglets.

at older ages, however, as to our opinion in this issue, we more incline towards the use of dry hemoglobin for older ages [4, 6]. The essence of using dry plasma at an early age is, first of all, the increase of the resistance to diseases due to the work of immunoglobulins contained in plasma, and their availability is high especially in the first days of life. At older ages, where the optimal amount of complete protein is necessary for active growth and development, it is more economically feasible to use dry hemoglobin [7].

Conclusion. According to the results of our studies, it can be concluded that the introduction of the dry plasma into the diet with the prophylactic purpose facilitates the improvement of protein metabolism which, in turn, influences the increase of the body resistance and general metabolism, and as a result, an increase in the average daily gain, a decrease in the morbidity and mortality rate in animals.

LIST OF LITERATURE

1. Ветеринарная энциклопедия: в 2 т. Т. 2. К–Я / С. С. Абрамов и др.; ред. А. И. Ятусевич. Минск: Белорусская Энциклопедия им. Петруся Бровки, 2013. 356 с.
2. Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине / П. А. Красочко и др.; ред. П. А. Красочко. Минск: Техноперспектива, 2008. 507 с.
3. Казарян Р.В. Перспективные направления применения пробиотиков для создания полифункциональных кормовых добавок / Р.В. Казарян и др. Новые технологии. 2018. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/perspektivnye-napravleniya-primeneniya-probiotikov-dlya-sozdaniya-polifunktsionalnyh-kormovyh-dobavok>. Дата доступа: 18.10.2019.
4. Кемпбелл Д. Білки плазми крові в харчуванні поросят. Прибутков свинарство. 2011. №4. С. 32–34.
5. Кисленко В.Н., Колычев Н.М., Госманов Р.Г. Ветеринарная микробиология и иммунология: учебник / ред. В. Н. Кисленко. 4-е изд., перераб. и доп. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 752 с.
6. Красильников И.В., К.А. Лыско, Е.В. Отрашевская, А.К. Лобастова. Препараты бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития. Сибирский медицинский журнал. 2011. Том 26. № 2. Выпуск 2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/v/preparaty-bakteriofagov-kratkiy-obzor-sovremennogo-sostoyaniya-i-perspektiv-razvitiya>. Дата доступа: 18.10.2019.
7. Подобед Л.И. Состав, свойства и практическое применение продуктов переработки крови в кормлении сельскохозяйственных животных и птиц, в качестве высокоэффективных источников животного белка, для стимулирования иммунитета и роста, а также в целях улучшения усвоения жиров и иных питательных веществ из корма: метод. рекомендации. Москва: Издательство «Перо», 2019.
8. Мысик А.Т. Нормирование кормления свиней. Научный журнал: Зоотехния. 2006. URL: <http://naukarus.com/normirovanie-kormleniya-sviney>. Дата доступа: 18.10.2019.
9. Сотников Р.П. Плазма крови аэрозольной сушки в кормлении животных. АгроРынок. 2003. № 4. С. 6–7.
10. Справочник врача ветеринарной медицины / С. С. Абрамов и др.; ред. А. И. Ятусевич. Минск: Техноперспектива, 2007. 971 с.
11. Урсова Н.И. Терапевтический потенциал современных пробиотиков. Педиатрическая фармакология. 2013. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/terapevticheskiy-potentsial-sovremennyh-probiotikov>. Дата доступа: 18.10.2019.
12. Assessment of the application for renewal of authorisation of Bactocell® (*Pediococcus acidilactici* CNCM I-4622) as a feed additive for weaned piglets, pigs for fattening, minor porcine species (weaned and for fattening), chickens for fattening, laying hens and minor avian species for fattening and for laying and its extension of use to all growing pigs and all avian species / Scientific Report of EFSA. 2019. Mode of access: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2019.5690>. Date of access: 16.10.2019.
13. Florez-Cuadrado D., Moreno M.A., Ugarte-Ruiz M., Domínguez L. Antimicrobial Resistance in the Food Chain in the European Union. US National Library of Medicine National Institutes of Health. 2018. Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30077219>. Date of access: 20.10.2019.
14. Safety and efficacy of *Lactobacillus plantarum* DSM 29025 as a silage additive for all animal species EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) / Scientific Report of EFSA. 2016. Mode of access: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4479>. Date of access: 16.10.2019.
15. Scientific Opinion on the safety and efficacy of Probiotic LACTINA® (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Streptococcus thermophilus* and *Enterococcus faecium*) for chickens for fattening and piglets / Scientific Report of EFSA. 2013. Mode of access: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2013.3170>. Date of access: 16.10.2019.
16. Sekyere J.O., Asante J. Emerging mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria and fungi: advances in the era of genomics. US National Library of Medicine National Institutes of Health. 2018. Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Emerging+mechanisms+of+antimicrobial+resistance+in+bacteria+and+fungi%3A+advances+in+the+era+of+genomics>. Date of access: 20.10.2019.
17. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2006 European Food Safety Authority (EFSA) / Scientific Report of EFSA. First published: 19 December 2007. Mode of access: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.130r>. Date of access: 20.10.2019.
18. The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2016–2020. Supporting the food and agriculture sectors in implementing the Global Action Plan on Antimicrobial Resistance to minimize the impact of antimicrobial resistance. 2016. Mode of access: <http://www.fao.org/3/a-i5996e.pdf>. Date of access: 19.10.2019.

REFERENCES

1. Veterinarnaja jenciklopedija: v 2 t. Т. 2. К–Я / С. С. Абрамов и др.; ред. А. И. Ятусевич [Veterinary Encyclopedia:

in 2 volumes T. 2. K – Ya. Minsk: Belaruskaja Jencyklapedyja imja Petrusja Broŭki. 356 p.

2. Krasnochko, P. A. (2008). Immunokorrekcija v klinicheskoj veterinarnoj medicine. [Immunocorrection in clinical veterinary medicine]. Minsk: Tehnoperspektiva. 507 p.

3. Kazarjan, R.V., Borodihin, A.S., Luk'janenko, M.V., Achmiz, A.D., Matvienko, A.N. (2018). Perspektivnye napravlenija primeneniya probiotikov dlja sozdaniya polifunkcional'nyh kormovyh dobavok [The perspective directions of application of probiotics for creation of multifunctional feed additives]. Novye tehnologii [New technologies]. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/perspektivnye-napravleniya-primeneniya-probiotikov-dlya-sozdaniya-polifunkcionalnyh-kormovyh-dobavok>. Date of access: 18.10.2019.

4. Kempbell, D. (2011). Bilki plazmi krovi v harchuvanni porosjat [Bylki plasma blood in harchuvanny piglets]. Pributkove svinarstvo [Profits pig farming]. no. 4, pp. 32–34.

5. Kislenco, V.N., Kolychev, N.M., Gosmanov, R.G. (2012). Veterinarnaja mikrobiologija i imunologija: uchebnik [Veterinary microbiology and immunology: textbook]. 4-e izd., pererab. i dop. [4th ed., rework. and additional]. Moscow: GEOTAR-Media, 752 p.

6. Krasil'nikov, I.V., Lysko, K.A., Otrashkevskaja, E.V., Lobastova, A.K. (2011). Preparaty bakteriofagov: kratkij obzor sovremennogo sostojaniya i perspektiv razvitiya [Medicines of bacteriophages: short review of the current state and prospects of development]. Sibirskij medicinskij zhurnal [Siberian medical magazine]. Vol. 26, no. 2, Issue 2. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/v/preparaty-bakteriofagov-kratkij-obzor-sovremennogo-sostoyaniya-i-perspektiv-razvitiya>. Date of access: 18.10.2019.

7. Podobed, L.I. (2019). Sostav, svojstva i prakticheskoe primeneniye produktov pererabotki krovi v kormlenii sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh i ptic, v kachestve vysokojeffektivnyh istochnikov zhivotnogo belka, dlja stimulirovaniya immuniteta i rosta, a takzhe v celjah uluchsheniya usvoeniya zhirov i inyh pitatel'nyh veshhestv iz korma [Composition, properties and practical application of blood processing products in feeding farm animals and birds, as highly effective sources of animal protein, for stimulating immunity and growth, as well as for improving the absorption of fats and other nutrients from feed/Methodological recommendations]. Metodicheskie rekomendacii [Methodological recommendations]. Moskva: Izdatel'stvo «Pero».

8. Mysik, A.T. (2006). Normirovanie kormlenaja svinej [Rationing Fed Pigs]. Nauchnyj zhurnal: Zootehnika [Scientific Journal: Zootechnia]. Available at: <http://naukarus.com/normirovanie-kormleniya-svinej>. – Data dostupa: 18.10.2019.

9. Sotnikov, R.P. (2003). Plazma krovi ajerozol'noj sushki v kormlenii zhivotnyh [Plasma of blood aerosol drying in animal feeding]. AgroRynok [AgroMarket]. no.4, pp. 6–7.

10. Abramov, S. S. (2007). Spravochnik vracha veterinarnoj mediciny / red. Jatusevich, A. I. [Directory of Veterinary Medicine Physician. Ed. A.I. Yatushevich]. Minsk: Tehnoperspektiva. 971 p.

11. Ursova, N.I. (2013). Terapevticheskij potencial sovremennyh probiotikov [Therapeutic Potential of Modern Probiotics]. Pediatriceskaja farmakologija [Pediatric Pharmacology]. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/terapevticheskiy-potencial-sovremennyh-probiotikov>. Date of access: 18.10.2019.

12. Assessment of the application for renewal of authorisation of Bactocell® (Pediococcus acidilactici CNCM I-4622) as a feed additive for weaned piglets, pigs for fattening, minor porcine species (weaned and for fattening), chickens for fattening, laying hens and minor avian species for fattening and for laying and its extension of use to all growing pigs and all avian species. Scientific Report of EFSA. 2019. Available at: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2019.5690>. Date of access: 16.10.2019.

13. Florez-Cuadrado, D., Moreno, M.A., Ugarte-Ruiz, M., Dominguez, L. (2018). Antimicrobial Resistance in the Food Chain in the European Union. US National Library of Medicine National Institutes of Health. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30077219>. – Date of access : 20.10.2019.

14. Safety and efficacy of Lactobacillus plantarum DSM 29025 as a silage additive for all animal species EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) / Scientific Report of EFSA. 2016. Available at: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4479>. – Date of access: 16.10.2019.

15. Scientific Opinion on the safety and efficacy of Probiotic LACTINA® (Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus lactis, Streptococcus thermophilus and Enterococcus faecium) for chickens for fattening and piglets. Scientific Report of EFSA. 2013. Available at: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2013.3170>. Date of access: 16.10.2019.

16. Sekyere, J.O., Asante, J. (2018). Emerging mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria and fungi: advances in the era of genomics. US National Library of Medicine National Institutes of Health. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Emerging+mechanisms+of+antimicrobial+resistance+in+bacteria+and+fungi%3A+advances+in+the+era+of+genomic>. Date of access: 20.10.2019.

17. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2006 European Food Safety Authority (EFSA)/ Scientific Report of EFSA. First published: 19 December 2007. Available at: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.130r>. Date of access: 20.10.2019.

18. The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2016-2020. Supporting the food and agriculture sectors in implementing the Global Action Plan on Antimicrobial Resistance to minimize the impact of antimicrobial resistance. 2016. Available at: <http://www.fao.org/3/a-i5996e.pdf>. Date of access: 19.10.2019.

Вплив сухої плазми крові як біологічної добавки на свиней

Сиса Л.В.

Вивчено вплив препаратів з цільної крові (сухої плазми) на організм тварин. У ході досліджень було сформовано за принципом аналогів 2 групи тварин по 15 голів у кожній, 10-добового віку. Першій групі тварин задавали суху плазму в суміші з комбікормом (з розрахунку 5 % від маси корму), друга група була контрольною і ніяких добавок не отримувала. Поросята обох груп перебували в однакових санітарно-гігієнічних умовах, кожен день

проводили оцінку клінічного статусу тварин, враховували захворюваність, смертність, летальність, зважували, відбирали проби крові для проведення морфологічного і біохімічного аналізів.

Встановлено, що в групі тварин, яким застосовували суху плазму, впродовж 1,5–2 місяців набирали масу тіла більш інтенсивно, ніж поросята контрольної групи, було встановлено низький відсоток захворюваності патологіями з боку шлунково-кишкового тракту і дихальної системи (2–4 %, тоді як в контрольній групі – 9–14 %), більш високі прирости (на 10–15 %), летальності не спостерігалось (тоді як в контрольній групі загинуло 2 поросята на тлі ешерихіозу і сальмонельозу). Поросята дослідної групи були рухливі, активні, апетит виражений. У контрольній групі, крім вищевказаних захворюваності та летальності, відзначали низькі середньодобові прирости (350 г на добу), окремі тварини були малорухливі, мляві, спостерігалось зниження апетиту (50 % тварин групи). Результати лабораторних досліджень показали, що за застосування сухої плазми в раціоні поросят сприяє якнайшвидшому відновленню показників крові до норми. Так вже на 15-у добу після дачі сухої плазми кількість еритроцитів становила $6,0 \pm 0,42 \times 10^{12}/\text{л}$, тромбоцитів – $180,5 \pm 1,3 \times 10^9/\text{л}$, гемоглобіну – $90,5 \pm 0,95 \text{ г/л}$, лейкоцитів – $15,3 \pm 0,62 \times 10^9/\text{л}$, ШОЕ – $1,55 \pm 0,07 \text{ мм/год}$, загального протеїну $64,5 \pm 2,12 \text{ г/л}$, альбуміну – $18,9 \pm 3,52 \text{ г/л}$, активність ферментів: АсАТ, АлАТ – $0,55 \pm 0,06$ і $0,66 \pm 0,03 \text{ мккат/л}$ та лужної фосфатази – $1,0 \pm 0,12 \text{ мккат/л}$, білірубину $7,51 \pm 0,168 \text{ мкмоль/л}$, що свідчить про поліпшення обміну речовин, насамперед – білкового обміну.

Згодовування сухої плазми підвищує середньодобові прирости (500 г на добу), позитивно впливає на поліпшення загального обміну речовин (особливо білкового обміну), що приводить до підвищення резистентності організму і, як результат, зниження захворюваності та летальності тварин.

Ключові слова: антибіотики, антибіотикорезистентність, поросята, пребіотики, пробіотики, синбіотики, препарати крові, суха плазма крові.

Влияние сухой плазмы крови как биологической добавки на свиней

Сыса Л.В.

Изучено влияние препаратов из цельной крови (сухой плазмы) на организм животных. В ходе исследования были сформированы по принципу аналогов 2 группы

животных по 15 голов в каждой, 10-суточного возраста. Первой группе животных задавали сухую плазму в смеси с комбикормом (из расчета 5 % от массы корма), вторая группа была контрольной и никаких добавок не получала. Поросят обеих групп содержали в одинаковых санитарно-гигиенических условиях, каждый день проводили оценку клинического статуса животных, учитывали заболеваемость, смертность, летальность, взвешивали, отбирали кровь для проведения морфологического и биохимического анализов.

Установлено, что животные группы, которым применяли сухую плазму, в течении 1,5–2 месяцев набирали вес более интенсивно, чем поросята контрольной группы. У них был низкий процент заболеваемости патологиями со стороны желудочно-кишечного тракта и дыхательной системы (2–4 %, тогда как в контрольной группе – 9–14 %), более высокие привесы (на 10–15 %), летальности не отмечали (тогда как в контрольной группе пало 2 поросенка на фоне эшерихиоза и сальмонеллеза). Поросята опытной группы были подвижны, активны, аппетит выражен. В контрольной группе, помимо вышеуказанных заболеваемости и летальности, отмечали низкие среднесуточные привесы (350 г в сутки), отдельные животные были малоподвижные, вялые, наблюдалось понижение аппетита (50 % животных группы). Результаты лабораторных исследований показали, что применение сухой плазмы в рационе поросят способствует быстрейшему восстановлению показателей крови до нормы. Так, уже на 15-ые сутки после дачи сухой плазмы количество эритроцитов составляло $6,0 \pm 0,42 \times 10^{12} / \text{л}$, тромбоцитов – $180,5 \pm 1,3 \times 10^9 / \text{л}$, гемоглобина – $90,5 \pm 0,95 \text{ г/л}$, лейкоцитов – $15,3 \pm 0,62 \times 10^9 / \text{л}$, СОЭ – $1,55 \pm 0,07 \text{ мм/ч}$, общего протеина $64,5 \pm 2,12 \text{ г/л}$, альбумина – $18,9 \pm 3,52 \text{ г/л}$, активность ферментов: АсАТ, АлАТ – $0,55 \pm 0,06$ и $0,66 \pm 0,03 \text{ мккат/л}$ и щелочной фосфатазы – $1,0 \pm 0,12 \text{ мккат/л}$, билирубина $7,51 \pm 0,168 \text{ мкмоль/л}$, что свидетельствует об улучшении обмена веществ, прежде всего – белкового обмена. Скармливание сухой плазмы повышает среднесуточные приросты (500 г в сутки), позитивно влияет на улучшение общего обмена веществ (в особенности белкового обмена), что приводит к повышению резистентности организма и, как результат, снижение заболеваемости и летальности животных.

Ключевые слова: антибиотки, антибиотикорезистентность, поросята, пребиотики, пробиотики, синбиотики, препараты крови, сухая плазма крови.



Copyright: © Sysa L. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 597-11:612.017.1:639.371.52:597-12

Стан Т- і В-клітинної ланок імунітету коропів, уражених аеромонозом, та за лікування препаратом Ентеронормін

Солопова Х.Я.^{ORCID}, Віщур О.І.*^{ORCID}

*науковий керівник

Інститут біології тварин НААН

 Солопова Х.Я., E-mail: khrystyna.solopova@gmail.com



Солопова Х.Я., Віщур О.І. Стан Т- і В-клітинної ланок імунітету коропів, уражених аеромонозом, та за лікування препаратом Ентеронормін. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С.40–46.

Solopova H.Ja., Vishhur O.I. Stan T- i V-klitinnoi' lanok imunitetu koropiv, urazhenykh aeromonozom, ta za likuvannja preparatom Enteronormin. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 40–46.

Рукопис отримано: 01.11.2019р.

Прийнято: 05.12.2019р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-40-46

Інфекційні хвороби бактеріальної природи становлять значну проблему для аквакультури, часто призводять до масової загибелі риб та значних економічних збитків. Для лікування хворих риб застосовують антибактерійні препарати: нітрофурани, антибіотики, кормові антибіотики, а також барвники. З огляду на це, актуальним є пошук ефективних препаратів для профілактики та лікування, а також вивчення їх впливу на стан захисних систем організму риб. На сьогодні, з метою підвищення приростів тварин і для захисту від патогенних мікроорганізмів, як альтернативу пропонують різні групи речовин, в тому числі й пробіотики. Наведено результати досліджень впливу синбіотичного препарату Ентеронормін на показники, які характеризують стан Т- і В-клітинної ланок імунітету коропів, уражених бактерійним аеромонозом. Ентеронормін – синбіотичний препарат нового покоління, що складається з комплексу бактерій – *Enterococcus spp.*, *Bacillus subtilis spp.*, *Lactobacillus spp.*; та допоміжних речовин – хітозану, пептону ферментативного і меленого цукру (РП № ВВ-00427-02-12 від 13.04.2012). Дослідження проводили в умовах акваріумів на Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН. Контрольна група, яку становили клінічно здорові риби, отримувала лише 3 % крохмальну суспензію, перша дослідна група (Д1) – хворі на аеромоноз коропи, яким задавали лише 3 % крохмальну суспензію, другій дослідній групі (Д2), яку складали хворі на аеромоноз коропи, через зонд упродовж 7 діб задавали препарат Ентеронормін, з розрахунку 2 мг на 1 кг маси риби, у складі 3 % крохмальної суспензії. Перед введенням коропа досліджуваній препарат активували 14–16 год водою, збагаченою іонами біологічно активного йоду та селену у формі «Йодіс+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011).

Встановлено, що захворювання коропів на аеромоноз призводить до зміни кількості та функціональної активності імункомпетентних клітин крові. Констатовано пригнічення лімфоцитогенезу та функціональної активності імункомпетентних клітин у крові коропів при захворюванні на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу.

Застосування коропа дослідної групи у складі 3 % крохмальної суспензії препарату Ентеронормін справляло нормалізуючий вплив на стан Т-клітинної ланки специфічного захисту, проте істотно не вплинуло на кількість ЕАС-РУЛ і їх функціональну активність.

Ключові слова: риби, короп, аеромоноз, пробіотики, Ентеронормін, Т-лімфоцити, В-лімфоцити.

Постановка проблеми. Аеромонози – інфекційні хвороби риб бактеріальної природи, що характеризуються септичним процесом, наявністю геморагій на поверхневих покриттях, утворенням виразок чи фурункул [3]. Для лікування хворих риб застосовують антибактерійні

препарати: нітрофурани, антибіотики, кормові антибіотики, а також барвники [17].

Незважаючи на значні переваги антибіотиків, сьогодні вважають, що надмірне використання будь-яких антибіотичних речовин упродовж певного періоду може призвести до

появи локальної популяції бактерій, стійкої до їх дії. Щоб знизити ризик появи антибіотико-резистентних штамів бактерій, використання антимікробних препаратів має бути обмежене, і застосовуватись виключно за призначенням лікаря ветеринарної медицини та під його наглядом [6].

На сьогодні, з метою підвищення приростів тварин і для захисту від патогенних мікроорганізмів, як альтернативу пропонують: кормові ферменти; продукти «конкурентного виключення»; пробіотики; пребіотики; органічні кислоти (підкислювачі); фітогенні речовини [6].

Одним із шляхів вдосконалення технологій вирощування і розведення риб, підтримки нормального фізіологічного статусу є застосування пробіотичних мікроорганізмів. Культури, що входять до їх складу можуть продукувати різні активні речовини, утилізувати шкідливі продукти обміну, справляти антагоністичний вплив на патогенні мікроорганізми. Водночас застосування пробіотиків впливає на клітинний і біохімічний склад крові [8].

З огляду на це, значне наукове і практичне зацікавлення становить вивчення впливу різних пробіотичних препаратів, які можна застосовувати як для лікування, так і профілактики інфекційних хвороб у риб. У світовій практиці накопичений значний досвід щодо підвищення антибактеріальної резистентності риб і підтримки високих темпів зростання за допомогою пробіотиків і вакцин. Як у нашій країні, так і за кордоном ведуться роботи з адаптації в аквакультурі пробіотичних препаратів, створених спочатку для теплокровних тварин [5, 13].

Ентеронормін – пробіотичний препарат, що складається з комплексу бактерій – *Enterococcus spp.*, *Bacillus subtilis spp.*, *Lactobacillus spp.*; та допоміжних речовин – хітозану, пептону ферментативного і меленого цукру. Він проявляє антагоністичну активність до широкого спектру патогенних бактерій і грибів. Формуючи нормальну мікрофлору, тим самим нормалізує секреторний імунітет, обмін речовин, стабілізує захисні сили організму, збільшує продуктивність тварин, птиці, бджіл і риб, їх збереженість, зменшує витрати кормів на одиницю приросту живої ваги [1, 18]. Препарат не має кумулятивної здатності, не потребує захисних засобів в умовах виробництва і застосування, та не зумовлює забруднення навколишнього середовища.

При захворюванні риб слід розрізняти не лише патологічні прояви, а й захисні реакції організму. До них відносять запалення, в осередку якого затримуються й руйнуються мікро-

би та інші хвороботворні агенти; вироблення імунітету в риб за інфекційних та інвазійних хвороб; достатньо швидке загоєння травматичних пошкоджень і ран у риб; регенерація, гіпертрофія та гіперплазія.

Основну роль у забезпеченні захисту організму риб від патогенної дії мікроорганізмів відіграють Т- і В-лімфоцити, які розпізнають і знешкоджують їх [4].

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Імунна система у риб, як і у вищих хребетних, забезпечує саморегуляцію за допомогою безпосереднього контакту клітин (макрофагів, нейтрофілів, цитотоксичних Т-лімфоцитів), а також за допомогою гуморальних факторів (лізоциму, комплементу) [2].

Специфічний імунітет забезпечується насамперед Т-лімфоцитами, що здійснюють реакцію клітинного імунітету, відповідальні за сталість внутрішнього середовища, гіперчутливість уповільненого типу. В-лімфоцити відповідальні за реалізацію гуморальної імунної відповіді з продукуванням антитіл, тобто є попередниками клітин, що утворюють антитіла. Т-система контролює роботу В-системи. Обидві популяції клітин циркулюють в організмі у складі клітин периферичної крові і, кооперуючись, здійснюють імунну відповідь у разі дії антигену [17].

Нині ефективним методом компенсації несприятливого впливу зовнішніх чинників на риб в аквакультурі є застосування пробіотиків – живих мікроорганізмів, які підвищують імунітет, беруть активну участь в процесах травлення, сприяють поліпшенню мікрофлори [5]. Застосування пробіотиків у рибних господарствах різного типу дозволило значно скоротити використання антибіотиків, покращити імунофізіологічний статус риб та епізоотологічну ситуацію на водоймах і отримати екологічно чисту продукцію [13, 15, 16].

Доведений позитивний вплив на якість, морфологічний та хімічний склад м'яса риби за лікування її від аеромонозу із застосуванням комплексу антибактеріальних препаратів та пробіотика [10]. Також відомі дослідження, що підтверджують позитивний вплив пробіотика на біологічну цінність м'яса риб, за додавання його з антибактеріальним лікуванням за аеромонозу коропів [9].

Мета дослідження – вивчення показників, які характеризують стан Т- і В-клітинної ланки імунітету коропів, уражених бактерійним аеромонозом, та з'ясування впливу препарату Ентеронормін на ці показники.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальну частину дослідження проводили на

Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН, смт Великий Любін. Було сформовано 3 групи риб по 4 особини дволіток коропа у кожній. Контрольна група, яку становили клінічно здорові риби, отримувала лише 3 % крохмальну суспензію, перша дослідна група (Д1) – хворі на аеромоноз коропа, яким задавали лише 3 %-у крохмальну суспензію, другій дослідній групі (Д2), яку складали хворі на аеромоноз коропа, через зонд упродовж 7 діб задавали препарат Ентеронормін, з розрахунку 2 мг на 1 кг маси риби, у складі 3 % крохмальної суспензії. Перед введенням коропам досліджуваній препарат активували 14–16 год водою, збагаченою іонами біологічно активного йоду та селену у формі «Йодіс+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011). Рибу утримували в басейнах за температури води 16–18 °C та рН 6,7–7,2.

Діагноз на аеромоноз ставили за результатами бактеріологічного дослідження з урахуванням епізоотологічних даних, клінічних ознак і патолого-анатомічних змін.

Матеріалом для дослідження слугувала кров, яку брали із серця риб за допомогою піпетки Пастера, попередньо застосувавши метаканіовий наркоз.

У зразках гепаринізованої крові визначали загальну кількість Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) у реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Jondal M. et al., 1972), їх субпопуляції — Т-хелпери (Th-РУЛ); кількість «активних» Т-лімфоцитів (ТА-РУЛ); кількість Т-клітин з переважно супресорною активністю

(Ts-РУЛ) — відніманням числа теофілін-резистентних Т-клітин від загальної кількості Т-лімфоцитів. Імунорегуляторний індекс (ІРІ) обчислювали за співвідношенням Th/Ts, В-лімфоцити (ЕАС-РУЛ) — в реакції комплементарного розеткоутворення з еритроцитами барана (Чернушенко Е. Ф. с соавт., 1979). За підрахунку кількості Т- і В-лімфоцитів і їх регуляторних субпопуляцій на фіксованих і фарбованих мазках крові диференціювали їх, як нульові — які не приєднали еритроцити, малодиференційовані (низькоавідні) — які приєднали від 3 до 5 еритроцитів барана, середньоавідні — які приєднали 6–10 еритроцитів барана, високодиференційовані (високоавідні) — які приєднали більше 10 еритроцитів (морула).

Одержані цифрові дані опрацьовано статистично за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики з визначенням середніх величин (М), їх квадратичної похибки (m) та достовірності різниць, які встановлювали за t-критерієм Стюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Функціональною основою імунної системи ссавців, а також риб є комплекс імунокомпетентних клітин — лімфоцитів, які є носіями імунологічної пам'яті та попередниками антитілоутворювальних клітин. Їх роль значною мірою визначається кількістю Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у периферичній крові риб.

З даних, наведених у таблицях 1 і 2 бачимо, що захворювання короїв на аеромоноз призводить до зміни кількості та функціональної активності імунокомпетентних клітин крові.

Таблиця 1 – Кількість Т-лімфоцитів та їх функціональна активність у крові досліджуваних короїв, $M \pm m$, $n = 4$

Показник	Група		
	контрольна	I дослідна (Д1)	II дослідна (Д2)
Т-загальні Е-РУЛ, 0	64,00±0,67	70,25±0,55***	65,75±1,59
3-5	29,00±0,47	24,25±0,55**	28,25±0,99
6-10	5,25±0,55	4,25±0,29	4,50±0,33
М	1,5±0,29	1,25±0,29	1,50±0,33
%	36,00±0,67	29,75±0,55***	34,25±1,59
Т-активні А-РУЛ, 0	70,25±1,19	75,00±0,82*	71,75±1,19
3-5	24,25±0,55	20,75±0,55**	22,25±0,99
6-10	4,75±0,55	4,00±0,47	5,00±0,47
М	0,75±0,29	0,25±0,29	1,00±0,47
%	29,75±1,19	25,00±0,82*	28,25±1,19
Теофілін-резистентні Т-РУЛ, 0	72,00±1,05	79,50±0,75**	75,50±1,20
3-5	23,25±0,99	15,25±0,99**	19,00±1,05*
6-10	4,75±0,29	5,00±0,47	4,75±0,55
М	0	0,25±0,29	0
%	28,00±1,05	20,50±0,75**	23,50±0,75*
Т-супресори, %	8,00±1,25	10,00±0,67	10,50±1,00
ІРІ	3,71±0,63	2,06±0,18*	2,24 ±0,24

Примітка: Тут і надалі різниці статистично вірогідні порівняно до риб контрольної групи * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Зокрема, загальна кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) у крові коропів, хворих на аеромоноз (Д1), була відповідно на 6,3 ($p<0,001$), 4,7 ($p<0,05$) і 7,5 % ($p<0,01$) менша, ніж у клінічно здорової риби (табл. 1). Зменшення кількості вказаних субпопуляцій ефекторних клітин у крові хворих коропів цієї групи відбувалося на тлі збільшення кількості не активних у функціональному значенні T_0 -лімфоцитів ($p<0,05$ – $0,001$) та зменшення ($p<0,01$) низькоавідних Т-лімфоцитів. Ці дані свідчать про пригнічення (експресію) лімфоцитогенезу та функціональної активності імунокомпетентних клітин у крові коропів при захворюванні на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу.

Застосування королам дослідної групи у складі 3 % крохмальної суспензії препарату Ентеронормін справляло нормалізуючий вплив на стан Т-клітинної ланки специфічного захисту. Про це свідчить зростання загальної кількості Т-лімфоцитів, особливо Е-РУЛ і А-РУЛ та підвищення їх функціональної активності. Кількість вказаних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові коропів, яким застосовували досліджувані препарат, була на рівні контролю. Водночас вплив препарату на кількість теофілін-резистентних Т-РУЛ був виражений меншою мірою. Про це вказує менша ($p<0,05$) їх загальна кількість у крові коропів цієї групи стосовно контрольної. При цьому зафіксовано також меншу ($p<0,05$) кількість теофілін-резистентних Т-РУЛ із низькою щільністю рецепторів.

Захворювання коропів на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу спричиняло тенденцію до зростання у крові кількості Т-лімфоцитів супресорів, що вказує на посилення депресивної дії чинника захворювання на функцію Т-лімфоцитів у риб (табл. 1). Про це також свідчить зниження імунорегуляторного індексу у коропів дослідних груп порівняно до контрольної. Проте різниці виявилися вірогідними лише у коропів, яким застосовували 3 % крохмальну суспензію.

Відомо, що рівень гуморальної ланки імунітету характеризує кількість у крові В-лімфоцитів та їх функціональна активність. Як бачимо з даних, наведених у таблиці 2, загаль-

на кількість ЕАС-РУЛ у крові коропів першої та другої дослідних груп була вірогідно менша, а недиференційованої популяції – більша, порівняно з контрольною. При цьому також у крові риб дослідних груп виявлено вірогідно меншу кількість низькоавідних ЕАС-РУЛ, що свідчить про негативний вплив збудника аеромонозу на активність гуморальної ланки специфічного захисту організму риб.

Застосування королам досліджуваного препарату у складі 3 % крохмальної суспензії істотно не вплинуло на кількість ЕАС-РУЛ і їх функціональну активність. Результати цих досліджень свідчать, що дія досліджуваного препарату більшою мірою скерована на Т-клітинну ланку імунітету риб.

Загалом, результати проведених досліджень показали, що захворювання коропів на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу спричиняє імуносупресивний вплив на стан Т- і В-клітинної ланок специфічного захисту організму риб. Цей вплив характеризувався зменшенням кількості Т- і В-лімфоцитів та зниженням їх функціональної активності. Застосування хворим королам препарату Ентеронормін проявляло нормалізуючий вплив на загальну кількість і функціональну активність досліджуваних імунокомпетентних клітин, особливо Т-лімфоцитів (Е-РУЛ і А-РУЛ). Про це свідчить збільшення на поверхні Т-лімфоцитів кількості рецепторів, здатних взаємодіяти з більшою кількістю антигенних детермінант, у результаті чого зростає активність імунної відповіді організму.

Отже, під впливом чинників препарату в імунокомпетентних клітинах коропів проходить реорганізація плазматичних мембран лімфоцитів, особливо Т-лімфоцитів, у бік зміцнення експресії рецепторів плазмолемі, що вказує на розширення рецепторного поля клітини. Ці зміни, ймовірно, пов'язані з комплексною адитивною дією комплексу молочнокислих бактерій (*Enterococcus spp.*, *Lactobacillus spp.* та *Bacillus subtilis spp.*) та допоміжних компонентів хітозану й пептону, а саме антагоністичною активністю до широкого спектру патогенних бактерій і грибів. Формуючи нормальну мікрофлору, тим самим нормалізує місцевий секреторний імунітет, який за принципом дії

Таблиця 2 – Відносна кількість В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ) у крові досліджуваних коропів; $M \pm m$, $n=4$

Показник	Група		
В-лімфоцити	контрольна	I дослідна (Д1)	II дослідна (Д2)
0	76,25 $\pm$ 0,73	79,50 $\pm$ 0,33**	79,00 $\pm$ 0,47*
3–5	19,00 $\pm$ 0,47	16,25 $\pm$ 0,73*	16,75 $\pm$ 0,55*
6–10	4,75 $\pm$ 0,55	4,25 $\pm$ 0,55	4,25 $\pm$ 0,29
%	23,75 $\pm$ 0,73	20,50 $\pm$ 0,33**	21,00 $\pm$ 0,47*

«від периферії до центру» позитивно впливає на загальний стан Т- і В-клітинної ланок специфічного захисту організму риб.

Висновки. 1. Захворювання коропів на асоційовану бактеріальну форму аеромонозу спричиняє імуносупресивний вплив на стан Т- і В-клітинної ланок специфічного захисту організму риб. Констатовано інгібуючий вплив цього захворювання на лімфоцитогенез та функціональну активність імунокомпетентних клітин у крові коропів.

2. Застосування коропама дослідної групи у складі 3 % крохмальної суспензії препарату Ентеронормін справляло нормалізуючий вплив на стан Т-клітинної ланки специфічного захисту, проте істотно не вплинуло на кількість ЕАС-РУЛ і їх функціональну активність.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Експериментальні дослідження проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р.

Відомості про конфлікт інтересів. Автори статті стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вашик С. В. Антагоністична дія пробіотиків щодо *P. aeruginosa* та збудників асоційованих бактеріозів птиці. Науково-технічний бюлетень. 2018. Вип. 19. № 2. С. 133–138.
2. Вішур О.І., Кичун І.В., Лешовська Н.М. та ін. Природна резистентність деяких видів риб. Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та Держ. н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок. Львів, 2008. Вип. 9. № 3. С. 343–347.
3. Вовк Н. І., Божик В.Й. Іхтіопатологія. Київ: Аграрна освіта, 2014. 308 с.
4. Кондратьєва І.А., Китаşова А.А., Ланге М.А. Со-временные представления об иммунной системе рыб. Организация иммунной системы рыб. Вестн. Моск. ун-та, каф. физиологии микроорганизмов биол. ф-та МГУ им. М.В. Ломоносова. Биология, 2001. № 4. С. 11–23.
5. Пробиотики в аквакультуре / Е.А. Котова и др. Сборник научных трудов ВНИИОК. 2012. №1-1. С. 100–103.
6. Коцюмбас І.Я., Гунчак В.М., Стецько Т.І. Проблеми використання антимікробних препаратів для стимулювання росту продуктивних тварин та альтернативи їх застосуванню. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. Львів, 2013. Вип. 14. № 3–4. С. 381–389.

7. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. Сравнительная морфология и классификация форменных элементов крови рыб. Москва, 1983. 184 с.

8. Мазур Т. В., Гаркуша І.Є. Зміни білкових показників крові коропа за використання комплексу симбіонтних мікроорганізмів. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки. 2016. Т. 18. № 3. С. 181–183.

9. Петров Р. В. Біологічна цінність та токсичність м'яса коропів при лікуванні їх від аеромонозу. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. 2014. Вип. 16. № 2 (3). С. 327–332.

10. Петров Р. В. Морфологічні та хімічні властивості м'яса коропа при лікуванні від аеромонозу. Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина. 2014. Вип. 6. С. 74–77.

11. Briede I. The prevalent bacterial fish diseases in fish hatcheries of Latvia. *Environmental and Experimental Biology*. 2010. Vol. 8. P. 103–106.

12. Hematological and immune changes in *Piaractus mesopotamicus* in the sepsis induced by *Aeromonas hydrophila* / G.S. Claudiano et al. *Fish & shellfish immunology*. 2019. Vol. 88, P. 259–265. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.044>

13. Hai N.V. The use of probiotics in aquaculture. *Journal of applied microbiology*. 2015. Vol. 119.4. P. 917–935. Doi: <https://doi.org/10.1111/jam.12886>

14. *Aeromonas hydrophila* infection in silver catfish causes hyperlocomotion related to stress / G.B. Junior et al. *Microbial pathogenesis*. 2019. Vol. 132. P. 261–265. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.05.017>

15. Probiotics in aquaculture / Pandiyan Priyadarshini et al. *Drug Invention Today*. Vol. 5.1. 2013. P. 55–59. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.dit.2013.03.003>

16. Probiotics in aquaculture: a current assessment / Pérez-Sánchez Tania et al. *Reviews in Aquaculture*. 2014. Vol. 6(3). P. 133–146. Doi: <https://doi.org/10.1111/raq.12033>

17. Ronald J. Roberts. *Fish Pathology*, 4th Edition. Wiley-Blackwell, 2012. 590 p.

18. Tushak S. F. Quantitative changes in hemogram of bees using probiotic «Enteronormin». *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*. 2018. Vol. 20.83. P. 61–65.

REFERENCES

1. Vashhyk, Je.V. (2018). Antagonistichna dija probiotikiv shhodo *P. aeruginosa* ta zbudnikiv asocijovanih bakterioziv ptici [Antagonistic action of probiotics against *P. aeruginosa* and pathogens of associated bird bacteriosis]. *Scientific and Technical Bulletin*. Vol. 19, no 2, pp. 133–138.
2. Vishchur, O.I., Kychun, I.V., Leshovska, N.M., Mamchuk, N.A., Yamroz, V.Y., Matlakh, I.I., Rokyta, I.M. (2008). Prirodna rezistentnist' dejakih vidiv rib [Natural resistance of some fish species]. *Nauk.-tehn. bjul. In-tu biologii' tvaryn ta Der-*

zh. n.-d. kontrol. in-tu vetpreparativ ta korm. dobavok [Scientific and technical bulletin of Institute of animal biology and State scientific research control institute of veterinary medical products and fodder additives]. Vol. 9, no. 3, pp. 343–347.

3. Vovk, N.I., Bozhik, V.J. (2014). Ihtiopatologija [Ichthyopathology]. Kyiv: Agricultural education, 308 p.

4. Kondrateva, Y.A., Kytashova, A.A., Lanhe, M.A. (2011). Sovremennye predstavlenija ob immunnoj sisteme ryb [Modern ideas about the immune system of fish]. Organizacija immunnoj sistemy ryb [Organization of the immune system of fish]. Bulletin of Moscow University Department of Physiology of Microorganisms, Faculty of Biology, Moscow State University M.V. Lomonosov]. Biology, no. 4, pp. 11–23.

5. Kotova, E.A., Pyshmanceva, N.A., Osepchuk, D.V., Pyshmanceva, A.A., Thakushinova, L.N. (2012). Probiotiki v akvakulture [Probiotics in aquaculture]. Sbornik nauchnyh trudov VNIIOK [Collection of scientific works of VNIIOK]. №1-1, pp. 100–103.

6. Kotsiumbas, I. Ya., Hunchak, V.M., Stetsko, T.I. (2013). Problemi vikoristannja antimikrobnih preparativ dlja stimuljuvannja rostu produktivnih tvarin ta al'ternativi ih zastosuvannju [Problems with the use of antimicrobials to stimulate the growth of productive animals and alternatives to their use]. Naukovo-tehnichnyj bjuleten' Instytutu biologii' tvaryn i Derzhavnogo naukovo-doslidnogo kontrol'nogo instytutu vetpreparativ ta kormovyh dobavok [Scientific and technical bulletin of Institute of animal biology and State scientific research control institute of veterinary medical products and fodder additives]. Vol. 14, no. 3–4, pp. 381–389.

7. Ivanova, N.T. (1983). Atlas kletok krovi ryb [Atlas of fish blood cells]. Sravnitel'naja morfologija i klassifikacija formennyh jelementov krovi ryb [Comparative morphology and classification of fish blood cells]. Moscow, 184 p.

8. Mazur, T.V., Garkusha, I.Ye. (2016). Zmini bilkovih pokaznikov krovi koropa za vikoristannja kompleksu simbiotichnih mikroorganizmiv [Changes in the protein indices of carp blood during using a complex of symbiotic microorganisms]. Naukovij visnik L'viv's'kogo nacional'nogo universitetu veterinarnoї medicini ta biotekhnologij imeni S. Z. Ghzic'kogo [Scientific Bulletin Stepan Ghzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Series: Veterinary Sciences. Vol. 18, no. 3, pp. 181–183.

9. Petrov, R.V. (2014). Biologichna cinnist' ta toksichnist' m'jasa koropiv pri likuvanni ih vid aeromonozu [Biological value and toxicity of carp meat in the treatment of aeromonosis]. Naukovyj visnyk L'viv's'kogo nacional'nogo universytetu veterynarnoi' medycyny ta biotekhnologij im. G'zhyck'kogo. [Scientific Bulletin Stepan Ghzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Vol. 16, no. 2 (3), pp. 327–332.

10. Petrov, R.V. (2014). Morfologichni ta himichni vlastivosti m'jasa koropa pri likuvanni vid aeromonozu [Morphological and chemical properties of carp meat in the treatment of aeromonosis]. Visnik Sums'kogo nacional'nogo agrarnogo universitetu [Bulletin of Sumy National Agrarian University]. Serija: Veterinarna medicina [Series: Veterinary Medicine]. Vol. 6, pp. 74–77.

11. Briede, I. (2010). The prevalent bacterial fish diseases in fish hatcheries of Latvia. Environmental and Experimental Biology. Vol. 8, pp. 103–106.

12. Claudiano, G.S., Gustavo, S. (2019). Hematological and immune changes in *Piaractus mesopotamicus* in the sepsis induced by *Aeromonas hydrophila*. Fish & shellfish immunology. Vol. 88, pp. 259–265. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.01.044>

13. Hai, N.V. (2015). The use of probiotics in aquaculture. Journal of applied microbiology. Vol. 119.4, pp. 917–935. Available at: <https://doi.org/10.1111/jam.12886>

14. Junior, G.B., de Freitas Souza, C., Descovi, S.N., Antoniazzi, A., Cargnelutti, J.F., Baldissierotto, B. (2019). *Aeromonas hydrophila* infection in silver catfish causes hyperlocomotion related to stress. Microbial pathogenesis. Vol. 132, pp. 261–265. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.05.017>

15. Pandiyan, Priyadarshini. (2013). Probiotics in aquaculture. Drug Invention Today. Vol. 5.1, pp. 55–59. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.dit.2013.03.003>

16. Pérez-Sánchez, Tania. (2014). Probiotics in aquaculture: a current assessment. Reviews in Aquaculture. Vol. 6(3), pp. 133–146. Available at: <https://doi.org/10.1111/raq.12033>

17. Ronald, J. Roberts. (2012). Fish Pathology, 4th Edition. Wiley-Blackwell. 590 p.

18. Tushak, S.F. (2018). Quantitative changes in hemogram of bees using probiotic «Enteronormin». Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences. Vol. 20.83, pp. 61–65.

Состояние Т- и В-клеточного звена иммунитета карпов, пораженных аэромонозом, и за лечения препаратом Энтеронормин

Солопова К.Я., Вищур О.И.

Инфекционные болезни бактериальной природы составляют значительную проблему для аквакультуры, часто приводят к массовой гибели рыб и значительным экономическим потерям. Для лечения больных рыб применяют антибактериальные препараты: нитрофураны, антибиотики, кормовые антибиотики, а также красители. Поиск эффективных лечебных препаратов и изучение их влияния на организм рыб актуальны. На сегодня, с целью повышения приростов животных и для защиты от патогенных микроорганизмов, в качестве альтернативы предлагают различные группы веществ, в том числе и пробиотики. Приведены результаты исследований влияния пробиотического препарата Энтеронормин на показатели, характеризующие состояние Т- и В-клеточного звена иммунитета карпов, пораженных бактериальным аэромонозом. Энтеронормин – синбиотический препарат, состоящий из комплекса бактерий – *Enterococcus spp.*, *Bacillus subtilis spp.*, *Lactobacillus spp.*; и вспомогательных веществ – хитозана, пептона ферментативного и молотого сахара (РП № ВВ-00427-02-12 от 13.04.2012). Исследование проводили в условиях аквариумов на Львовской опытной станции Института рыбного хозяйства УААН. Контрольная группа,

которую составили клинически здоровые рыбы, получала лишь 3 % крахмальную суспензию, первая опытная группа (Д1) – больные аэромонозом карпы, которым задавали лишь 3 % крахмальную суспензию, второй опытной группе (Д2), которую составляли больные аэромонозом карпы, через зонд в течение 7 суток задавали препарат Энтеронормин, из расчета 2 мг на 1 кг массы рыбы, в составе 3 % крахмальной суспензии. Перед введением карпам исследуемый препарат активировали 14–16 час. водой, обогащенной ионами биологически активного йода и селена в форме «Йодис+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011).

Установлено, что заболевание карпов аэромонозом приводит к изменению количества и функциональной активности иммунокомпетентных клеток крови. Отмечено угнетение лимфоцитогенеза и функциональной активности иммунокомпетентных клеток в крови карпов при заболевании ассоциированной бактериальной формой аэромоноза.

Применение карпам опытной группы в составе 3 % крахмальной суспензии препарата Энтеронормин оказывало нормализующее влияние на состояние Т-клеточного звена специфической защиты, однако существенно не повлияло на количество ЕАС-РУЛ и их функциональную активность.

Ключевые слова: рыбы, карп, аэромоноз, пробиотики, Энтеронормин, Т-лимфоциты, В-лимфоциты.

Number of T- and B-lymphocytes and their functional activity in the blood of common carps affected by Aeromonosis, and in the treatment of probiotic Enteronormin

Solopova Kh., Vishchur O.

Fish bacterial infectious diseases are a significant problem for aquaculture, often leading to massive fish deaths and significant economic losses. For fish treatment often used antibacterial drugs: nitrofurans, antibiotics, feed antibiotics, as well

as dyes. Finding effective drugs and studying their effects on the body of fish are relevant. Nowadays, different groups of substances, including probiotics, are offered as an alternative to increase the growth of animals and to combat pathogens. Here are the results of studies of the influence of the probiotic drug "Enteronormin" on the indicators that characterize the status of T- and B-cell immunity of carp affected by bacterial Aeromonosis. Enteronormin is a probiotic supplement, which contains a bacteria complex - Enterococcus spp, Bacillus subtilis spp, Lactobacillus spp; and excipients - chitosan, peptone enzymatic and ground sugar (ПІ № BB-00427-02-12 від 13.04.2012). The research was conducted under the conditions of aquariums at the Lviv Research Station of the Institute of Fisheries of NAAS. The control group, which consisted of clinically healthy fish, received only 3% starch suspension, the first experimental group (D1) - Aeromonosis affected carps who were given only 3% starch suspension, the second experimental group (D2), which consisted of carps affected Aeromonosis, through the probe within 7 days was administered the drug "Enteronormin", at the rate of 2 mg per 1 kg of fish weight, in the composition of 3% starch suspension. Before feeding for the carp drug was activated for 14-16 hours water enriched with Iodine and Selenium ions in the Jodis + Se form (ТУ У 15.7-30631018-011: 2011). It is established that the disease of carp on Aeromonosis leads to changes in the number and functional activity of immunocompetent blood cells. The inhibition of lymphocytogenesis and functional activity of immunocompetent cells in carp blood in a disease associated with the bacterial form of aeromonosis was ascertained.

The use in the experimental carps group in the composition of 3% starch suspension of the drug "Enteronormin" had a normalizing effect on the state of T-cell specific protection, but did not significantly affect the amount of EAC-RUL and their functional activity.

Key words: fish, carp, aeromonosis, probiotics, Enteronormin, T-lymphocytes, B-lymphocytes.



Copyright: © Солопова Х.Я., Віщур О.І. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Солопова Х.Я.
Віщур О.І.

ID <https://orcid.org/0000-0002-9772-7745>
ID <https://orcid.org/0000-0003-4503-3896>



ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619: 619:616.98:579:636.5

Моніторинг та діагностика бактеріальних хвороб птиці у птахогосподарствах Київської області

Тишківська Н.В.¹ , Лясота В.П.¹ , Тишківська А.М.² , Букалова Н.В.¹ , Богатко Н.М.¹ 

¹ Білоцерківський національний аграрний університет

² Національний університет біоресурсів і природокористування України

 Тишківська Н.В. E-mail: natalya_tyshkivska@ukr.net



Тишківська Н.В., Лясота В.П., Тишківська А.М., Букалова Н.В., Богатко Н.М. Моніторинг та діагностика бактеріальних хвороб птиці у птахогосподарствах Київської області. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 47–53.

Tyshkivs'ka N.V., Ljasota V.P., Tyshkivs'ka A.M., Bukalova N.V., Bogatko N.M. Monitoring ta diagnostyka bakterial'nyh hvorob ptyci u ptagospodarstvakh Kyi'vs'koi' oblasti. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 47–53.

Рукопис отримано: 05.04.2020р.

Прийнято: 20.04.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-47-53

Бактеріальна безпека у сучасному птахівничому господарстві відіграє ключову роль і є одним із головних чинників ефективності виробництва. У структурі інфекційної патології птиці провідне місце займають такі бактерії як *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus cecorum*, *Staphylococcus aureus*, *Gallibacterium anatis*.

Представлені результати досліджень проб патологічного матеріалу, від хворої птиці свідчать про те, що найчастіше культури кишкової палички були виділені із серця (41,5 %), печінки (22,0 %) і легенів (20,7 %), рідше – селезінки (5,2 %) та нирок (2,0 %). Більшість ізольованих культур *Escherichia coli* (78 %) зумовлювали гемоліз за посіву патматеріалу на кров'яний агар. Найбільшу кількість патогенних культур *Escherichia coli* було виділено від дорослих курей, значно менше – курчат віком до 20 діб.

Асоційований перебіг бактеріозів, спричинених двома і більше збудниками відмічали у 89,8 % випадків. У 38,5 % випадків із патологічного матеріалу виділяли *Escherichia coli*, бактерії роду *Staphylococcus* та *Gallibacterium anatis*, у 27,3 % – відмічали сумісний перебіг ешерихіозу, стафілококозу і ентеробактеріозу, у 15,7 % – ешерихіозу, сальмонельозу і ентеробактеріозу, у 8,3 % – пастерельозу і ентеробактеріозу.

У 13,2 % випадків із патологічного матеріалу від курей (печінки, суглобів, у курчат – сліпих відростків кишечника) виділяли *Clostridium perfringens*. Ідентифіковано 3 види бактерій роду *Staphylococcus*: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus pluranimalium* (у 51,7 % – з печінки, 21,7 – легенів, 18,3 – селезінки, 5,0 % – нирок). У 11,32 % досліджених зразків із клоакальних змивів, яйцепроводів та кісткового мозку ідентифіковано *Enterococcus cecorum*, а у 11,32 % (із верхніх дихальних шляхів та статевих органів) – *Gallibacterium anatis*.

Ключові слова: птахогосподарства, моніторинг, бактеріальна інфекція, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus pluranimalium*, *Enterococcus cecorum*, *Clostridium perfringens*, *Gallibacterium anatis*.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Птахівництво є однією з найрентабельніших та найдинамічніших галузей світового і вітчизняного промислового виробництва продуктів харчування тваринного походження. Із року в рік зростає поголів'я птиці, а разом з цим і бактеріальна небезпека, що є основною загрозою у процесі вирощування птиці. Очевидно, що порушення оптимальних

ветеринарно-санітарних умов утримання птиці не лише зумовлює значне зниження продуктивності птиці, але й потенційно може призвести до скорочення чисельності її поголів'я [1].

Висока концентрація птиці на обмеженій території неминуче призводить до збільшення бактеріального фону на виробничих майданчиках та прилеглих територіях і створює сприятливі умови для швидкого поширення ін-

фекційних захворювань. Бактеріальні хвороби посідають значне місце у номенклатурі патології птиці і характеризуються поліетіологічністю та значною варіабельністю антигенного складу збудників [2, 3]. Вони спричиняють значні економічні збитки зокрема, загибель ембріонів і курчат, зниження продуктивності (живої маси, несучості) і конверсії корму, збільшення витрат на лікувальні та ветеринарно-санітарні заходи.

Саме тому, метою роботи було проведення моніторингу щодо бактеріальних захворювань птиці у птахогосподарствах Київської області.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом для бактеріологічного дослідження були свіжі трупи птиці (загальною кількістю 87 гол.), що надходили із 5 птахогосподарств Київської області. Дослідження проводили за чинною нормативною документацією у Експертному центрі діагностики та лабораторного супроводу "Біолайтс", лабораторія акредитована відповідно до вимог ISO/IEC 17025. Відібраний патологічний матеріал (серце, печінка, жовчний міхур, м'язи) висівали на прості, селективні та диференційно-діагностичні поживні середовища згідно з чинними методиками [4–7].

Вилучення та ідентифікацію мікроорганізмів проводили методом *Maldi Tof* мас-спектрометрії [8]. Морфологію клітин підтверджували мікроскопією.

Для контролю якості середовища, їх ростових властивостей використовували еталонні культури *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Candida albicans* (ATCC 885-653), що зберігаються у Музеї шта-

мів мікроорганізмів Експертного центру "Біолайтс".

Результати дослідження. За мікробіологічного дослідження патологічного матеріалу птиці встановлено, що найчастіше із досліджених зразків виділяли *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus cecorum*, *Staphylococcus aureus*, *Gallibacterium anatis* (рис. 1).

Переважає більшість ізольованих колоній *Escherichia coli* зумовлювала гемоліз еритроцитів на кров'яному агарі. Встановлено, що дослідні культури *Escherichia coli* мали різний ступінь альфа- та бета-гемолітичної активності – зона гемолізу навколо колоній ешерихій становила від 0,5 до 5 мм.

Більшість культур кишкової палички було ізольовано із серця, печінки та легенів (41,5; 22,0 і 20,7 %, відповідно), рідше збудник виділяли із селезінки (5,2 %) і нирок (2,0 %) (рис. 2). Значну кількість патогенних культур *Escherichia coli* виділено від патологічного матеріалу дорослих курей, дещо менше – курчат віком до 20 діб.

Аналіз результатів бактеріологічних досліджень показав, що у 89,8 % випадків бактеріози перебігали в асоційованій формі, що зумовлювали два і більше збудників. У 38,5 % випадків із патологічного матеріалу виділяли *Escherichia coli*, бактерії роду *Staphylococcus* та *Gallibacterium anatis*.

У 27,3 % випадків виявляли сумісний перебіг ешерихіозу, клостридіозу і ентеробактеріозу; у 15,7 % – ешерихіозу, сальмонельозу і ентеробактеріозу; у 8,3 % – пастерельозу і ентеробактеріозу.

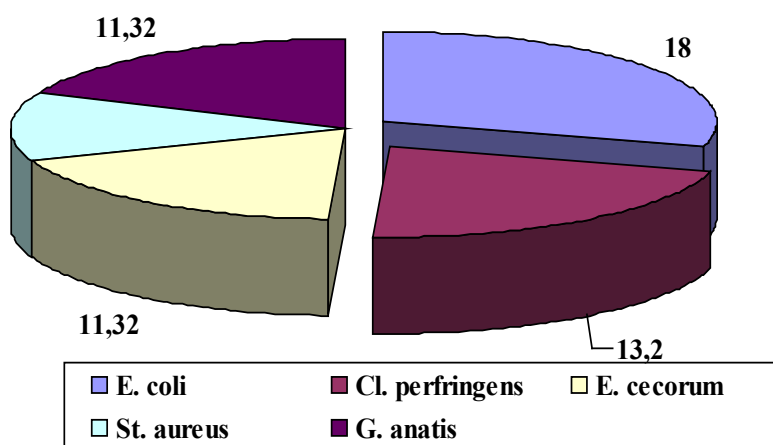


Рис.1. Видовий склад мікрофлори, виділеної від патологічного матеріалу птиці (%).

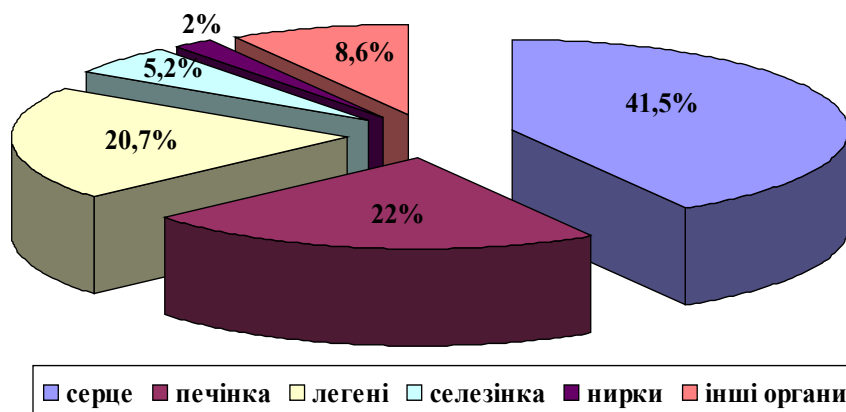


Рисунок 2. Частота виділення культури *Escherichia coli* із патологічного матеріалу птиці, %.

Найчастіше відмічали асоційований перебіг ешерихіозу та стафілококозу (40,5 % випадків). Із досліджуваного патологічного матеріалу було виділено 3 види *Staphylococcus*: *Staphylococcus aureus* (13,2 %), *Staphylococcus chromogenes* S. (3,8 %), *Staphylococcus pluranimalium* (3,8 %) (табл. 1). У 51,7 % випадків збудник виділяли із печінки, у 21,7 % – легенів, 18,3 % – селезінки та 5 % – нирок.

Clostridium perfringens виділяли із патологічного матеріалу (сліпих відростків кишечника, печінки, суглобів), отриманого від 8-ми трупів птиці, що становить 15,1 %. *Clostridium perfringens* – анаеробний мікроорганізм, який у незначній кількості міститься у травному каналі 75–95 % птиці [9, 10]. Ці бактерії є повсюди: у ґрунті, кормі, підстилці, воді тощо. І все ж, для розвитку хвороби наявності лише цього патогену недостатньо, потрібні особливі умови для його розмноження [11, 12]. Поштовхом до активного розвитку клостридій може бути

зміна *pH* у тонкому кишечнику, адже у здорової птиці його водневий показник близький до нейтрального, що не сприяє росту клостридій. У разі порушення годівлі, за наявності хвороби або інших несприятливих чинників *pH* змінюється і бактерії починають швидко розмножуватися, виділяючи альфа-токсини й спричинюючи некротичні зміни у кишечнику. Отже, у птиці захворювання виникає не внаслідок зараження клостридіями, а в результаті створення певних умов для їх розмноження чи за їх надходження у великій кількості ззовні [13].

У зразках патологічного матеріалу від хворої птиці виділяли *Enterococcus cecorum*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus faecalis* та *Enterococcus gallinarum* (табл. 1). Найчастіше, порівняно з ентерококами інших видів, виділяли *Enterococcus cecorum* (у 11,32 % випадків) – із клоакальних змивів, яйцепроводів та кісткового мозку.

Gallibacterium anatis (раніше відома як *Pasteurella anatis*) виділяли у 11,32 % випадків

Таблиця 1 – Мікрофлора, виділена із патологічного матеріалу птиці

№ п/п	Перелік	Кількість	У відсотках
1	<i>Escherichia coli</i>	18	33,9
2	<i>Clostridium perfringens</i>	8	15,1
3	<i>Gallibacterium anatis</i>	6	11,32
4	<i>Enterococcus cecorum</i>	6	11,32
	<i>Enterococcus avium</i>	1	1,89
	<i>Enterococcus faecalis</i>	2	3,8
	<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	1,89
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	13,2
	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	2	3,8
	<i>Staphylococcus pluranimalium</i>	2	3,8
6	<i>Salmonella spp.</i>	2	3,8
7	<i>Pasteurella multocida</i>	1	1,89
	Усього	53	–

із верхніх дихальних шляхів та статевих органів [14, 15]. Повідомлялося, що *Gallibacterium anatis* пов'язують із бактеріємією, дегенерацією фолікулів, сальпінгітом, перитонітом, гепатитом, ентеритом і захворюваннями дихальних шляхів у курчат [16]. *Gallibacterium anatis*, уражаючи птицю, спричинює зниження її продуктивності, зменшення несучості та високу смертність у курчат-бройлерів [17]. *Gallibacterium anatis* уражає також індичок, гусей, качок, фазанів, куріпок, хвилястих папужок, павичів, птицю у клітках, диких птахів, велику рогату худобу і свиней. *Gallibacterium anatis* спричинює захворювання птиці на всіх континентах. Діагностика захворювання ускладнена, адже патолого-анатомічні зміни не є характерними і єдиною можливістю правильної постановки діагнозу є виділення та ідентифікація збудника.

Обговорення. Аналізуючи результати дослідження, можна стверджувати, що бактеріальні захворювання птиці у птахівничих господарствах значно поширені. Останніми роками бактеріологічний моніторинг захворюваності птиці підтвердив особливу роль асоційованої мікрофлори у патогенезі її бактеріозів, оскільки за бактеріологічного дослідження виділяють 2–3 і більше патогенів у мікробіоценозах і лише один збудник – частково [1, 3, 18, 19].

Причин значного поширення бактеріозів у птахівничих господарствах є безліч, основні з них – технологічні порушення, недотримання ветеринарно-санітарних норм утримування, низька якість корму, мікотоксикози, стрес та інші причини, що негативно впливають на резистентність організму птиці, призводять до виникнення імуносупресивних станів і, як наслідок, розвитку інфекційних хвороб різної етіології [1, 3, 16]. Найчастіше у патологічному матеріалі хворої птиці виділяли *Escherichia coli*, основним джерелом яких є птиця хвора і перехворіла. Колонізація кишечника патогенними мікроорганізмами починається від процесу їх зв'язування із клітинами кишкового епітелію. Безліч патогенів, включаючи ешерихії більшості видів, прикріплюються до стінок кишечника за допомогою рецепторів (фімбрій), специфічних до певних вуглеводів кишкового епітелію, що містить монозу, яку вони руйнують, пригнічуючи корисну мікрофлору кишечника [20, 21]. Як самостійне захворювання діагностується рідко, частіше перебігає у вигляді змішаної інфекції, зумовлюючи респіраторні захворювання [22].

За даними літератури, бактерії роду ентерококів є природною мікрофлорою кишечника ссавців та птиці [14], проте, за інфікування, здатні утворювати біоплівку. Склад ентеро-

кової мікрофлори кишечника змінюється залежно від віку птиці. У 1-добових курчат у кишечнику переважають *Enterococcus faecalis*. Відповідно до досліджень L.A. Devriese et al. [15], більш ранню появу *Enterococcus cecorum* у травному каналі реєстрували у курчат віком від 3-х до 4-х тижнів, а найбільша їх кількість переважала у курчат 12-тижневого віку. Серйозні захворювання (ендокардит, фібринозний артрит, менінгіт) ентерококи спричинюють за збільшення їх кількості [16].

Із патологічного матеріалу птиці *Escherichia coli* виділяли разом зі стафілококами, клостридіями, ентеробактеріями та пастерелою. Тобто захворювання перебігало асоціативно з іншими мікроорганізмами.

Інфікування птиці *Clostridium perfringens* може відбуватися не лише пероральним шляхом, але й повітряно-крапельним. Активне інфікування птиці пероральним шляхом залежить від багатьох чинників (зниження місцевої резистентності шлунково-кишкового каналу, загальної резистентності, наявності тих чи інших токсинів, симбіоз з іншими бактеріями, найпростішими, гельмінтами на фоні дисбактеріозу) [14].

Бактерії роду *Staphylococcus* належать до широко розповсюджених мікроорганізмів і колонізують різні біотопи людини, тварин та птиці, можуть бути у воді, повітрі, на різних об'єктах довкілля. Тому важливо проводити контролювання збудників стафілококів не лише у зв'язку зі збереженням здоров'я птиці, а й для безпечності м'ясної сировини. Дослідження, проведені A.T. Febler et al. [23], підтверджують інфікованість *Staphylococcus aureus* курячого м'яса у 25 % досліджуваних проб. Зроблений висновок, що стафілококи є найпоширенішими мікроорганізмами на птахофабриці, які здатні колонізувати і виживати на всіх етапах обробки продукції за рахунок стійкості до антибіотиків та дезінфектантів.

Ентерококи донедавна не привертали уваги мікробіологів, оскільки є представниками нормальної флори кишечника. Серед усіх відомих ентерококів лише кілька видів виділено від птиці, в основному, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus cecorum*, *Enterococcus durans* [24].

За результатами наших досліджень у патологічному матеріалі птиці найчастіше виділяли *Enterococcus cecorum* та *Enterococcus faecalis*. Ці мікроорганізми добре пристосовані до розвитку в біотопах птиці, колонізують природні для них середовища (кишечник). За перевищення кількості ентерококів небезпечним є їх здатність мігрувати в мезентеріальні лімфатич-

ні вузли та кров, що супроводжується інфікуванням паренхіматозних органів з розвитком численних інфекцій. Важливо підкреслити, що інфекційні ускладнення, спричинені ентерококами, за підвищення їх популяційного рівня в біоценозі, впродовж багатьох років є значною проблемою ветеринарної медицини [24].

Висновки та перспективи подальших досліджень.

1. Моніторинг збудників бактеріальних хвороб птиці у птахогосподарствах указує на циркуляцію *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus cecorum*, *Staphylococcus aureus* та *Gallibacterium anatis*.

2. Лабораторними дослідженнями патологічного матеріалу від хворої птиці було ізолювано культуру кишкової палички із серця (41,0 % випадків) печінки (22,0 %), легень (20,7 %).

3. У 89,8 % випадків бактеріозу зумовлювали два і більше збудників й перебігали в асоційованій формі. У 38,5 % випадків із патологічного матеріалу виділяли *Escherichia coli*, бактерії роду *Staphylococcus*, *Gallibacterium anatis*; 27,3 % – збудники ешерихіозу, клостридіозу і ентеробактеріозу; 15,7 % – збудники ешерихіозу, сальмонельозу, ентеробактеріозу; у 8,3 % – збудники пастерельозу та ентеробактеріозу.

Перспективою подальших досліджень буде визначення чутливості антимікробних засобів до виділених збудників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аналіз епізоотичного моніторингу бактеріальних захворювань сільськогосподарської, дикої та декоративної птиці на території Сходу України / Б.Т.Стегній та ін. *Вет. медицина: міжвід. темат. наук. зб.* 2013. Вип. 97. С. 232–233.
2. Current respiratory disease problem and the probes in chicken / S. Hasan et al. *Pakistan Vet. J.* 2002. Vol. 22, № 1. P. 17–20.
3. Плитов И. С. Индикация патогенных бактерий, циркулирующих в птицеводческих хозяйствах. *Пробл. вет. санитарии, гигиены и экологии.* 2011. №1 (5). С. 63–65.
4. ДСТУ 4769 2007. Бактеріологічні дослідження патологічного матеріалу від тварин. Методи виявлення сальмонел. [Чинний від 2009-01-01]. Вид. офіц. Київ: Держспоживстандарт України, 2007. 37 с.
5. Бессарабов В. Ф. Болезни птиц. Санкт-Петербург: Лань, 2007. 448 с.
6. Определитель бактерий Берджи: пер. с англ. / под ред. Дж. Хулта. Москва : Мир, 1997. 432 с.
7. Плитов И.С. Индикация патогенных бактерий, циркулирующих в птицеводческих хозяйствах. *Пробл. вет. санитарии, гигиены и экологии.* 2011. № 1 (5). С. 63–65.
8. Welker M., Moore E. R. Applications of whole-cell matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in systematic microbiology. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2011. № 34. P. 2–11. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.11.013>

9. Clostridial Diseases of Animals / A. Francisco Uzal et al. *John Wiley & Sons.* 2016. 336 p.

10. Зон Г. А. Сорокова В.В. Патолого-анатомічний та патоморфологічний прояв хронічного перебігу некротичного ентериту у курей. *Вісник Полтавської державної аграрної академії.* 2009. № 3. С. 133–136.

11. Сорокова В. В., Зон Г. А. Вивчення патогенних властивостей культур *C. perfringens*, ізолюваних від курей. *Вісник Сумського НАУ,* 2002. Вип. 7. С. 88–90.

12. Зон Г. А., Сорокова В. В. Морфологічна реакція органів імуноткомпетентної системи і наднирників курчат, інфікованих *C. perfringens*. *Вісник Сумського НАУ,* 2002. Вип. 8. С. 34–36.

13. Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis / L. Timberrmont et al. *Avian Pathology.* 2011. Vol. 40 (4). P. 341–347. Doi:<https://doi.org/10.1080/03079457.2011.590967>

14. Інфекційні хвороби птиці / за ред. Л. Є. Корнієнко. Херсон: Гринь Д.С., 2012. 528 с.

15. *Gallibacterium anatis*: an emerging pathogen of poultry birds and domiciled birds / S.V. Singh et al. *J. Veterinar Sci Techno,* 2016. 324 p. Doi:<https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000324>

16. Изучение бактериальных инфекций на птицефабриках / Н. Л. Андреева и др. *Ветеринария.* 2004. № 5. С. 14–16.

17. Encephalomalacia with *Enterococcus durans* infection in the brain stem and cerebral hemisphere in chicks in Japan / Abe Y. et al. *Avian Dis.* 2006. Vol. (50). P. 139–141. Doi:<https://doi.org/10.1637/7419-080805R.1>

18. Composition of the enterococcal and streptococcal intestinal flora of poultry / L.A. Devriese et al. *Bacteriol.* 1991. Vol. (71). P. 46–50.

19. Плис В. М., Фотіна Т. І. Моніторинг, клінічні ознаки та патологоанатомічні зміни за пастерельозу (холери) птиці в асоціаціях з деякими інфекційними та інвазійними захворюваннями. *Вісник Сумського національного аграрного університету,* 2014, Вип. 6 (35). С. 114–121.

20. Фотіна Г. А., Клішова Ж. Є. Чутливість збудників бактеріальних хвороб птиці до антибактеріальних препаратів. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького,* 2016. Т. 18, № 3 (71). С. 182–185.

21. Бовкун Г. Ф. Роль микрофлоры при заболеваниях пищеварительного тракта у цыплят. *Ветеринария.* 2004. №3. С. 37–40.

22. Лыско С. Б., Хатько Н. Ф., Сунцова О. А. Чувствительность микоплазм и эшерихий к антибактериальным препаратам. *Ветеринария.* 2006. № 3. С. 31–32.

23. Febler A. T., Kadlec K., Hauschild M. H. Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Food and Food Products of Poultry Origin in Germany. *Applied and Environmental Microbiology.* 2011. Vol. 77. P. 7151–7157.

24. Hayes J.R., English L.L., Carr L. E. Multipleantibiotic esistance of *Enterococcus* spp. isolated from commercial poultry production environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. Vol. 70 (10). P. 6005–6011. Doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.6005-6011.2004>

REFERENCES

1. Stehni, B.T. (2013). Analiz epizootychnoho monitorynhu bakterialnykh zakhvoriuvan silskohospodarskoi,

dykoi ta dekoratyvnoi pytytsi na terytorii Skhodu Ukrainy [Analysis of epizootic monitoring of bacterial diseases of agricultural, wild and ornamental birds in the East of Ukraine]. Vet. medytyna: mizhvid. temat. nauk. zb. [Veterinary medicine: interdepartmental thematic scientific collection]. Issue 97, pp. 232–233.

2. Current respiratory disease problem and the probes in chicken / S. Hasan et al. Pakistan Vet. J. 2002. Vol. 22, № 1. P. 17–20.

3. Plytov, Y.S. (2011). Indikacija patogennykh bakterij, cirkulirujushchih v pticevodcheskikh hozjajstvakh [Indication of pathogenic bacteria circulating in poultry farms]. Probl. vet. sanitarii, gigieny i jekologii [Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology]. no.1 (5), pp. 63–65.

4. DSTU 4769 2007. Bakteriologichni doslidzhennia patolohichnoho materialu vid tvaryn. Metody vyavlennia salmonel. [Chynnyi vid 2009-01-01] [DSTU 4769 2007. Bacteriological studies of pathological material from animals. Methods for detecting salmonella. [Effective from 2009-01-01]]. Officially issued. Kyiv: Derzhspozhyvstandart of Ukraine, 2007. 37 p.

5. Bessarabov, V. F. (2007). Bolezny pytyts [Disease of birds]. St. Petersburg: Doe, 448 p.

6. Opredelytel bakterij Berdzy: per. s anhl. / pod red. Dzh. Khulta [The determinant of bacteria, Bergee: translation from English / edited by J. Hult]. Moscow: World, 1997, 432 p.

7. Plytov, Y.S. (2011). Indikacija patogennykh bakterij, cirkulirujushchih v pticevodcheskikh hozjajstvakh [Indication of pathogenic bacteria circulating in poultry farms]. Probl. vet. sanitarii, gigieny i jekologii [Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology]. no. 1 (5), pp. 63–65.

8. Welker, M., Moore, E.R. (2011). Applications of whole-cell matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in systematic microbiology. Syst. Appl. Microbiol. no. 34, pp. 2–11. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.11.013>

9. Clostridial Diseases of Animals / A. Francisco Uzal et al. John Wiley & Sons. 2016. 336 p.

10. Zon, H.A., Sorokova, V.V. (2009). Patoloho-anatomichni ta patomorfologichni proiav khronichnoho perebihu nekrotychnoho enterytu u kurei [Pathological-anatomical and pathomorphological manifestation of chronic necrotic enteritis in chickens]. Visnyk Poltavskoi derzhavnoi aharnoї akademii [Bulletin of the Poltava State Agrarian Academy]. no. 3, pp. 133–136.

11. Sorokova, V.V., Zon, H.A. (2002). Vyvchennia patohennykh vlastyivostei kultur *C. perfringens*, izolovanykh vid kurei [Study of pathogenic properties of *C. perfringens* cultures isolated from chickens]. Visnyk Sumskoho NAU [Bulletin of Sumy National Agrarian University]. Issue 7, pp. 88–90.

12. Zon, H.A., Sorokova, V.V. (2002). Morfolohichna reaktsiia orhaniv imunokompetentnoi systemy i nadnyrnkyv kurchat, infikovanykh *C. Perfringens* [Morphological response of organs of the immunocompetent system and adrenal glands of chickens infected with *C. perfringens*]. Visnyk Sumskoho NAU [Bulletin of Sumy National Agrarian University]. Issue 8, pp. 34–36.

13. Timbermontet, L. (2011). Necrotic enteritis in broilers: an updated review on the pathogenesis / Avian Pathology. Vol. 40 (4), pp. 341–347. Available at: <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.590967>

14. Infektsiini khvoroby pytytsi / za red. L. Ye. Kornienka [Infectious diseases of birds / ed. L. E. Kornienko]. Kherson: Green D.S, 2012, 528 p.

15. Singh, S.V. (2016). Gallibacterium anatis: an emerging pathogen of poultry birds and domiciled birds. J Veterinar Sci Techno. 324 p. Available at: <https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000324>

16. Andreeva, N.L. (2004). Izuchenie bakterial'nykh infekcij na pticefabrikah [The study of bacterial infections in poultry farms]. Veterinarija [Veterinary Medicine]. no. 5, pp. 14–16.

17. Abe, Y. (2006). Encephalomalacia with Enterococcus durans infection in the brain stem and cerebral hemisphere in chicks in Japan. Avian Dis. Vol. (50), pp. 139–141. Available at: <https://doi.org/10.1637/7419-080805R.1>

18. Devriese, L.A. (1991). Composition of the enterococcal and streptococcal intestinal flora of poultry. Bacteriol. Vol. (71), pp. 46–50.

19. Plys, V. M., Fotina, T. I. (2014). Monitorynh, klinichni oznaky ta patolohoanatomichni zminy za pasterelozu (kholery) pytytsi v asotsiatsiiakh z deiakymy infektsiinymy ta invaziinymy zakhvoriuvanniamy [Monitoring, clinical signs and pathological changes in avian pasteurellosis (cholera) in associations with certain infectious and invasive diseases]. Visnyk Sumskoho natsionalnoho aharnoho universytetu [Bulletin of Sumy National Agrarian University]. Issue 6 (35), pp. 114–121.

20. Fotina, H.A., Klishchova, Zh.Ye. (2016). Chutlyvist zbudnykiv bakterialnykh khvorob pytytsi do antybakterialnykh preparativ [Sensitivity of pathogens of bacterial diseases of poultry to antibacterial drugs]. Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S. Z. Gzhytskoho [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Vol. 18, no. 3 (71), pp. 182–185.

21. Bovkun, G.F. (2004). Rol' mikroflory pri zabolevaniyakh pishchevaritel'nogo trakta u tsyplyat [The role of microflora in diseases of the digestive tract in chickens]. Veterinariya [Veterinary Medicine]. no. 3, pp. 37–40.

22. Lysko, S.B., Khat'ko, N.F., Suntsova, O.A. (2006). Chuvstvitel'nost' mikoplazm i esherikhiy k antibakterial'nykh preparatam [The sensitivity of mycoplasmas and Escherichia to antibacterial drugs]. Veterinariya [Veterinary Medicine]. no. 3, pp. 31–32.

23. Febler, A.T., Kadlec, K., Hauschild, M.H. (2011). Characterization of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Isolates from Food and Food Products of Poultry Origin in Germany. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 77, pp. 7151–7157.

24. Hayes, J.R., English, L.L., Carr, L. E. (2004). Multipleantibiotic esistance of Enterococcus spp. isolated from commercial poultry production environments. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 70 (10), pp. 6005–6011. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.6005-6011.2004>

Мониторинг и диагностика бактериальных болезней птицы в птицеводствах Киевской области **Тышківська Н.В., Лясота В.П., Тышківська А.М., Букалова Н.В., Богатко Н.М.**

Бактериальная безопасность в современном птицеводческом хозяйстве играет ключевую роль и является одним из главных факторов эффективности производства. В структуре инфекционной патологии птицы ведущее место занимают такие бактерии как *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus cecorum*, *Staphylococcus aureus*, *Gallibacterium anatis*.

Представлены результаты исследований проб патологического материала от больной птицы свидетельствуют о том, что чаще всего культуры кишечной палочки были выделены из сердца (41,5 %), печени (22,0 %)

и легких (20,7 %), реже – селезенки (5,2 %) и почек (2,0 %). Большинство изолированных культур *Escherichia coli* (78 %) вызвали гемолиз при посеве патматериала на кровяной агар. Наибольшее количество патогенных культур *Escherichia coli* было выделено от взрослых кур, значительно меньше – цыплят в возрасте до 20 суток.

Ассоциированное течение бактериозов, вызванных двумя и более возбудителями отмечали в 89,8 % случаев. В 38,5 % случаев с патологического материала выделяли *Escherichia coli*, бактерии рода *Staphylococcus* и *Gallibacterium anatis*, в 27,3 % – отмечали совместное течение эшерихиоза, стафилококкоза и энтеробактериоза, в 15,7 % – эшерихиоза, сальмонеллеза и энтеробактериоза, в 8,3 % – пастереллеза и энтеробактериоза.

В 13,2 % случаев с патологического материала от кур (печени, суставов, у цыплят – слепых отростков кишечника) выделяли *Clostridium perfringens*. Идентифицировано 3 вида бактерий рода *Staphylococcus*: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus pluranimalium* (в 51,7 % – из печени, 21,7 – легких, 18,3 – селезенки, 5,0 % – почек). В 11,32 % исследованных образцов с клоакальных смывов, яйцеводов и костного мозга идентифицировано *Enterococcus cecorum*, а в 11,32 % (с верхних дыхательных путей и половых органов) – *Gallibacterium anatis*.

Ключевые слова: птицеводства, мониторинг, бактериальная инфекция, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus pluranimalium*, *Enterococcus cecorum*, *Clostridium perfringens*, *Gallibacterium anatis*.

Monitoring and diagnosis of poultry bacterial diseases in poultry farms of the Kyiv region

Tyshkivska N., Lyasota V., Tyshkivska A., Bukalova N., Bogatko N.

Bacterial safety in the modern poultry industry plays a key role and is one of the key factors in production efficiency.

In the structure of poultry infectious pathology, the leading place is occupied by such bacteria as *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus cecorum*, *Staphylococcus aureus*, *Gallibacterium anatis*.

The results of studies of samples of pathological material obtained from a sick bird are presented that indicate that most often *Escherichia coli* cultures were isolated from the heart (41,5 %), liver (22,0 %) and lungs (20,7 %), less often spleen (5,2 %) and kidney (2,0 %). Most isolated cultures of *Escherichia coli* (78 %) caused hemolysis when plating material on blood agar. The largest number of pathogenic cultures of *Escherichia coli* was isolated from adult chickens, significantly fewer chickens under the age of 20 days.

The associated course of bacterioses caused by two or more pathogens was noted in 89,8 % of cases. In 38,5 % of cases, *Escherichia coli*, bacteria of the genus *Staphylococcus* and *Gallibacterium anatis* were isolated from pathological material, in 27,3 % – a joint course of escherichiosis, staphylococcosis and enterobacteriosis was noted, in 15,7 % – escherichiosis, salmonellosis and enterobacteriosis, in 8,3 % – pasteurellosis and enterobacteriosis.

In 13,2 % of cases with pathological material from chickens (liver, joints, in chickens – blind processes of the intestine) *Clostridium perfringens* was isolated. Three species of bacteria of the genus *Staphylococcus* were identified: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus pluranimalium* (51,7 % from the liver, 21,7 from the lungs, 18,3 from the spleen, 5,0 % from the kidneys). *Enterococcus cecorum* was identified in 11,32 % of the studied samples from cloacal swabs, oviducts and bone marrow, and *Gallibacterium anatis* was identified in 11,32 % (from the upper respiratory tract and genitals).

Key words: poultry farms, monitoring, bacterial infection, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus pluranimalium*, *Enterococcus cecorum*, *Clostridium perfringens*, *Gallibacterium anatis*.



Copyright: © Тишківська Н.В. та ін. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Тишківська Н.В.
Лясота В.П.
Тишківська А.М.
Букалова Н.В.
Богатко Н.М.

ID <https://orcid.org/0000-0003-4937-1390>
ID <https://orcid.org/0000-0002-2442-2174>
ID <https://orcid.org/0000-0003-4419-2174>
ID <https://orcid.org/0000-0003-4856-3040>
ID <https://orcid.org/0000-0002-1566-1026>

ПАРАЗИТАРНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.995.132.8:636.7

Епізоотична ситуація щодо нематодозів шлунково-кишкового каналу собак

Сайченко І.В. , Антіпов А.А. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: nika14071994@ukr.net; antipov_anatolii@ukr.net



Сайченко І.В., Антіпов А.А. Епізоотична ситуація щодо нематодозів шлунково-кишкового каналу собак. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 54–62.

Sajchenko I.V., Antipov A.A. Epizootychna sytuacija shhodo nematodoziv shlunkovo-kyshkovogo kanalu sobak. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 54–62.

Рукопис отримано: 29.03.2020р.

Прийнято: 13.04.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-54-62

Нематодози шлунково-кишкового каналу поширені серед собак не тільки на території України, але й у більшості країн світу. Економічні збитки в собаководстві за інвазійних хвороб досить важко вираховувати в матеріальному плані, але вони чітко проявляються щодо здоров'я тварини. Тому метою досліджень було з'ясувати епізоотичну ситуацію відносно нематодозів шлунково-кишкового каналу у собак різних вікових, статевих та породних груп в Білоцерківському районі Київської області. Дослідження проводили на території одноосібних господарств приватного сектору 15-ти населених пунктів Білоцерківського району та на територіях притулків для бездомних тварин м. Біла Церква. Овоскопічні дослідження проводили комбінованим методом, стандартизованим за Г.О. Котельниковим та В.М. Хреновим з використанням насиченого розчину гранульованої аміачної селітри зі щільністю 1,3. За результатами дослідження проб фекалій від собак було встановлено значне поширення нематодозів шлунково-кишкового каналу (ЕІ склала 50,18 %). Виділені яйця таких нематод як *Trichuris vulpis*, *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Toxascaris leonina*, *Strongyloides stercoralis*. Захворювання реєстрували у вигляді моноінвазій, серед яких на трихуроз припадала найбільша частка уражених (27,11 %), токсокароз (6,59 %), анкілостомоз (1,83 %) та міксінвазій, у складі яких знову ж лідирували трихуриси. Найбільш уражені були тварини від народження до 7 років. Щодо статі, то більш вразливими були самки. Найвища екстенсивність інвазії була серед безпородних собак (51,56 %). Більшість собак цієї групи уражені трихурисами (54,55 %) та міксінвазіями (29,29 %), до складу яких також входив *T. vulpis*. Породи німецька вівчарка, такса, російський спанієль мали найбільший відсоток ураженості нематодами серед усіх досліджених порід. Найбільший відсоток серед збудників, які паразитували у шлунково-кишковому каналі собак, припадав на *Trichuris vulpis*, що охопив більшу половину (52,63 %) порід, міксінвазії склали 28,94 %, до складу яких увійшов *T. vulpis*. Стійкими виявилися породи бельгійська вівчарка, ши-тцу, російсько-європейська лайка, алабай.

Ключові слова: собака, інвазія, трихуроз, токсокароз, анкілостомоз, токсокароз, поширення, копроовоскопічні дослідження, екстенсивність інвазії, інтенсивність інвазії.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Собака – надійний співмешканець людини уже не одне тисячоліття, про що свідчать дані археологічних розкопок. А от гельмінти є невід'ємною частиною собачого організму, адже для них періодично собака виступає як у ролі основного, так і проміжного

господаря [1–2]. З цього твердження випливає необхідність регулярного обстеження собак на наявність різних гельмінтозів [3]. Особливу увагу слід приділити гельмінтам класу *Nematoda*, які завдають значних збитків здоров'ю не тільки собак, а й сільськогосподарських тварин (велика та дрібна рогата худоба, свині, коні),

птиці, інших м'ясоїдних тварин, деякі з них можуть уражати навіть і людину [4–10].

На сьогодні спостерігається зростання чисельності собак [11], переважно за рахунок тварин, що належать приватним власникам. Однак, збільшення кількості не тільки домашніх собак, але й безпритульних [12–13], призвело до поширення інвазійних хвороб. При цьому, збільшення контактів між тваринами в результаті міграції населення, ввезення з інших регіонів собак, які не адаптовані до місцевих умов, антисанітарний стан місць їх виходу і неконтрольована кількість бродячих тварин безперечно впливають на поширення різноманітних паразитарних захворювань, зокрема трихуридозу [14]. Економічні збитки в собаководстві за інвазійних хвороб досить важко вираховувати в матеріальному плані, але вони чітко проявляються в уповільненому рості й розвитку хворих цуценят з моменту народження до року [15–16]. У разі токсокариозу у хворих цуценят спотворюється апетит, спостерігається пригнічений стан, виснаження, блідість слизових оболонок, пронос, який змінюється запором, блювання, судоми [17–18]. Трихуридоз у дорослих тварин проявляється порушеннями у травному каналі, зниженим апетитом, проносом, блювотою [19–21]. Це пов'язано із втратою поживних речовин – вітамінів, мікро- і макроелементів, так необхідних для нормального функціонування організму собаки. Поширеність *T. vulpis* у собак значною мірою залежить від морфофункціональних та біологічних адаптацій паразита, які підтримують його високу живучість у різних умовах навколишнього середовища, що звичайно утруднює контролювання цього збудника [22–27]. За анкілостомозу у хворих собак відмічають пригнічення, виснаження, анемічність слизових оболонок, погіршення апетиту, проноси або запори, у фекаліях кров і слиз [28–29]. Нематоди завдають помітну шкоду організму собак, водночас деякі з них можуть заражати і людину, що в подальшому призводить до тяжких наслідків [30–31]. Тому вивчення розповсюдження нематодозів серед собак є актуальною темою для багатьох дослідників в галузі ветеринарної паразитології.

Мета дослідження – з'ясувати епізоотичну ситуацію відносно нематодозів шлунково-кишкового каналу у собак різних вікових, статевих та породних груп в Білоцерківському районі Київської області.

Матеріал і методи дослідження. Роботу виконували упродовж 2018–2019 рр. Проби фекалій собак відбирали в умовах одноосібних

господарств приватного сектору 15-ти населених пунктів Білоцерківського району та на території притулків для бездомних тварин м. Біла Церква. Дослідження свіжовідібраних проб фекалій проводили на базі лабораторії кафедри паразитології та фармакології Білоцерківського НАУ. Копроовоскопічні дослідження проводили комбінованим методом стандартизованим Г.А. Котельниковим та В.М. Хреновим з використанням насиченого розчину гранульованої аміачної селітри зі щільністю 1,3. Усього досліджено 273 проби фекалій від собак різних вікових, статевих та породних категорій.

Результати дослідження. За результатами проведених копроовоскопічних досліджень проб, відібраних від собак Білоцерківського району, встановлено значне розповсюдження нематодозів. Зокрема, 50,18 % тварин були уражені гельмінтозами, які перебігали як у вигляді моноінвазій (35,53 %), так і міксінвазій (14,65 %). Результати наведені в таблиці 1.

Серед моноінвазій, найбільш поширеними виявились трихуриси – 27,11 %, далі токсокари – 6,59 % та анкілостоми – 1,83 %, що доводить необхідність детального вивчення даних нематодозів, зокрема лідируючого трихуридозу (рис. 1–3).

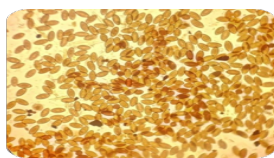
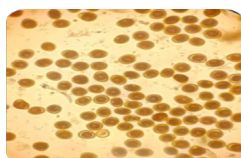
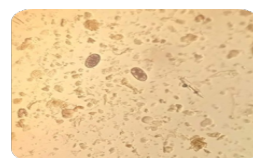
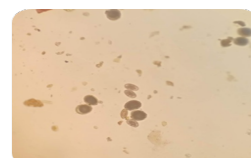
Також слід відзначити, що спостерігається поліінвазованість тварин, адже у пробі від однієї собаки знаходили яйця двох, трьох та чотирьох видів гельмінтів. Іноді (2,19 %) співчленами у паразитоценозах були найпростіші. Найпоширенішими комбінаціями стали яйця трихурисів та анкілостом (5,86 %), трихурисів та токсокар (1,86 %), трихурисів та токсокарисів (1,46 %). Щодо потрійного інвазування, то найчастіше зустрічалися яйця трихурисів, анкілостом та капілярій (1,1 %), а також трихурисів, анкілостом та токсокар (0,73 %) (рис. 4). А от чотириккомпонентні складала половина усіх знайдених видів яєць – трихурисів, токсокар, анкілостом та капілярій (0,37 %).

Після вивчення поширення нематодозів шлунково-кишкового каналу у собак, ми проаналізували ураженість їх залежно від віку та отримали наступні результати (табл. 2).

Проаналізувавши дані таблиці 2, можна сказати що собаки віком до 1 року найчастіше уражаються збудниками токсокариозу, оскільки це захворювання передається внутрішньоматеринно і тому за ураження суки нащадки будуть заражені. А от щодо трихуридозу, то хворіють як молоді тварини від народження до 3 років, так і старші (4–10 років). Екстенсивність інвазії у цих групах тварин склала 30,47 %, що, очевидно, пов'язано з недостатньою гігієною місць проживання, виходу тварин де підстилка, підлога, земля та інші предмети мо-

Таблиця 1 – Поширення нематодозів шлунково-кишкового каналу у складі змішаних інвазій серед собак Білоцерківського району

№ з/п	Моно- та асоціації паразитів	Уражено, гол.	EI, %
1	Моноінвазія, у т.ч.:	97	35,53
	трихуриси	74	27,11
	токсокари	18	6,59
	анкілостоми	5	1,83
2	Двокомпонентні, у т.ч.:	30	10,99
	трихуриси+анкілостоми	16	5,86
	трихуриси+токсокари	5	1,83
	трихуриси+токсаскариси	4	1,46
	трихуриси+капілярії	2	0,73
	трихуриси +дипілідії	1	0,37
	токсокари+ анкілостоми	1	0,37
	токсаскариси+ анкілостоми	1	0,37
3	Трикомпонентні, у т.ч.	9	3,30
	трихуриси+анкілостоми+токсокари	2	0,73
	трихуриси+токсокари+токсаскариси	1	0,37
	трихуриси+анкілостоми+дипілідії	1	0,37
	трихуриси+токсокари+стронгілоїдеси	1	0,37
	трихуриси+анкілостоми+стронгілоїдеси	1	0,37
	трихуриси+анкілостоми+капілярії	3	1,1
4	Чотирикомпонентні, у т.ч.	1	0,37
	трихуриси+токсокари+анкілостоми+капілярії	1	0,37
Всього досліджено тварин, гол.		273	–
Всього уражено тварин, гол.		137	50,18
Вільних від гельмінтів тварин, гол.		136	–

Рис. 1. Яйця *Trichuris vulpis*Рис.2. Яйця *Toxocara canis*.Рис. 3. Яйця *Ancylostoma caninum*.Рис. 4. Яйця *T. vulpis*, *T. canis*, *A. caninum*.

Таблиця 2 – Ураженість собак гельмінтозами залежно від віку

Вік тварин	Всього досліджено тварин, гол.	Вільних від гельмінтів тварин, гол.	Всього уражено тварин, гол.	Уражені яйцями нематод			Змішана інвазія
				<i>Trichuris vulpis</i>	<i>Toxocara canis</i>	<i>Ancylostoma caninum</i>	
0 – 1 року	64	28	36	13	15	1	7
2 – 3 роки	74	40	34	19	2	–	13
4 – 6 років	73	44	29	19	–	2	8
7 – 10 років	55	22	34	20	1	2	11
11–15 років	7	3	4	3	–	–	1
Всього, гол.	273	136	137	74	18	5	40

жуть містити велику кількість досить стійких яєць збудника (можуть залишатися життєздатними від 2 місяців до 1 року), а також ненапруженим імунітетом за даного нематодозу. Щодо тварин старшої групи (11–15 років), тут найбільше збудників трихуридозу. Змішана інвазія в більшості випадків зустрічається у собак 2–10 років.

Далі вивчали закономірність ураження тварин гельмінтами залежно від їхньої статі. Результати наведено в таблиці 3.

Проаналізувавши дані таблиці 3, можна зробити висновок, що самки, ЕІ яких складала 52,38 %, більш інвазовані нематодами у т.ч. і трихуридами, в порівнянні з кобелями, ЕІ яких складала 48,81 %.

Ураженість собак гельмінтами залежно від породи наведено в таблиці 4. Згідно з результатами, у сільській місцевості значний відсоток складають безпородні собаки, господарі яких

рідко користуються порадами лікарів ветеринарної медицини з приводу щоквартальної дегельмінтизації їхніх улюбленців, посиляючись на те, що їхні тварини абсолютно здорові, бо в більшості випадків утримуються на прив'язі, а ще існує твердження що організм "двірняшки" сам може справитись з будь-якою хворобою. Але це оманливе твердження, бо після отриманих результатів бачимо, що ЕІ у даної групи тварин складала 51,56 %. Більшість собак була уражена трихуридами (54,55 %) та міксіінвазіями (29,29 %), головними складовими яких був також *Trichuris vulpis*, що доводить необхідність проведення постійних дегельмінтизацій, підтримання стабільної гігієни на територіях, де проживають тварини. Щодо породних собак, то господарі даних сіл надають перевагу німецьким вівчаркам, алабаям, російським спаніелям, таксам. Картина уражень породних тварин звичайно краща, ніж у безпородних,

Таблиця 3 – Ураженість собак гельмінтами залежно від статі

Стать	Всього досліджено тварин, гол.	Вільних від гельмінтів тварин, гол.	Всього уражено тварин, гол.	Уражені яйцями нематод			Змішана інвазія
				<i>Trichuris vulpis</i>	<i>Toxocara canis</i>	<i>Ancylostoma caninum</i>	
Кобель	168	86	82	41	8	3	30
Сука	105	50	55	33	10	2	10
Всього	273	136	137	74	18	5	40

Таблиця 4 – Ураженість собак гельмінтами залежно від породи

Порода	Всього досліджено тварин, гол.	Вільних від гельмінтів тварин, гол.	Всього уражено тварин, гол.	Уражені яйцями нематод			Змішана інвазія
				<i>Trichuris vulpis</i>	<i>Toxocara canis</i>	<i>Ancylostoma caninum</i>	
Алабай	8	7	1	1	–	–	–
Нім. вівч.	39	20	19	11	3	–	5
Бельг. вівч.	2	2	–	–	–	–	–
Європ. вівч.	1	–	1	–	–	–	1
Кавк. вівч.	1	–	1	1	–	–	–
Естон. гонча	1	–	1	1	–	–	–
Лабрадор	3	1	2	–	1	–	1
Такса	7	4	3	1	1	–	1
Ши-тцу	1	1	–	–	–	–	–
Фр. бульдог	5	4	1	–	–	1	–
Хаскі	1	–	1	–	1	–	–
Ягдтер'єр	3	2	1	1	–	–	–
Західно-сибірська лайка	2	–	2	1	–	–	1
Російсько-європейська лайка	1	1	–	–	–	–	–
Рос. спаніель	6	1	5	3	–	–	2
Загалом (породні тварини)	81	43	38	20	6	1	11
Безпородні	192	93	99	54	12	4	29
Всього	273	136	137	74	18	5	40

це пов'язано з тим що у більшості тварин є паспорти і свої ветеринарні лікарі, що ведуть роз'яснювальну роботу та профілактичні заходи. Та все ж і ці тварини піддаються зараженню. Лідером серед збудників є *T. vulpis*, що охопив більшу половину (52,63 %) порід, а ще міксінвазії, що склали 28,94 %. Найбільший відсоток уражених тварин був серед порід німецька вівчарка, такса, російський спанієль, і оскільки головними збудниками були трихуриси зі слабкою чи середньою інтенсивністю інвазії, то можливо це пов'язано з одноразовою дачею антигельмінтиків, що не можуть здолати всіх особин за один раз. А от стійкими виявилися породи бельгійська вівчарка, ши-тцу, російсько-європейська лайка, алабай. Така картина інформує, що за вчасних профілактичних заходів можна підтримувати здоров'я своєї тварини. Особливо це стосується порід собак, яких використовують для полювання, адже дані собаки у групі ризику постійних заражень паразитами.

Обговорення. На сьогодні, зарубіжні і вітчизняні дослідники [1–2, 4, 11–12, 16, 28, 31] займаються вивченням розповсюдження нематодозів шлунково-кишкового каналу у собак. У своїх дослідженнях науковці вказують на значне ураження собак гельмінтозами у різних куточках світу, зокрема, в Україні (Полтавська, Львівська, Дніпропетровська, Харківська, Тернопільська області). Тож аналізуючи дані з інших областей нашої держави, дійшли висновку про необхідність проведення досліджень щодо розповсюдження нематодозів шлунково-кишкового каналу у собак різних вікових, статевих та породних груп на території Білоцерківського району. Слід зазначити, що на сьогодні у літературних джерелах недостатньо інформації, яка могла б дати повну картину щодо ураженості собак даними нематодозами на території Київської області. Тому проведені нами дослідження є актуальними.

За результатами досліджень встановлено, що територія Білоцерківського району неблагополучна щодо нематодозів шлунково-кишкового каналу собак. Більшість тварин були уражені нематодозами, що перебігали у вигляді моно- та міксінвазій. Найчастіше серед моноінвазій реєстрували трихуроз (27,11 %), токсокароз (6,59), анкілостомоз (1,83 %). Найпоширенішими комбінаціями збудників стали трихуриси – анкілостоми (5,86 %), трихуриси – токсокари (1,86 %), трихуриси – анкілостоми – капілярії (1,1 %). Іноді (2,19 %) співчленами у паразитоценозах були найпростіші. Дослід-

ження частково узгоджуються з результатами дослідників, що проводили роботи на території нашої держави [1, 22, 26].

Отже, інвазійні хвороби собак займають провідне місце серед заразної патології. Це пов'язано з недостатньою увагою до паразитарних хвороб. Насамперед самих власників тварин, адже більшість населення нашої країни, особливо господарі одноосібних домогосподарств не знають, а іноді відмовляються знати про паразитарні хвороби, спільні для людини і тварин, тому не приділяють достатньо уваги профілактичним дегельмінтизаціям, внаслідок чого наражають на небезпеку не тільки свого домашнього улюбленця, а також і себе. Тому висвітлення даного питання необхідне для подальшої ефективної боротьби з гельмінтозами.

Висновки.

1. Білоцерківський район Київської області є неблагополучним щодо нематодозів собак. На території Білоцерківського регіону 50,18 % собак були уражені гельмінтозами, які перебігали як у вигляді моноінвазій (35,53 %), так і міксінвазій (14,65 %). Під час копроовоскопії найчастіше зустрічалися яйця таких нематод як *Trichuris vulpis*, *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Toxascaris leonina*, *Strongyloides stercoralis*.

2. Захворювання реєстрували у вигляді моноінвазій, серед яких на трихуроз припадала найбільша частка уражених (27,11 %), токсокароз (6,59), анкілостомоз (1,83 %) та міксінвазій.

3. Найбільш уражені були тварини від народження до 7 років. Щодо статі, то більш вразливими були самки.

4. Найбільша екстенсивність інвазії була серед безпородних собак (51,56 %). Більшість собак даної групи уражені трихурисами (54,55 %) та міксінвазіями (29,29 %), до складу яких також входив *T. vulpis*.

5. Породи німецька вівчарка, такса, російський спанієль мали найбільший відсоток ураженості нематодами серед усіх досліджених порід. Лідером серед збудників був *T. vulpis*, що охопив більшу половину (52,63 %) порід, міксінвазії склали 28,94 %, до складу яких увійшов *T. vulpis*. Стійкими виявилися породи бельгійська вівчарка, ши-тцу, російсько-європейська лайка, алабай.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Усі дослідження проведені з дотриманням біоетичних засад, регламентованих Законом України "Про захист тварин від жорстокого поводження" (№ 3447-IV від 21.02.2006 року) та чинних вимог Європейської комісії

щодо обходження з хребетними тваринами та захисту їх від спраги, голоду, недоїдання, дискомфорту, страху, болю, хвороб.

Відомості про конфлікт інтересів. Конфлікт інтересів відсутній.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Prevalence of Intestinal Helminth Infections in Dogs and Two Species of Wild Animals from Samarkand Region of Uzbekistan / Yong T.S., et al. Korean J Parasitol. 2019. № 57(5). P. 549–552. Doi: <https://doi.org/10.3347/kjp.2019.57.5.549>.
2. Canine fecal contamination in a metropolitan area (Milan, north-western Italy): prevalence of intestinal parasites and evaluation of health risks / Zanzani S.A., et al. Scientific World Journal. 2014. Vol. 2014. 6 p. Doi: <https://doi.org/10.1155/2014/132361>.
3. Лабораторна діагностика паразитарних захворювань м'ясоїдних тварин: методичні рекомендації / Павленко С.В., та ін. Київ, 2005. 47 с.
4. Zoonotic Helminth Diseases in Dogs and Dingoes Utilising Shared Resources in an Australian Aboriginal Community / Smout F.A., et al. Trop Med Infect Dis. 2018. № 3(4). 110 p. Doi: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed3040110>.
5. Prevalence of intestinal helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Europe (Poland): a significant zoonotic threat / J. Karamon, et al. Parasit Vectors. 2018. № 11(1). 436 p. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3021-3>.
6. Bindke J.D., Springer A., Böer M., Strube C. Helminth Fauna in Captive European Gray Wolves (*Canis lupus lupus*) in Germany. Front Vet Sci. 2017. № 4. 228 p. Doi: <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00228>.
7. Helminth infections in faecal samples of Apennine wolf (*Canis lupus italicus*) and Marsican brown bear (*Ursus arctos marsicanus*) in two protected national parks of central Italy / B. Paoletti, et al. Ann Parasitol. 2017. № 63(3). P. 205–212. Doi: <https://doi.org/10.17420/ap6303.107>.
8. Molecular Identification of *Trichuris suis* and *Trichuris trichiura* Eggs in Human Populations from Thailand, Lao PDR, and Myanmar / I. Phosuk, et al. Am J Trop Med Hyg. 2018. № 98(1). P. 39–44. Doi: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0651>.
9. Invasive forms of canine endoparasites as a potential threat to public health - A review and own studies / M. Felsmann, et al. Ann Agric Environ Med. 2017. № 24(2). P. 245–249. Doi: <https://doi.org/10.5604/12321966.1235019>.
10. Parasite species of the endangered Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) and a sympatric widespread carnivore / A. Figueiredo, et al. Int J Parasitol Parasites Wildl. 2016. № 5(2). P. 164–167. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.04.002>.
11. Gillespie S., Bradbury R.S. A Survey of Intestinal Parasites of Domestic Dogs in Central Queensland / Trop Med Infect Dis. 2017. № 2(4). 60 p. Doi: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed2040060>.
12. Scaramozzino P., Carvelli A., Iacoponi F., De Liberato C. Endoparasites in household and shelter dogs from Central Italy. Int J Vet Sci Med. 2018. № 6(1). P. 45–47. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.04.003>.
13. Helminth control in kennels: is the combination of milbemycin oxime and praziquantel a right choice? / L. Rinaldi, et al. Parasit Vectors. 2015. P. 8–30. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0647-2>.
14. Mukaratirwa S., Singh V.P. Prevalence of gastrointestinal parasites of stray dogs impounded by the Society for the Prevention of Cruelty to Animals (SPCA), Durban and Coast, South Africa. Journal of the South African Veterinary Association. 2010. № 81(2). P. 123–125.
15. Сорока Н.М., Дахно Ю.І. Гельмінтофауна собак центральної частини України. Науковий вісник НУБіП України. К., 2010. Вип. 151. Ч. 2. С. 176–178.
16. Sulieman Y., Zakaria M.A., Pengsakul T. Prevalence of intestinal helminth parasites of stray dogs in Shendi area, Sudan. Ann Parasitol. 2020. № 66(1). P. 115–118. Doi: <https://doi.org/10.17420/ap6601.246>.
17. Никулин Ю. Т. Реактивные гистологические изменения в лимфатических узлах при экспериментальном токсокарозе. Тр. VII Междунар. науч.-практ. конф. «Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов человека, животных и растений». Витебск: ВГМУ, 2010. С. 162–165.
18. Прийма О. Б. Поширення та сезонна динаміка токсокарозу собак різних порід у Львівській області. Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького, 2010. Т. 12. № 3 (45). Ч. 1. С. 182–185.
19. Venco L., Valenti V., Genchi M., Grandi G. A Dog with Pseudo-Addison Disease Associated with *Trichuris vulpis* Infection. J Parasitol Res. 2011. 3 p. Doi: <https://doi.org/10.1155/2011/682039>.
20. Car S., Croton C., Haworth M. Pseudohypoadrenocorticism in a Siberian Husky with *Trichuris vulpis* Infection. Case Rep Vet Med. 2019. 5 p. Doi: <https://doi.org/10.1155/2019/3759683>.
21. Morphobiological analysis of *Trichuris vulpis* (Nematoda, Trichuridae), obtained from domestic dogs / V.A. Yevstafieva et al. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2019. № 10(2). P. 165–171. Doi: <https://doi.org/10.15421/021924>.
22. Al-Jassim K.B.N., Mahmmod Y.S., Salem Z.M., Al-Jubury A. Epidemiological investigation of gastrointestinal parasites in dog populations in Basra province, Southern Iraq. J Parasit Dis. 2017. № 41(4). P. 1006–1013. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12639-017-0926-2>.
23. Contamination of Italian parks with canine helminth eggs and health risk perception of the public / G. Simonato et al. Prev Vet Med. 2019. Vol. 172. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104788>.
24. Клименко О. С. Поширення кишкових нематодозів собак у приватних господарствах Полтавської області. Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2011. № 4. С. 25–28.
25. A field survey on parasites and antibodies against selected pathogens in owned dogs in Lilongwe, Malawi / K. Alvåsen et al. J S Afr Vet Assoc. 2016. № 87(1). P. 100–106. Doi: <https://doi.org/10.4102/jsava.v87i1.1358>.
26. Endoparasitic infections in dogs from rural areas in the Lobos District, Buenos Aires province, Argentina / M.C. Dopchiz et al. Rev Bras Parasitol Vet. 2013. № 22 (1). P. 92–97. Doi: <https://doi.org/10.1590/s1984-29612013005000008>.
27. Hasegawa H., Dewi K. Two new species of *Trichuris* (Nematoda: Trichuridae) collected from endemic murines of Indonesia. Zootaxa. 2017. № 4254(1). P. 127–135.

28. Prevalence of gastrointestinal parasites in domestic dogs in Tabasco, southeastern Mexico/ O.M. Torres-Chablé et al. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2015. № 24(4). P. 432–437. Doi:<https://doi.org/10.1590/S1984-29612015077>.

29. First report of *Eucolus boehmi* (syn. *Capillaria boehmi*) in dogs in north-western Italy, with scanning electron microscopy of the eggs/ M. Magi et al. *Parasite.* 2012. № 19 (4). P. 433–435. Doi:<https://doi.org/10.1051/parasite/2012194433>.

30. Про стан захворюваності населення на гельмінтози в м. Тернополі / Є. С. Безрукий та ін. Зб. матеріалів науково-практичної конференції «Довкілля і здоров'я». Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. 12 с.

31. Gastrointestinal helminths in dog feces surrounding suburban areas of Lower Dir district, Pakistan: A public health threat/ W. Khan et al. *Braz J Biol.* 2019. S1519-69842019005014101. Doi: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.211956>.

REFERENCES

1. Yong, T.S., Lee, K.J., Shin, M.H. (2019). Prevalence of Intestinal Helminth Infections in Dogs and Two Species of Wild Animals from Samarkand Region of Uzbekistan. *Korean J Parasitol.* no. 57(5), pp. 549–552. Available at:<https://doi.org/10.3347/kjp.2019.57.5.549>.

2. Zanzan, S.A., Di Cerbo, A.R., Gazzonis, A.L. (2014). Canine fecal contamination in a metropolitan area (Milan, north-western Italy): prevalence of intestinal parasites and evaluation of health risks. *Scientific World Journal.* Vol. 2014, 6 p. Available at:<https://doi.org/10.1155/2014/132361>.

3. Pavlenko, S.V., Lucenko, L.I., Mishhenko, A.A. (2005). Laboratorna diagnostyka parazytarnykh zahvorjuvan' m'jasoi'dnykh tvaryn: metodychni rekomendacii' [Laboratory diagnosis of parasitic diseases of carnivores: guidelines]. Kyiv, 47 p.

4. Smout, F.A., Skerratt, L.F., Johnson, C.N., Butler, J.R.A., Congdon, B.C. (2018). Zoonotic Helminth Diseases in Dogs and Dingoes Utilising Shared Resources in an Australian Aboriginal Community. *Trop Med Infect Dis.* no. 3(4), 110 p. Available at:<https://doi.org/10.3390/tropicalmed3040110>.

5. Karamon, J., Dąbrowska, J., Kochanowski, M., Samorek-Pieróg, M., Sroka, J., Różycki, M., Bilska-Zajac, E., Zdybel, J., Cencek, T. (2018). Prevalence of intestinal helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in central Europe (Poland): a significant zoonotic threat. *Parasit Vectors.* №11(1), 436 p. Available at:<https://doi.org/10.1186/s13071-018-3021-3>.

6. Bindke, J.D., Springer, A., Böer, M., Strube, C. (2017). Helminth Fauna in Captive European Gray Wolves (*Canis lupus lupus*) in Germany. *Front Vet Sci.* no. 4, 228 p. Available at:<https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00228>.

7. Paoletti, B., Iorio, R., Traversa, D. (2017). Helminth infections in faecal samples of Apennine wolf (*Canis lupus italicus*) and Marsican brown bear (*Ursus arctos marsicanus*) in two protected national parks of central Italy. *Ann Parasitol.* no. 63(3), pp. 205–212. Available at:<https://doi.org/10.17420/ap6303.107>.

8. Phosuk, I., Sanpool, O., Thanchomnang, T. (2018). Molecular Identification of *Trichuris suis* and *Trichuris trichiura* Eggs in Human Populations from Thailand, Lao PDR, and Myanmar. *Am J Trop Med Hyg.* no. 98(1), pp. 39–44. Available at:<https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0651>.

9. Felsmann, M., Michalski, M., Felsmann, M. (2017). Invasive forms of canine endoparasites as a potential threat to public health - A review and own studies. *Ann Agric Environ Med.* no. 24(2), pp. 245–249. Available at:<https://doi.org/10.5604/12321966.1235019>.

10. Figueiredo, A., Oliveira, L., Madeira de Carvalho, L., Fonseca, C., Torres, R.T. (2016). Parasite species of the endangered Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) and a sympatric widespread carnivore. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* no. 5 (2), pp.164–167. Available at:<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.04.002>.

11. Gillespie, S., Bradbury, R.S. (2017). A Survey of Intestinal Parasites of Domestic Dogs in Central Queensland. *Trop Med Infect Dis.* no. 2 (4), 60 p. Available at:<https://doi.org/10.3390/tropicalmed2040060>.

12. Scaramozzino, P., Carvelli, A., Iacoponi, F., De Liberato, C. (2018). Endoparasites in household and shelter dogs from Central Italy. *Int J Vet Sci Med.* no. 6 (1), pp. 45–47. Available at:<https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.04.003>.

13. Rinaldi, L., Pennacchio, S., Musella, V., Maurelli, M.P., La Torre, F. (2015). Helminth control in kennels: is the combination of milbemycin oxime and praziquantel a right choice? *Parasit Vectors.* pp. 8–30. Available at:<https://doi.org/10.1186/s13071-015-0647-2>.

14. Mukaratirwa, S., Singh, V. P. (2010). Prevalence of gastrointestinal parasites of stray dogs impounded by the Society for the Prevention of Cruelty to Animals (SPCA), Durban and Coast, South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association.* 81(2), pp. 123–125.

15. Soroka, N.M., Dahno, Ju.I. (2010). Gel'mintofauna sobak central'noi' chastyny Ukrainy [Helminth fauna of dogs of the central part of Ukraine]. *Naukovyj visnyk NUBiP Ukrainy* [Scientific Bulletin of NULES of Ukraine]. K., Issue 151, Part 2, pp. 176–178.

16. Sulieman, Y., Zakaria, M.A., Pengsakul, T. (2020). Prevalence of intestinal helminth parasites of stray dogs in Shendi area, Sudan. *Ann Parasitol.* no. 66(1), pp. 115–118. Available at:<https://doi.org/10.17420/ap6601.246>.

17. Nykulyn, Ju.T. (2010). Reaktivnye gistologicheskie izmeneniya v limfaticeskikh uzlah pri jeksperimental'nom toksokaroze [Reactive histological changes in the lymph nodes with experimental toxocariasis]. *Tr. VII Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. «Sovremennye aspekty patogeneza, kliniki, diagnostiki, lechenija i profilaktiki protozoozov, gel'mintozov i arahnozentomozov cheloveka, zhivotnyh i rastenij»* [Tr. VII International scientific-practical conf. «Modern aspects of pathogenesis, clinic, diagnosis, treatment and prevention of protozoa, helminthiases and arachnoentomoses of humans, animals and plants»]. Vitebsk: VGMU, pp. 162–165.

18. Pryjma, O.B. (2010). Poshyrennja ta sezonna dynamika toksokarozy sobak riznyh porid u L'vivs'kij oblasti [Distribution and seasonal dynamics of toxocariasis of dogs of different breeds in Lviv region]. *Naukovyj visnyk LNUVMBT im. S. Z. Gzhyc'kogo* [Scientific Bulletin Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Vol. 12, no. 3 (45), Part 1, pp. 182–185.

19. Venco, L., Valenti, V., Genchi, M., Grandi, G. (2011). A Dog with Pseudo-Addison Disease Associated with *Trichuris vulpis* Infection. *J Parasitol Res.* 9 p. Available at:<https://doi.org/10.1155/2011/682039>.

20. Car, S., Croton, C., Haworth, M. (2019). Pseudohypoadrenocorticism in a Siberian Husky with *Trichuris vulpis*

Infection. Case Rep Vet Med. 5 p. Available at: <https://doi.org/10.1155/2019/3759683>.

21. Yevstafieva, V.A., Kravchenko, S.O., Gutyj, B.V., Melnychuk, V.V., Kovalenko, P.N., Volovyk, L.B. (2019). Morphobiological analysis of *Trichuris vulpis* (Nematoda, Trichuridae), obtained from domestic dogs. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 10(2), pp. 165–171. Available at: <https://doi.org/10.15421/021924>

22. Al-Jassim, K.B.N., Mahmmoud, Y.S., Salem Z.M., Al-Jubury, A. (2017). Epidemiological investigation of gastrointestinal parno. no. 41(4), pp. 1006–1013. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12639-017-0926-2>.

23. Simonato, G., Cassini, R., Morelli, S. (2019). Contamination of Italian parks with canine helminth eggs and health risk perception of the public. Prev Vet Med. Vol. 172. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104788>.

24. Klymenko, O. S. (2011). Poshyrennja kyshkovykh nematodoziv sobak u pryvatnykh gospodarstvakh Poltavskoi oblasti [Distribution of intestinal nematodes of dogs in private farms of Poltava region]. Visnyk Poltavskoi derzhavnoi agrarnoi akademii [Bulletin of the Poltava State Agrarian Academy]. no. 4, pp. 25–28.

25. Alvåsen, K., Johansson, S.M., Höglund, J., Ssuna, R., Emanuelson, U. (2016). A field survey on parasites and antibodies against selected pathogens in owned dogs in Lilongwe, Malawi. J S Afr Vet Assoc. no. 87(1), pp. 100–106. Available at: <https://doi.org/10.4102/jsava.v87i1.1358>.

26. Dopchiz, M.C., Lavallén, C.M., Bongiovanni, R. (2013). Endoparasitic infections in dogs from rural areas in the Lobos District, Buenos Aires province, Argentina. Rev Bras Parasitol Vet. no. 22(1), pp. 92–97. Available at: <https://doi.org/10.1590/s1984-29612013005000008>.

27. Hasegawa, H., Dewi, K. (2017). Two new species of *Trichuris* (Nematoda: Trichuridae) collected from endemic murines of Indonesia. Zootaxa. 4254(1), pp. 127–135.

28. Torres-Chablé, O.M., García-Herrera, R.A., Hernández-Hernández, M. (2015). Prevalence of gastrointestinal parasites in domestic dogs in Tabasco, southeastern Mexico. Rev Bras Parasitol Vet. no. 24(4), pp. 432–437. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015077>.

29. Magi, M., Guardone, L., Prati, M.C., Torracca, B., Macchioni, F. (2012). First report of *Eucoleus boehmi* (syn. *Capillaria boehmi*) in dogs in north-western Italy, with scanning electron microscopy of the eggs. Parasite. no. 19(4), pp. 433–435. Available at: <https://doi.org/10.1051/parasite/2012194433>.

30. Bezrukyj, Je.S., Kozjar, B.Je., Polishchuk, A.O. (2013). Pro stan zahvorjovanosti naselennja na gel'mintozy v m. Ternopoli [On the incidence of helminthiasis in Ternopil]. Zb. materialiv naukovo-praktychnoi konferencii «Dovkillja i zdorov'ja» [Coll. materials of the scientific-practical conference "Environment and Health"]. Ternopil: Ukrmedknyha, 12 p.

31. Khan, W., Nisa, N.N., Ullah, S. (2019). Gastrointestinal helminths in dog feces surrounding suburban areas of Lower Dir district, Pakistan: A public health threat. Braz J Biol. pii: S1519-69842019005014101. Available at: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.211956>.

Епізоотическа ситуація відносно нематодозів шлудочно-кишечного каналу собак

Сайченко І.В., Антипов А.А.

Нематодози шлудочно-кишечного каналу розпространені серед собак на території України, і біль-

шинства других стран мира. Економічний ущерб в собаководстві при інвазійних захворюваннях достатньо великий. Тому метою дослідження було в'ясувати епізоотическу ситуацію відносно нематодозів шлудочно-кишечного каналу у собак різних вікових, статевих і породних груп в Белоцерковському районі Київської області. Дослідження проводили на території єдиноквартирних господарств приватного сектору 15-ти населених пунктів Белоцерковського району і на територіях притулків для бездомних тварин г. Біла Церква. Копрооскопіческі дослідження проводили комбінованим методом, стандартизованим Г.А. Котельниковим і В.М. Хреновим. По результатам дослідження проб фекалій від собак Белоцерковського району, встановлено широке розпространення нематодозів шлудочно-кишечного каналу (ЕІ складала 50,18 %). Виділені яйця таких нематод як *Trichuris vulpis*, *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Toxascaris leonina*, *Strongyloides stercoralis*. Захворювання реєстрували в формі моноінвазій, серед яких на трихуриоз приходилася найбільша частка уражених (27,11 %), токсокароз (6,59 %), анкілостомоз (1,83 %) і міксінвазій, в складі яких знову ж лідували трихуриди. Найбільше уражені тварини від народження до 7 років. Відносно статі, то більш уразимими були самки. Найвища екстенсивність інвазії була серед беспородних собак (51,56 %). Більшість собак даної групи уражені трихуридами (54,55 %) і міксінвазіями (29,29 %), в складі яких також входили *T. vulpis*. Породи німецька овчарка, такса, російський спанієль мали найбільший відсоток ураженості нематодами всіх досліджуваних порід. Лідером серед возбудителів був *T. vulpis*, охопивший більшу частку (52,63 %) порід, міксінвазії склали 28,94 %, в складі яких входив *T. vulpis*. Устойчивими виявилися породи бельгійська овчарка, шпіц, російсько-європейська лайка, алабай.

Ключеві слова: собака, інвазія, трихуриоз, токсокароз, анкілостомоз, токсокароз, розпространення, копрооскопіческі дослідження, екстенсивність інвазії, інтенсивність інвазії.

An epizootic situation is in relation to the nematodosis of gastroenteric channel of dogs

Saichenko I., Antipov A.

Gastrointestinal nematodes are prevalent among dogs in Ukraine and most other countries. Economic losses in dog breeding for invasive diseases are difficult to calculate in material terms, but they are clearly manifested in terms of animal health. Therefore, the purpose of the research was to find out the epizootic situation regarding the nematodes of the gastrointestinal tract in dogs of different age, sex and breed groups in the Belotserkovsky district of Kyiv region. The studies were conducted on the territory of single-sector private sector farms of 15 settlements of Belotserkovsky district and on the territories of shelters for homeless animals of Belaya Tserkov. Koprovoskopichesky researches were carried out by the combined method standardized by Kotelnikov - Hrenov. According to the results of coproscopy of samples from dogs of the Belotserkovsky area, a significant spread of nematodes of the gastrointestinal canal was established (EI was 50.18%). Eggs of such nematodes as *Trichuris vulpis*, *Toxocara canis*, *Ancylostoma*

caninum, *Toxascaris leonina*, *Strongyloides stercoralis* were isolated. Diseases were recorded in the form of mono-invasions, among which the largest proportion of the affected were *trihuriza* (27.11%), *toxocariasis* (6.59), *ankylostomosis* (1.83%), and *myxinvasions*, which again led the *trichuris*. Animals from birth to 7 years were most affected. In terms of gender, females were more vulnerable. The highest incidence of invasion was among outbred dogs (51.56%). Most dogs in this group are affected by *trichuris* (54.55%) and *myxinvasia* (29.29%), which also included *T. vulpis*.

Breeds German Shepherd, Dachshund, Russian Spaniel had the highest percentage of nematode infestations among all studied breeds. The leader among pathogens was *T. vulpis*, which covered more than half (52.63%) of rocks, *myxinvasions* were 28.94%, which included *T. vulpis*. The breeds of the Belgian shepherd, shih-tzu, Russian-European chamomile, alabai were resistant.

Key words: dog, invasion, trichrosis, toxocariasis, ankylostomosis, toxascarose, distribution, koproovoskopichni research, extensiveness of invasion, intensity of invasion.



Copyright: © Сайченко І.В., Антіпов А.А. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Сайченко І.В.

ID <https://orcid.org/0000-0003-3551-9075>

Антіпов А.А.

ID <https://orcid.org/0000-0003-3955-3377>

ТЕРАПІЯ ТА КЛІНІЧНА ДІАГНОСТИКА

УДК 619:612.1:616.12–008.315:636.7

Показники гемопоезу та біохімічного профілю крові собак за хронічної серцевої недостатності

Трофім'як Р.М. , Слівінська Л.Г. 

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького

 E-mail: fiosfiona@gmail.com



Трофім'як Р.М., Слівінська Л.Г. Показники гемопоезу та біохімічного профілю крові собак за хронічної серцевої недостатності. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 63–71.

Trofim'yak R.M., Slivins'ka L.G. Pokaznyky hemopoezu ta biohimichnogo profilju krvi sobak za hronichnoi' sercevoi' nedostatnosti. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 63–71.

Рукопис отримано: 09.02.2020р.

Прийнято: 21.02.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-63-71

У статті наведені результати дослідження крові собак із ознаками хронічної серцевої недостатності (ХСН) з метою підтвердження або спростування наявності захворювань внутрішніх органів, котрі можуть бути як сприяючими факторами, так і наслідками порушення роботи серцево-судинної системи.

Згідно з отриманими даними, у 22,2 % тварин дослідної групи встановлено нейтрофільний лейкоцитоз, у 50,0 % – анемію (у 77,8 % – гіпохромна, 38,9 % – мікроцитарна, 77, 8% – нерегенеративна). Залежно від порушення співвідношення сегментоядерних нейтрофілів, у собак реєстрували нейтрофільний лейкоцитоз із регенеративним зсувом ядра вліво (13,8 %) і вправо (5,6 %), та без змін у лейкограмі (2,8 %). Слід зазначити, що у 55,6 % тварин із ознаками ХСН також діагностували зміни у співвідношенні сегментоядерних нейтрофілів (дегенеративний зсув ядра вліво) за відсутності лейкоцитозу.

За результатами біохімічного профілю у 8,3 % тварин встановлено гіпопротеїнемію, у 13,8 % – гіпоальбумінемію, у 16,7 і 19,4 % виявлено відповідно підвищення концентрації сечовини та креатиніну. Гіпокальціємію встановлено у 5,6 % собак, натомість гіперкальціємію реєстрували у 19,4 %, вміст неорганічного фосфору був вищим у 13,9 % тварин. Активність ензимів (АлАТ, АсАТ, ЛФ, ГГТП) у сироватці крові собак дослідної групи коливалася у широких межах і була вищою АлАТ ($p < 0,001$), АсАТ ($p < 0,05$), ЛФ ($p < 0,001$), ГГТП ($p < 0,01$) у порівнянні із контрольною групою. Таким чином, у дослідній групі тварин ($n=36$), інтерпретуючи отримані показники і враховуючи взаємозв'язки між ними, у 22,2 % виявлено холестатичний синдром, у 22,2 % – гепатопатію, у 11,1 % – хронічну хворобу нирок, у 8,3 % – ентеропатію, у 5,5 % – паранеопластичний синдром.

Оцінка показників гемопоезу та біохімічного профілю крові у собак із ознаками ХСН є актуальною, оскільки дозволяє діагностувати супутні захворювання, що можуть впливати на прогноз, а своєчасне їхнє виявлення та корекція підвищать ефективність лікування.

Ключові слова: хронічна серцева недостатність, собака, загальний аналіз крові, анемія, лейкоцитоз, гіпоальбумінемія, хронічна хвороба нирок, холестаз, гепатопатія.

Постановка проблеми. Серцеві захворювання у домашніх тварин на початкових стадіях можуть розвиватись безсимптомно або симптоматика є невиразна та періодична. Тому власники найчастіше дізнаються про наявність

захворювань серця у своїх тварин лише з початком розвитку хронічної серцевої недостатності з її характерними симптомами. Хронічна серцева недостатність (ХСН) – синдром, що розвивається внаслідок захворювань серце-

во-судинної системи, характеризується порушенням діастолічної та/або систолічної функції серця і супроводжується довготривалою гіперактивацією нейрогуморальної системи. Її прогресуванню сприяють наявність колапсу трахеї у дрібних порід, перенесені у минулому трансмісивні захворювання, незбалансованість раціонів, хвороби зубів.

ХСН – актуальна проблема ветеринарної медицини, оскільки є провідною причиною загибелі собак із захворюваннями серцево-судинної системи, вона є найбільш поширеною клінічною характеристикою тварин із хворобами серця. Ознаки ХСН, включаючи безсимптомну дисфункцію лівого шлуночка, зустрічаються у 10 % собак, на вроджені захворювання припадає 1 випадок із 10, а тяжкі форми хронічної серцевої недостатності – у 3,5 % [1]. З кожним роком кількість тварин, хворих на ХСН, зростає, що зумовлено відносним збільшенням кількості геріатричних собак, порушенням селекційної роботи з цими тваринами, а також неефективністю терапії ХСН. Синдром хронічної серцевої недостатності – це складний комплекс гемодинамічних, нейрогуморальних реакцій, однією із патогенетичних ланок яких є розвиток гіпоксії внутрішніх органів і тканин, що чинить негативний вплив на їхнє функціонування, а також охоплює зміни у процесах розвитку запалення та діяльності імунної системи. У зв'язку з цим, діагностика цієї патології завжди є комплексною і включає методи електрокардіографії, рентгенографії, ехокардіографії та ін. Проте, крім спеціальних методів досліджень, оцінку стану здоров'я пацієнта завжди слід починати із загальноклінічних методів, в т.ч. із клініко-біохімічного аналізу крові.

Аналіз останніх досліджень. Згідно з літературними даними [2], у собак із ознаками хронічної серцевої недостатності кількість лейкоцитів, нейтрофілів у крові є у межах фізіологічної норми. Однак ряд авторів у своїх наукових працях [3, 4] відзначають, що розвиток запальних процесів у собак за цієї патології супроводжується нейтрофілією із регенеративним зрушенням ядра вліво та еозинофілією, особливо за клапанних вад серця.

За результатами досліджень [5, 6], у 14,5–28 % тварин хронічна серцева недостатність супроводжується розвитком анемії легкого та середнього ступенів важкості, яка характеризується одночасним зниженням концентрації гемоглобіну ($Hb < 125$ г/л) і величини гематокриту ($Ht < 35$ %) [2, 6], а також загальної кількості еритроцитів ($RBC < 5,2$ Т/л) [3]. Встановлено позитивну кореляцію між ступенем важкості анемії у собак і класом їх хронічної серцевої

недостатності [6]. За даними авторів [2, 3, 5], тромбоцитоз і тромбоцитопенія у собак із ХСН реєструють поодинокі і при даній патології не становлять діагностичного значення. Аналізуючи результати досліджень [4, 6], слід зазначити, що зміни показників загального аналізу крові залежать не від етіологічних чинників, а від перебігу хронічної серцевої недостатності. Ряд досліджень [3, 5, 7] було проведено у вивченні змін біохімічних показників крові у тварин із ознаками ХСН. Встановлено підвищення активності АлаТ у 31 % собак з ХСН, рівня креатиніну – у 5 %, незначні відхилення концентрації калію і натрію без характерних змін на ЕКГ [5], гіпопротеїнемію – у 9 % [3], а у тварин із надлишковою масою тіла за ХСН – гіперхолестеролемію, гіперферментемію АлаТ [7]. Отже, аналіз літературних джерел вказує на необхідність досліджень біохімічного профілю собак із ХСН для виявлення супутніх змін у роботі внутрішніх органів і підбору індивідуальних схем лікування тварин.

Мета дослідження – провести гематологічне та біохімічне дослідження крові собак із ознаками ХСН, з наступною їх інтерпретацією та корекцією під час лікування.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводили в умовах приватного ветеринарного центру «Ветмед», м. Львів протягом 2014–2016 рр. За цей період клінічно обстежено 5580 тварин, з них у 2956 – діагностували захворювання внутрішніх органів неінфекційної етіології. За поширеністю захворювання серцево-судинної системи у собак посідають сьоме місце (2,33 %) після хвороб шлунково-кишкового каналу, опорно-рухового апарату, шкіри, сечовидільної системи, очей та дихальної системи.

Хвороби серця діагностуємо комплексно з урахуванням даних анамнезу, клінічного обстеження та інструментальних (електрокардіографія, рентгенографія органів грудної порожнини, ехокардіографія) методів дослідження. Згідно з одержаними результатами, сформовано дві групи тварин: контрольна (клінічно здорові, $n=30$) і дослідна (з ознаками ХСН, $n=36$). Серед порід найчисленнішими були собаки породи лабрадор-ретривер, йоркшир-тер'єр, німецька вівчарка, такса, фокстер'єр, пекінес, англійський кокер-спаніель. Віковий діапазон тварин складав 2–13 ($7,1 \pm 0,38$) років. Маса тіла знаходилась в межах 2,1–69,3 ($20,5 \pm 2,05$) кг, нараховувалось 36 самців та 30 самок. Матеріалом для дослідження була кров, забір якої проводили з яремної та підшкірної вени передпліччя натще, використовуючи ін'єкційні голки розміром 0,6x25; 0,7x38 мм, шприци

2 та 5 мл фірми «Гемопласт», вакуумні пробірки без антикоагулянта фірми «Vacutest», а також пробірки для гематологічних досліджень 2 мл, 55x12 мм, фірми «SARSTEDT». Були дотримані усі вимоги правил відбору [8]. Для дослідження гематологічного профілю використовували цільну кров, стабілізовану за допомогою K3 EDTA. Визначали загальну кількість лейкоцитів, їхній розподіл за морфологією, кількість еритроцитів, еритроцитарні індекси (об'єм одного еритроцита MCV, середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті MCH, середня концентрація гемоглобіну в еритроцитарній масі MCHC), вміст гемоглобіну, кількість тромбоцитів. Дослідження виконували на гематологічному аналізаторі ЛНТІ PCE-90 Vet, лейкограму виводили на забарвлених мазках крові за допомогою світлової мікроскопії із використанням біокулярного мікроскопа MICROmed XS-3320.

Для оцінки біохімічного профілю досліджували сироватку крові. Для її одержання пробірки із зразками центрифугували за 3000 об/хв протягом 10 хвилин. За допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора BioChem SA (США), використовуючи реактиви фірм "Audit Diagnostic" "НТІ", "Cormay", визначали вміст загального протеїну і альбумінів, загального білірубину, рівень глюкози, концентрацію сечовини, креатиніну, активності аспарагінової (АсАТ) й аланінової (АлАТ) амінотрансфераз, гамма-глутамілтранспептидази (ГГТП), лужної фосфатази (ЛФ), вміст загального холестеролу, загального кальцію та неорганічного фосфору, концентрацію іонів калію та натрію. Вивчення та інтерпретацію лабораторних показників крові тварин проведено із врахуванням фізіологічного значення кожного з них та у взаємозв'язку між ними. Математичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програмного забезпечення Microsoft Office Excel 2010 за загальноприйнятими методами варіаційної статистики, з оцінкою середнього значення (M), його похибки (m). Вірогідність встановлювали за t -критерієм Стьюдента.

Результати дослідження. Причиною звернення власників тварин до лікарів ветеринарного центру – це скарги на непереносимість фізичних навантажень, зменшення тривалості щоденних прогулянок, втрату маси тіла, пригнічення, неспокій, підвищену сонливість, гіпорексію, тахіпное, диспное, кашель, тимчасову втрату свідомості. Від початку прояву симптомів до звернення минало в середньому $25,6 \pm 2,93$ (4–60) діб. Під час проведення клінічного обстеження у 6 тварин дослідної групи виявлено знижену вгодованість, у 10 – виму-

шене положення тіла в просторі. Температура тіла у 28 тварин була в межах фізіологічних коливань ($37,5\text{--}39,0$ °C), у 8 – виявили гіпотермію ($37,1\text{--}37,4$ °C). У 19 собак реєстрували зміни в кон'юнктиві та слизовій оболонці рота: у 5 собак – ціаноз, 14 – блідість, 10 – сухість, у 18 – збільшення ШНК. Дані зміни зумовлені зниженням хвилинного об'єму крові, анемією, периферичним спазмом судин. У 9 тварин виявили позитивний трахеальний рефлекс і кашель як результат кардіомегалії з наступною компресією лівого бронхіального стовбура. У 24 собак діагностували видимі ознаки затримки рідини в організмі (у 17 – тахіпное, 3 – диспное, 5 – збільшення об'єму черева, 4 – контурування яремних вен), у 23 – відхилення ЧСС (20 – тахікардію, 3 – брадикардію) [9, 10]. За пальпації у 21 хворої тварини виявили зміни серцевого поштовху (у 14 – посилення, 7 – послаблення, 13 – збільшення величини) і пульсу (у 20 – пришвидшений, 3 – сповільнений, 9 – нерегулярний), у 4 – дефіцит пульсу, 28 – пульсова хвиля помірного наповнення, у 8 – слабого наповнення. За допомогою аускультатії у 31 тварини встановили зміни у ритмічності, тривалості та силі серцевих тонів (у 9 – неритмічність, 10 – подовження, 18 – посилення, 5 – ослаблення, 25 – наявність шумів).

Показник кількості еритроцитів у крові собак із ознаками ХСН в середньому становив $5,7 \pm 0,2$ Т/л ($3,7\text{--}7,4$ Т/л), однак у 50,0 % тварин виявили олігоцитемію ($p < 0,05$) (табл.1). Рівень гемоглобіну в крові собак дослідної групи знаходився в межах $86\text{--}180$ г/л і в середньому складав $135,6 \pm 3,85$ г/л за норми $131\text{--}171$ г/л. Олігохромемію встановлено у 38,9 % тварин.

Для диференціації виду анемії, необхідно проводити аналіз еритроцитарних індексів (MCV, MCH, MCHC, RDW-CV), які дають змогу оцінити розмір еритроцитів і вміст в них гемоглобіну, є відносно стабільними параметрами, оскільки характеризують самі клітини, а не їх кількість. Показники MCV у собак із ознаками ХСН і у клінічно здорових тварин були наближеними та не відрізнялись між собою статистично ($p < 0,1$), однак у 19,4 % наявний мікроцитоз. Середні значення показників MCH, MCHC у крові дослідних тварин були вищими ($p < 0,001$) на 8,6 та 10,7 % відповідно, порівняно з контрольною групою. Індекс відсоткового розподілу еритроцитів за об'ємом (RDW-CV) у крові собак дослідної групи є нижчим ($p < 0,001$) у порівнянні із контрольною групою, що відображає наявність досить великої гомогенності популяції еритроцитів. Залежно від індексів "червоної" крові, встановлено наступні види анемії (рис. 1).

Таблиця 1 – Показники гемопоєзу у собак

Показник	Біометричний показник	Група тварин	
		контрольна (n=30)	дослідна (n=36)
Еритроцити (RBC), Т/л	Lim	5,6–7,6	3,7–7,4
	M±m	6,1±0,10	5,7±0,15*
Лейкоцити (WBC), Г/л	Lim	6,2–17,0	6,6–33,5
	M±m	11,3±0,55	13,6±0,98*
Тромбоцити (PLT), Г/л	Lim	142–460	87–527
	M±m	274,6±14,54	277,9±17,07
Об'єм одного еритроцита (MCV), фл	Lim	62,0–68,9	54,9–70,6
	M±m	65,0±0,36	63,1±0,66
Середній вміст гемоглобіну (MCH), пг	Lim	19,9–24,5	19,5–27,7
	M±m	22,0±0,26	23,9±0,38***
Середня концентрація гемоглобіну (MCHC), г/л	Lim	310,0–375,0	290,0–415,0
	M±m	342,7±4,25	379,5±5,16***
Показник анізоцитозу (RDW-CV), %	Lim	13,0–16,4	10,1–18,5
	M±m	13,9±0,16	12,1±0,25***

Примітка: * – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$ – вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи.

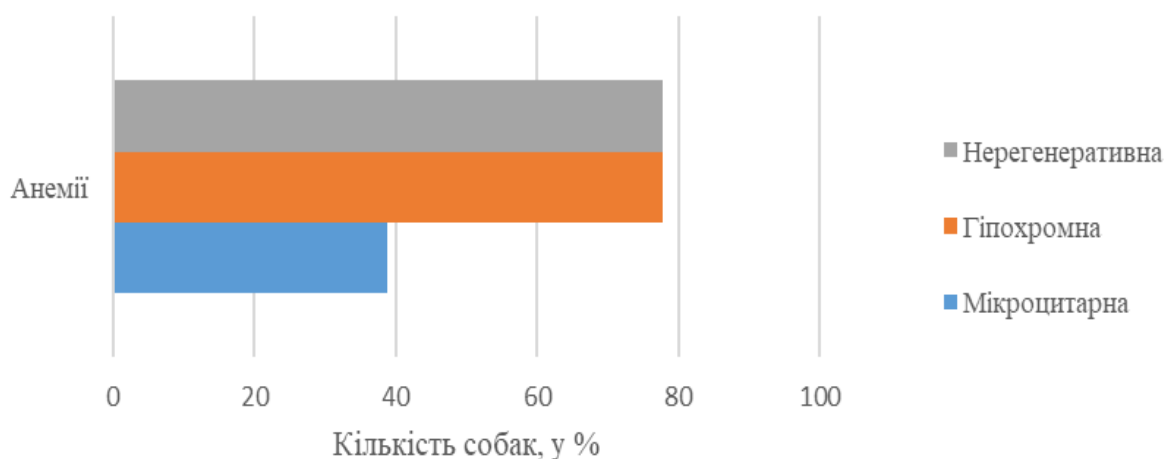


Рис. 1. Співвідношення різних видів анемії у собак за ХСН.

Кількість лейкоцитів у крові собак з ознаками ХСН знаходилась в межах фізіологічних коливань (6,2–17,0 Г/л) і в середньому становила $13,6 \pm 1,0$ Г/л, проте у 22,2 % собак їх кількість була вищою ($p < 0,05$) (табл. 1). Залежно від порушення співвідношення між паличкоядерними та сегментоядерними нейтрофілами, у 13,9 % тварин дослідної групи реєстрували нейтрофільний лейкоцитоз із регенеративним зсувом ядра вліво, у 5,6 % тварин – вправо, та у 2,7 % тварин – без змін у лейкограмі (табл. 2).

Необхідно відмітити, що у 55,6 % собак спостерігали дегенеративний зсув ядра вліво на фоні відсутності лейкоцитозу.

Кількість тромбоцитів у крові тварин дослідної групи в середньому становила $277,9 \pm 17,07$ Г/л, що на 1,2 % більше, ніж у тварин контрольної групи, проте ця різниця не була вірогідною ($p < 0,5$).

Вміст загального протеїну в сироватці крові собак із ознаками ХСН коливався в межах 43,7–99,8 г/л і середній вміст був вищим ($p < 0,05$), порівняно з клінічно здоровими (табл. 3). У 8,3 % встановлено гіпопротеїнемію.

Вміст альбуміну у сироватці крові собак був у нормі (25–36 г/л), проте у 13,8 % – встановлена гіпоальбумінемія. У 16,7 і 19,4 % тварин виявлено відповідно підвищення концентрацій сечовини і креатиніну. Окрім того, середні показники концентрації сечовини та креатиніну в 1,3 і 1,4 ($p < 0,01$) рази, відповідно, були вищими, порівняно із середніми показниками контрольної групи (табл. 3).

Гіпокальціємію встановлено у 5,6 % дослідних тварин, гіперкальціємію – у 19,4 % (табл. 4).

Вміст неорганічного фосфору був вищий значень фізіологічної норми у 13,9 % собак.

Середні показники концентрацій іонів Na^+ і K^+ у сироватці крові тварин із ознаками ХСН були у межах фізіологічних коливань, проте у 19,4 % тварин цієї групи спостерігалась гіпонатріємія (табл. 4).

Активність ензимів (АлАТ, АсАТ, ЛФ, ГГТП) у сироватці крові собак дослідної групи коливалася у широких межах (табл. 5) і була вищою АлАТ ($p<0,001$), АсАТ ($p<0,05$), ЛФ ($p<0,001$), ГГТП ($p<0,01$) у порівнянні із контрольною групою (табл. 5). У 22,2 % собак із ознаками ХСН виявлено поєднану гіперферментемію АлАТ і АсАТ, а у 22,2 % – поєднану гіперферментемію ЛФ і ГГТП.

У 33,3 % тварин дослідної групи встановлено гіпербілірубінемію. Вміст загального білірубину в сироватці крові собак даної групи був у 2 рази ($p<0,001$) вищим порівняно з собаками контрольної групи (табл. 6).

Слід зазначити, що у дев'ятьох тварин – ці відхилення є незначними, натомість у трьох – ознаки порушення пігментної функції печінки були більш вираженими. У 5,5 % собак із ознаками ХСН відзначалась гіпохолестеролемія, в той час як гіперхолестеролемія була наявна в 8,3 % тварин. Рівень глюкози у собак даної групи коливався в межах 1,5–8,6 ммоль/л. Гіпоглікемію встановлено в 13,8 % тварин, в той час як гіперглікемію відзначали в 16,6 %.

Обговорення. ХСН є поширеним клінічним синдромом собак старше 6 років, більшою мірою карликових і великих порід, що зумовлено генетичною схильністю до розвитку хвороб серця: ендокардіоз мітрального клапана (ЕМК), дилатаційна кардіоміопатія (ДКМП). Найчастіше на ХСН хворіють йоркширські тер'єри, чіхуа, німецькі вівчарки, боксери та ін. Симптоматика характеризується прогрес-

Таблиця 2 – Показники нейтрофільних гранулоцитів у крові собак

Нейтрофільні гранулоцити	Біометричний показник	Група тварин	
		контрольна (n=30)	дослідна (n=36)
Паличкоядерні, %	Lim	1–4	1–18
	M±m	3,0±0,20	7,1±0,69***
Сегментоядерні, %	Lim	44–79	47–94
	M±m	61,8±1,64	70,3±1,68**

Примітка: ** – $p<0,01$, *** – $p<0,001$ – вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи.

Таблиця 3 – Показники протеїнового обміну крові собак за ХСН

Показник	Біометричний показник	Група тварин	
		контрольна (n=30)	дослідна (n=36)
Загальний протеїн, г/л	Lim	55,0–75,0	43,7–99,8
	M±m	62,8±1,04	67,6±1,93*
Альбумін, г/л	Lim	25,0–36,0	21,0–39,7
	M±m	30,4±0,60	30,7±0,79
Сечовина, ммоль/л	Lim	3,0–11,0	2,5–38,2
	M±m	6,8±0,42	8,6±1,24
Креатинін, мкмоль/л	Lim	3,0–11,0	40,2–364,5
	M±m	77,7±3,41	107,2±10,35**

Примітка: * – $p<0,05$, ** – $p<0,01$ – вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи.

Таблиця 4 – Показники водно-іонного обміну крові собак за ХСН

Показник	Біометричний показник	Група тварин	
		контрольна (n=30)	дослідна (n=36)
Загальний кальцій, ммоль/л	Lim	2,0–3,1	1,6–3,7
	M±m	2,5±0,05	2,7±0,08*
Неорганічний фосфор, ммоль/л	Lim	1,0–2,0	0,8–6,0
	M±m	1,4±0,04	1,8±0,20
Натрій Na^+ , ммоль/л	Lim	140,0–157,0	130,4–156,9
	M±m	148,7±1,03	146,2±1,10
Калій K^+ , ммоль/л	Lim	3,5–5,6	3,6–5,9
	M±m	4,4±0,11	4,6±0,11

Примітка: * – $p<0,05$ – вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи.

Таблиця 5 – Активність ензимів у сироватці крові собак за ХСН

Показник	Біометричний показник	Група тварин	
		контрольна (n=30)	дослідна (n=36)
АлАТ, Од/л	Lim	16,3–80,0	19,6–366,5
	M±m	44,8±3,19	99,1±15,19***
АсАТ, Од/л	Lim	20,2–70,0	14,6–376,0
	M±m	39,8±2,32	63,6±10,65*
ЛФ, Од/л	Lim	10,0–105,0	12,8–327,1
	M±m	47,7±4,23	102,5±14,66***
ГГТП, Од/л	Lim	0,1–6,0	0,9–22,6
	M±m	3,1±0,3	5,6±0,72**

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи.

Таблиця 6 – Вміст загального білірубину, холестеролу і глюкози у сироватці крові собак за ХСН

Показник	Біометричний показник	Група тварин	
		контрольна (n=30)	дослідна (n=36)
Загальний білірубін, мкмоль/л	Lim	2,0–9,0	2,48–20,5
	M±m	4,1±0,28	8,2±0,71***
Холестерол, ммоль/л	Lim	2,8–6,9	1,6–10,3
	M±m	4,6±0,25	4,8±0,28
Глюкоза, ммоль/л	Lim	3,0–7,0	1,5–8,59
	M±m	4,8±0,22	5,4±0,29

Примітка: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи.

суючим проявом, типовими ознаками якого є швидка втомлюваність, втрата маси тіла, важке дихання в стані спокою, кашель, блідість слизових оболонок. Також встановлено відхилення у результатах показників крові. Зниження кількості еритроцитів у крові собак із ознаками ХСН є одним із критеріїв діагностики розвитку анемії. За дослідження основних еритроцитарних індексів встановлено, що у 19,4 % тварин дослідної групи знижується значення MCV, однак значення RDW-CV в межах норми, що на фоні зниження рівня гемоглобіну і кількості еритроцитів свідчить про розвиток мікроцитарної гіпохромної нерегенеративної анемії. Натомість у 25 % собак зниження кількості еритроцитів спостерігається без зміни їхнього середнього корпускулярного об'єму, що характерно для нерегенеративної нормоцитарної анемії. Незначне зростання показників MCH та MCHC слід розглядати як компенсаторну реакцію організму у відповідь на хронічну нерегенеративну анемію. В свою чергу, даний клініко-гематологічний синдром посилює прояв ХСН і погіршує прогноз [12]. До етіопатогенетичних чинників його виникнення у тварин дослідної групи відносять довготривалий перебіг симптомів ХСН без медикаментозної підтримки, гемодилуцію (затримка рідини в організмі), хронічну хворобу нирок (кардіоренальний уремичний синдром) [13], хронічні захворювання ШКТ, сечового міхура, шкіри

(т. зв. анемія запалення) [14], неопластичні процеси молочних залоз, хронічну гельмінтну чи блошинну інвазію, порушення у годівлі (нестача феруму). Окрім того, тривалі анемії можуть бути причиною розвитку ХСН через активацію нейрогуморальних механізмів [12].

Дегенеративний зсув ядра вліво на фоні відсутності лейкоцитозу свідчить про пригнічення функції кровотворення у "червоному" кістковому мозку, як результат впливу тривалої гіпоксії та порушення кровообігу за розвитку синдрому ХСН. Поява молодих незрілих форм нейтрофілів (нейтрофілія із регенеративним зсувом ядра вліво) вказує на хронічну інтоксикацію в організмі хворих тварин через зниження насосної функції серця [11], а також – на запальні процеси інфекційного походження [12]. Аналізуючи дані анамнезу і проведеного комплексного дослідження, було встановлено, що гострий перебіг запального процесу в багатьох собак із ознаками ХСН спостерігається на фоні супутніх захворювань, а саме ендометрит-піометри комплексу, глибоких піодермій, гастроентеритів, наявності новоутворів на стадії абсцесдації. Виражений лейкоцитоз і нейтрофілія із зсувом ядра вправо вказують на довготривалі запальні процеси, зокрема за рецидивуючих запальних змін у ротовій порожнині, затяжних отитах та циститах.

Розвиток гіпопротеїнемії зумовлений порушенням умов годівлі тварин, наявністю

нефропатій із втратою протеїну, ентеропатій. Зниження вмісту альбуміну очевидно є результатом порушення протеїнсинтезувальної функції печінки і наявності процесів мальдигестії та мальабсорбції у шлунково-кишковому каналі [7]. Супутнім розладом за розвитку гіпоальбумінемії та ентеропатії із втратою протеїну є поява гіпокальціємії. Гіперкальціємію спостерігають при зневодненні організму і паранеопластичному синдромі за новоутворів молочних залоз, шкіри. Одночасне підвищення концентрації сечовини, креатиніну і вмісту неорганічного фосфору вказує на розвиток хронічної хвороби нирок. У собак із ознаками ХСН гіпонатріємія пов'язана із процесами деполяризації в ушкодженому міокарді. Наявність поєднаної гіперферментемії (АлАТ і АсАТ) має діагностичну цінність за ушкоджень структури клітин печінки та початку розвитку синдрому цитолізу гепатоцитів [18, 19]. Порушення пігментної функції печінки, зростання активності ЛФ і ГГТП свідчать про розвиток холестатичного синдрому. При цьому, за розвитку холестазу в позапечінкових жовчних протоках у сироватці крові зростає активність лужної фосфатази (ЛФ), а внутрішньопечінкових – гамма-глутамілтрансептидази (ГГТП). Також у собак із ознаками ХСН відзначається гіпохолестеролемія, що характерно за гепатопатії внаслідок зниження синтетичної функції гепатоцитів і зміни метаболізму жовчних кислот [18]. Наявність гіперхолестеролемії у хворих тварин пов'язана з гепатопатією, холестазом і хронічною хворобою нирок. Причинами гіпоглікемії є порушення всмоктування поживних речовин із ШКТ, ушкодження паренхіми печінки [19], нефропатії [16]. Гіперглікемія, на нашу думку, зумовлена стресом, оскільки ці відхилення є незначними.

Висновки.

1. У 83 % собак дослідної групи розвиток ХСН є проявом первинного серцевого захворювання (ендокардіоз атріовентрикулярних клапанів, ДКМП, аритмогенна кардіоміопатія правого шлуночка, стенози головних судин), у 10 % є вторинною (дирофіляріоз, хронічні захворювання органів дихання, гіпотиреоз, рено-кардіальний синдром, хіміотерапія). У 7 % собак хронічна серцева недостатність розвивається самостійно із іншими захворюваннями (новоутвори, хвороби шкіри, хвороби гепатобіліарної системи, без суттєвих змін у портальній системі).

2. У 22,2 % собак із ознаками ХСН встановлено нейтрофільний лейкоцитоз, який у 13,8 % супроводжувався зсувом ядра вліво, а у 5,6 % – вправо.

3. У 50 % тварин дослідної групи виявлено анемію. Анемічний синдром за ХСН є поліфакторним і характеризується розвитком хронічної мікроцитарної гіпохромної нерегенеративної анемії та хронічної нормоцитарної нерегенеративної анемії.

4. У 22,2 % собак із ознаками ХСН супутньо виявлено холестатичний синдром, у 22,2 % – гепатопатію, у 11,1 % – хронічну хворобу нирок, у 8,3 % – ентеропатію, у 5,5 % – паранеопластичний синдром.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Илларионова В.К. Диагностика болезней сердца у собак и кошек. М.: Колос, 2010. 135с.
2. Farabaugh A. E., Freeman L. M., Rush J. E. Lymphocyte subpopulations and hematologic variables in dogs with congestive heart failure. *J vet Intern Med.* 2004. Vol 18. P. 505–509. PMID: 15320588 Doi: [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2004\)18<505: Isahvi>2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2004)18<505: Isahvi>2.0.co;2)
3. Sesh P. S., Venkatesan P., Jeyaraja K. Blood biochemical, enzymatic and hematological status of dogs affected with dilated cardiomyopathy. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology.* 2013. P. 47–51. URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/dd98/89aabcd71cb064ae59a132a7ef48b07c4a33.pdf>
4. Руденко А. А. Кардіоміопатії та набуті вади серця в собак (етіологія, патогенез, діагностика і лікування): дис. д-ра вет. наук : 16:00:01. Київ, 2013. 344 с.
5. Deepti B. R., Yathiraj S. Hematological and biochemical variables in congestive heart failure in dogs. *International Journal of Science, Environment Technology.* 2015. P. 836–840. URL: <http://www.ijset.net/journal/704.pdf>
6. Yu I.B.Y., Huang H.P. Prevalence and Prognosis of Anemia in Dogs with Degenerative Mitral Valve Disease. *BioMed Research International.* 2016. P. 1–5. Doi: <https://doi.org/10.1155/2016/4727054>
7. Piantedosi D., Loria A.Di., Guccione J. Serum biochemistry profile, inflammatory cytokines, adipokines and cardiovascular findings in obese dogs. *The Veterinary Journal.* 2016. Vol. 216. P. 72–78. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.07.002>
8. Влізлю В.В., Слівінська Л. Г., Максимович І. А. Лабораторна діагностика у ветеринарній медицині: довідник, 2-ге вид. Львів: Афіша, 2014. 152 с.
9. Tilley P.L., Francis W. K., Smith J., Oyama M. A. Manual of canine and feline cardiology. Copyright by Saunders, 4th edition, an imprint of Elsevier Inc. 2008. P. 105–106.
10. Dukes-McEwan J., Borgarelli M., Tidholm A., Volmar A. Proposed Guidelines for the Diagnosis of Canine Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology.* 2003. P. 7–19. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1760-2734\(06\)70047-9](https://doi.org/10.1016/S1760-2734(06)70047-9)
11. Монсеев Е. Н. Клинико-морфологические изменения и эффективность применения вазотопа при лечении больных кардиомегалией собак: дисс. канд. вет. наук: 06:02:01. Саратов, 2011. 114 с.
12. Герке В. С. Основы кардиологического обследования собак. *Vetpharma.* 2013. № 4. С. 40–46.
13. Martinelli E., Locatelli C., Bassis S., Paltrinieri S. Preliminary Investigation of Cardiovascular-Renal Disorders

in Dogs with Chronic Mitral Valve Disease. *J Vet Intern Med.* 2016. Vol 30. P. 1612–1618. PMID: 27717188, Doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.14524>

14. Vatikov Y., Rudenko A., Rudenko P., Kulikov E. Immune-inflammatory concept of the pathogenesis of chronic heart failure in dogs with dilated cardiomyopathy. *Vet World.* 2019. Vol 12. P. 1491–1498. PMID: 31749587 Doi: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1491-1498>

15. Boswood A., Murphy A. The effect of heart disease, heart failure and diuresis on selected laboratory and electrocardiographic parameters in dogs. *Journal of Veterinary Cardiology.* 2006. P. 1–9. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2005.12.001>

16. Bartges J. W. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 2012. P. 669–692. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.008>

17. Borgarelli M., Tarducci A., Tidholm A., Häggström J. Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part II: pathophysiology and therapy. *The Veterinary Journal.* 2001. P. 182–195. Doi: <https://doi.org/10.1053/tvj.2001.0616>

18. Гудима Т.М. Функціональний стан печінки у собак службових порід за диспансеризації. *Наук. вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького.* 2016, № 3 (1). С. 96–103.

19. Chapman C.E., Hostutler R.A. A Laboratory Diagnostic Approach to Hepatobiliary Disease in Small Animals. *Clinics in Laboratory Medicine.* 2015. P. 503–519. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.07.005>

REFERENCES

1. Illarionova, V.K. (2010). Diagnostika boleznej serdca u sobakikoshek [The diagnostic heart disease in dogs and cat]. Moscow, Kolos, 135 p.

2. Farabaugh, A. E., Freeman, L. M., Rush, J. E. (2004). Lymphocyte subpopulations and hematologic variables in dogs with congestive heart failure. *J vet Intern Med.* Vol. 18, pp. 505–509. PMID: 15320588 Available at: [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2004\)18<505: Isahvi>2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2004)18<505: Isahvi>2.0.co;2)

3. Sesh, P.S., Venkatesan, P., Jeyaraja, K. (2013). Blood biochemical, enzymatic and heamatological status of dogs affected with dilated cardiomyopathy. *International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology.* pp. 47–51. Available at: <https://pdfs.semanticscholar.org/dd98/89aabcd-71cb064ae59a132a7ef48b07c4a33.pdf>

4. Rudenko, A. A. (2013). Kardiomiopatii ta nabuti vady` sercya v sobak (etiologiya, patogenez, diagnosty`ka i likuvannya): diss. dokt. vet. nauk [Cardiomyopathies and acquired heart defects in dogs (etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment): doctoral dissertation: 16:00:01]. Kyiv, 344 p.

5. Deepti, B. R., Yathiraj, S. (2015). Hematological and biochemical variables in congestive heart failure in dogs. *International Journal of Science, Environment Technology.* pp. 836–840. Available at: <http://www.ijset.net/journal/704.pdf>

6. Yu, I.B.Y., Huang, H.P. (2016). Prevalence and Prognosis of Anemia in Dogs with Degenerative Mitral Valve Disease. *BioMed Research International.* pp. 1–5. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5093253/>

7. Piantedosi, D., Loria, A.Di., Guccione J. (2016). Serum biochemistry profile, inflammatory cytokines, adipokines and cardiovascular findings in obese dogs. *The Veterinary Journal.* Vol. 216. pp. 72–78. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27687929>

8. Vlizlo V.V., Slivins`ka L.G., Maksy`movy`ch I.A. ta in. (2014). Laboratorna diagnostyka u veterynarnij medycyni: dovidnyk, 2-ge vydannja. [Laboratory diagnostics in veterinary medicine: a handbook, 2-guides]. Lviv: Afisha, 152 p.

9. Tilley, P.L., Francis, W. K., Smith, J., Oyama, M. A. (2008). Manual of canine and feline cardiology. Copyright by Saunders, 4th edition, an imprint of Elsevier Inc. pp. 105–106.

10. Dukes-McEwan, J., Borgarelli, M., Tidholm, A., Volimar, A. (2003). Proposed Guidelines for the Diagnosis of Canine Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology.* 2003. pp. 7–19. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1760-2734\(06\)70047-9](https://doi.org/10.1016/S1760-2734(06)70047-9)

11. Moiseev, E.N. (2011). Kliniko-morfologicheskie izmeneniya i jeffektivnost' primeneniya vazotopa pri lechenii bol'nyh kardiomigaliej sobak: diss. kand. vet. nauk.: 06:02:01. [Clinical and morphological changes and the effectiveness of the use of a vasotope in the treatment of dogs with dog cardiomygaly: dissertation of the candidate of veterinary sciences: 06:02:01]. Saratov, 114 p.

12. Gerke, V.S. (2013). Osnovy kardiologicheskogo ob sledovaniya sobak [Basics of a cardiological examination of dogs]. *Vetpharma.* no. 4, pp. 40–46.

13. Martinelli, E., Locatelli, C., Bassis, S., Paltrinieri, S. (2016). Preliminary Investigation of Cardiovascular-Renal Disorders in Dogs with Chronic Mitral Valve Disease. *J Vet Intern Med.* Vol 30, pp. 1612–1618. Available at: <https://doi.org/10.1111/jvim.14524>

14. Vatikov, Y., Rudenko, A., Rudenko, P., Kulikov, E. (2019). Immune-inflammatory concept of the pathogenesis of chronic heart failure in dogs with dilated cardiomyopathy. *Vet World.* Vol. 12, pp. 1491–1498. Available at: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1491-1498>

15. Boswood, A., Murphy, A. (2006). The effect of heart disease, heart failure and diuresis on selected laboratory and electrocardiographic parameters in dogs. *Journal of Veterinary Cardiology.* pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2005.12.001>

16. Bartges, J. W. (2012). Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* pp. 669–692. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.008>

17. Borgarelli, M., Tarducci, A., Tidholm, A., Häggström, J. (2001). Canine idiopathic dilated cardiomyopathy. Part II: pathophysiology and therapy. *The Veterinary Journal.* pp. 182–195. Available at: <https://doi.org/10.1053/tvj.2001.0616>

18. Gudima T.M. (2016). Funkcional'nyy stan pechinky u sobak sluzhbovyh porid za dyspanseryzacji' [Functional state of the liver in service dogs for clinical examination. Science.]. *Nauk. visnyk LNUVMtaBT im. S. Z. G'zhyc'kogo* [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. no. 3 (1), pp 96–103.

19. Chapman, C.E., Hostutler, R.A. (2015). A Laboratory Diagnostic Approach to Hepatobiliary Disease in Small Animals. *Clinics in Laboratory Medicine.* pp. 503–519. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.07.005>

Показатели гемопоэза и биохимического профиля крови собак с хронической сердечной недостаточностью

Трофимьяк Р.М., Сливинская Л.Г.

В статье представлены данные гематологического и биохимического профиля собак с признаками хрониче-

ской сердечной недостаточности. Согласно полученным данным, у 22,2 % животных наблюдался нейтрофильный лейкоцитоз, а в 50,0 % присутствовала анемия, из них в 77,8 % регистрировали гипохромную, в 38,9 % – микроцитарную, а в 77,8 % собак анемия была нерегенеративная. В зависимости от нарушения соотношения сегментоядерных нейтрофилов, у собак регистрировали нейтрофильный лейкоцитоз с регенеративным сдвигом ядра влево (13,8 %) и вправо (5,6 %) и без изменений в лейкограмме (2,8 %). Следует отметить, что в 55,6 % животных с признаками ХСН также диагностировали изменения в соотношении сегментоядерных нейтрофилов при отсутствии лейкоцитоза.

По результатам биохимического профиля в 8,3 % животных установлено гипопропротеинемия, в 13,8 % – гипоальбуминемия, в 16,7 и 19,4 % выявлено, соответственно, повышение концентраций мочевины и креатинина. Гипокальциемия наблюдалась у 5,6 % собак, содержание неорганического фосфора было выше в 13,9 %. Активность ферментов (АлАТ, АсАТ, ЩФ, ГГТП) в сыворотке крови собак исследовательской группы колебалась в широких пределах и была выше АЛТ ($p < 0,001$), АсАТ ($p < 0,05$), ЛФК ($p < 0,001$), ГГТП ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Таким образом, в исследовательской группе из 36 животных, учитывая взаимосвязи между показателями, у 22,2 % выявлено холестатический синдром, в 22,2 % – гепатопатию, в 11,1 % – хроническую болезнь почек, в 8,3 % – энтеропатию, в 5,5 % – паранеопластический синдром.

Проведение клиничко-биохимического исследования крови у собак с признаками ХСН является актуальным, поскольку позволяет диагностировать сопутствующие заболевания, которые могут ухудшать прогноз в данных животных, а своевременное их выявление и коррекция повысят эффективность лечения.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, собака, общий анализ крови, анемия, лейкоцитоз, гипоальбуминемия, хроническая болезнь почек, холестаз, гепатопатия.

Hematopoiesis and biochemical profiles of dogs' blood by chronic heart failure

Trofimjak R., Slivinska L.

The present study was undertaken to evaluate if any significant hematological and biochemical changes occur in dogs with chronic heart failure (CHF), that will help in the diagnosis and prognosis of CHF.

According to the obtained data, neutrophil leukocytosis was found in 22.2% of the animals in the experimental group, and anemia was found in 50.0%. Among them the 77.8 % of animals had nonregenerative anemia, the 77.8 % – hypochromic anemia, 38.9 % of – microcytic anemia. Neutrophil leukocytosis was registered in dogs with regenerative shift of the nucleus to the left (13.8%) and to the right (5.6%), and without changes in the leukogram (2.8%). It should be noted that 55.6% of animals with signs of CHF were also diagnosed with changes in the ratio of segmented neutrophils (degenerative shift of the nucleus to the left) in the absence of leukocytosis. Hypoproteinemia was found in 8.3% of animals, hypoalbuminemia in 13.8%, urea and creatinine concentrations were increased in 16.7 % and 19.4%, respectively. Hypocalcaemia was observed in 5.6% of dogs, inorganic phosphorus content was higher in 13.9%, slight hyponatremia was observed in 19.4%. The activity of enzymes in the serum of dogs in the experimental group ranged widely and was higher in ALT ($p < 0.001$), AST ($p < 0.05$), ALP ($p < 0.001$), GGTP ($p < 0.01$) compared with the control group. In the experimental group of 36 animals in 22.2 % of dogs were diagnosed cholestasis, in 22.2 % – hepatopathy, in 11.1 % – chronic kidney disease, and 8.3% – enteropathy, 5.5 % – paraneoplastic syndrome.

Biochemical analysis of blood in dogs with signs of CHF is relevant, because it allows to diagnose comorbidities that may worsen the prognosis in these animals, and their timely detection and correction will increase the effectiveness of treatment.

Key words: chronic heart failure, dog, hematology analysis, anemia, leukocytosis, hypoalbuminemia, renal failure, cholestasis, hepatopathy.



Copyright: © Trofimjak R., Slivinska L. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Трофім'як Р.М.
Слівінська Л.Г.

ID <https://orcid.org/0000-0003-2780-3682>
ID <https://orcid.org/0000-0003-4441-7628>

ФАРМАКОЛОГІЯ

УДК 619:612.1:615.33:636.52/.58.053

Вплив польодоксину та тилмоксу 25 % на морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів

Тишківська А.М.¹ , Духницький В.Б.¹ , Тишківський М.Я.² 

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України

²Білоцерківський національний аграрний університет

 Тишківська А.М. E-mail: annatyshkivska@gmail.com



Тишківська А.М., Духницький В.Б., Тишківський М.Я. Вплив польодоксину та тилмоксу 25 % на морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 72–79.

Tyshkivs'ka A.M., Duhnyts'kyj V.B., Tyshkivs'kyj M.Ja. Vplyv pol'odoksynu ta tylmoksu 25 % na morfologichni ta biohimichni pokaznyky krovi kurchat-brojleryv. Naukovyj visnyk veterinarynoi medycyny, 2020. № 1. PP. 72–79.

Рукопис отримано: 27.04.2020р.

Прийнято: 13.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-72-79

У статті наведено результати досліджень впливу препарату “Польодоксин”, що належить до групи тетрацикліну, та препарату Тилмокс 25 % з групи макролідів, на деякі морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів кросу КООБ-500.

Встановлено, що застосування препаратів Польодоксин та Тилмокс 25 % здоровим курчатам-бройлерам згідно зі схемою, рекомендованою для лікування птиці, хворої на орнітобактеріоз та інфекцій, ускладнених збудником орнітобактеріозу, не спричиняє змін клінічного стану та поведінкових реакцій птиці.

Дослідженням крові встановлено, що під впливом препарату Польодоксин кількість еритроцитів у крові курчат-бройлерів збільшувалася на 4–59 % ($p < 0,01$); у курчат, яким застосовували препарат Тилмокс 25 % – на 5–46 % відносно контролю. Величина гематокриту була меншою від показника контролю на 8 % у курчат, яким застосовували польодоксин через 6 діб дослідження ($p < 0,05$); у курчат, яким застосовували тилмокс 25 % – на 10 % ($p < 0,05$) через 6 і 9 діб дослідження. Уміст гемоглобіну в крові птиці дослідних груп через добу після вживання розчинів антибіотиків був меншим від контролю на 7 та 8 % відповідно ($p < 0,05$ і $p < 0,01$), а через 4 доби – на 11 та 10 % ($p < 0,01$).

За впливу польодоксину об'єм одного еритроциту (MCV, мкм³) у крові курчат був меншим від контролю на 23–39 % ($p < 0,05$ і $p < 0,01$), а за впливу тилмоксу 25 % – на 16–35 % ($p < 0,01$). Уміст гемоглобіну в одному еритроциті (MCH, пг) становив 62–83 % від показника контролю за впливу польодоксину ($p < 0,01$), та 69–86 % – за впливу тилмоксу 25 % ($p < 0,01$).

Кількість лейкоцитів у крові птиці під впливом польодоксину зменшувалася на 8 % через добу ($p < 0,01$), та збільшувалася на 6 і 7 % – через 3 та 4 доби відповідно ($p < 0,01$). Зменшення кількості лейкоцитів у крові курчат обох дослідних груп на 5–11 % ($p < 0,001$ і $p < 0,01$) було встановлено через 8 та 9 діб.

Ключові слова: препарату Польодоксин, Тилмокс 25 %, курчата-бройлери, еритроцити, гематокрит, гемоглобін, лейкоцити.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Для комплексного аналізу фізіологічного стану птиці, обміну речовин та загального функціонування органів і систем за застосування антибіотиків, важливим є дослідження морфологічних та біохімічних показників крові [1].

Кров є основним індикатором, що характеризує метаболізм, виконує трофічну, екскреторну, респіраторну, захисну, терморегулюючу,

а також корелятивну функції. Вона транспортує до клітин органів поживні речовини та Оксиген, і поставляє продукти обміну речовин та вуглекислоту до органів виведення. За допомогою крові відбувається гормональна регуляція фізіологічних функцій організму, підтримується гомеостаз та здійснюється функціонування імунної системи. Результати багатьох досліджень засвідчують, що морфологічні та біохімічні показники крові змінюються за впливу на

організм різних речовин (лікарських засобів, важких металів, пестицидів, мікотоксинів та ін.), реагують на зміну умов утримання, загазованість повітря та його мікробне забруднення, нестачу Оксигену, голодування чи взяття крові у нагодованої птиці, вплив стрес-чинників тощо [2, 3, 4].

Антибіотики – найпоширеніші та найефективніші засоби у лікуванні бактеріальних хвороб птиці, у тому числі респіраторних. Тилмікозин – належить до групи макролідів, відносно новий на ринку України, синтезований із антибіотика тилозину для застосування у ветеринарній медицині. Активний від грамнегативних та грампозитивних бактерій, у томі числі мікоплазм і орнітобактерій [5]. Володіє вираженою активністю *in vivo*, за рахунок здатності зв'язуватись із тканинними макрофагами, тим самим краще проникати в осередок інфекції [6]. Окрім того, має виражену здатність накопичуватись у легеневій тканині, тривалий час зберігаючи там активні концентрації [7].

Доксициклін – напівсинтетичний антибіотик із групи тетрацикліну, що широко використовується у ветеринарній медицині для лікування тварин і птиці за патологій органів дихання, інфекцій шлунково-кишкового каналу та сечостатевої системи. Проявляє широкий спектр протимікробної дії, високу активність від збудників багатьох захворювань та володіє здатністю зменшувати інтенсивність перебігу запальної реакції [8].

Метою роботи було дослідити вплив антибіотиків доксициклінугліклакту у формі препарату Польодоксин та тилмікозину фосфату у формі препарату Тилмокс 25 % на морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів. Дослідження впливу антибіотиків на показники крові здорових курчат – один із етапів вивчення показників фармакокінетики Тилмоксу 25 % та Польодоксину.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на 150 клінічно здорових курчатах-бро-

йлерах кросу КОББ-500 віком 16 діб в умовах віварію Білоцерківського НАУ, відповідно до схеми дослідів (рис. 1). До проведення досліджень курчат вакцинували від хвороби Гамборо, Ньюкасла та інфекційного бронхіту.

До початку дослідів птицю розподілили на дві групи по 75 курчат-бройлерів у кожній, і утримували в трьохъярусних клітках. Курчатам першої дослідної групи застосовували розчин препарату Польодоксин торгової марки INVESA (діюча речовина доксициклінуглілакт), який у кількості 1 см³ змішували з 1 л питної води. Птиця другої дослідної групи отримувала розчин препарату Тилмокс 25 % торгової марки AVICO (діюча речовина тилмікозину фосфат), який у кількості 0,3 мл змішували з 1 л питної води. Розчини антибіотиків курчатам-бройлерам дослідних груп випоювали впродовж 4 діб. Для годівлі птиці використовували повнораціонний комбікорм ТМ виробництва “Плахтянські корми”.

Для контролю за впливом досліджуваних антибіотиків на організм курчат-бройлерів, перед початком дослідів, щодня протягом періоду випоювання препаратів та впродовж 5 діб після останнього їх застосування, від трьох курчат дослідних груп відбирали кров для морфологічних та біохімічних досліджень. Контролем слугували показники крові 6 курчат-бройлерів віком 16 діб, отримані до початку дослідів. У крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів, уміст гемоглобіну, показник гематокри-ту, вираховували середній уміст гемоглобіну в еритроциті (MCH), та середній об'єм еритроциту (MCV).

Відбір крові проводили шляхом пункції підкрилової вени одноразовою пластиковою голкою з рожевою канюлею у пластикові одноразові мікропробірки Еппендорф, куди попередньо було внесено 1 см³ 10 % антикоагулянту трилону Б. Для попередження згортання крові, голку також змочували антикоагулянтом. Загальну кількість

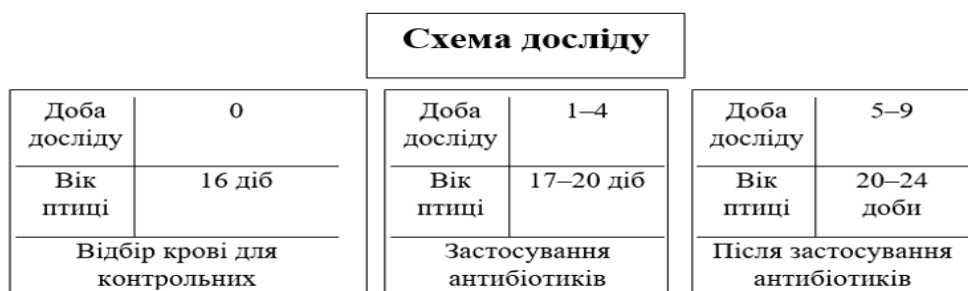


Рис. 1. Схема дослідження впливу польодоксину та тилмоксу 25 % на морфологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів.

клітин (еритроцитів, лейкоцитів) підраховували в лічильній камері з сіткою Горяєва. Уміст гемоглобіну визначали колориметрично гемоглобінціанідним методом. Показник гематокриту визначали центрифужним мікрометодом за Й.Й. Тодоровим (1979). Середній об'єм еритроцита (Mean Corpuscular Volume, MCV) вираховували діленням показника гематокриту на кількість еритроцитів. Середній вміст гемоглобіну в еритроциті (Mean Corpuscular Hemoglobin, MCH) – показник ступеня насичення еритроцита гемоглобіном, вираховували за формулою: $Hb \text{ (г/л)} : RBC$.

Результати дослідження. Інтерпретація показників крові птиці має свої особливості у порівнянні з показниками крові ссавців. Адже швидкий обмін речовин, фізіологічні особливості кросу, напрям вирощування – пояснюють значну варіабельність показників норми крові птиці [9, 10]. За контрольні значення приймали показники крові 16-добових курчат-бройлерів на нульову (0) добу досліджень, тобто до початку досліду.

Кількість еритроцитів у крові курчат-бройлерів контрольної групи віком 16 діб коливалася в межах від 1,8 до 2,0 Т/л за середнього значення $1,90 \pm 0,03$ Т/л (табл. 1).

Основною функцією еритроцитів є постачання тканин організму Оксигеном. Завдяки вмісту в еритроцитах ферумвмісного білка гемоглобіну, еритроцити більш ніж в 70 разів швидше насичуються Оксигеном, тому кров має велику оксигенну ємність [11].

Одним з найважливіших показників, що характеризують рівень обміну речовин, є вміст гемоглобіну в крові. У крові курчат віком 16 діб (0 доба досліду) відзначали досить високий вміст гемоглобіну з коливаннями значень від 87,5 до 102,0 г/л, а середній показник ста-

новив $98,02 \pm 2,69$ г/л (табл. 1). Високий вміст гемоглобіну в крові свідчить про більшу окиснювальну її здатність, підвищену інтенсивність обміну речовин, та зумовлює збільшення насиченості еритроцитів гемоглобіном [12].

Величина гематокриту показує відсоткове співвідношення об'ємів плазми та формених елементів крові. Результати досліджень показали, що гематокритна величина крові курчат-бройлерів віком 16 діб становила $27,0\text{--}30,0$ л/л, а середній показник був на рівні $28,67 \pm 0,49$ л/л, що відповідає фізіологічному показнику [13]. Величину гематокриту використовують для визначення середнього об'єму одного еритроциту, який встановлюють діленням показника гематокриту на кількість еритроцитів в 1 мкл крові та виражають у кубічних мікрометрах (мкм^3). Середній об'єм еритроцитів курчат-бройлерів до початку досліджень (0 доба) коливався в межах від $140,0\text{--}166,7$ мкм^3 , а середній показник становив $151,2 \pm 4,2$ мкм^3 (табл. 1).

Діагностичне значення має також показник умісту гемоглобіну в одному еритроциті, який визначають діленням концентрації гемоглобіну крові на кількість еритроцитів. Уміст гемоглобіну в одному еритроциті курчат-бройлерів до початку досліджень (контроль, 0 доба) був у межах $51,00\text{--}56,05$ пг, а середнє значення показника становило $51,70 \pm 1,76$ пг.

Значна кількість еритроцитів та висока концентрація гемоглобіну в крові курчат-бройлерів свідчать про високий рівень метаболічних процесів, що відбуваються в організмі птиці.

Упродовж усього періоду (4 доби) випоювання розчинів антибіотиків, поведінкові реакції курчат дослідних груп були в межах фізіологічних: споживання корму та досліджуваних розчинів були задовільними, координація руху не порушена, змін клінічного стану не спо-

Таблиця 1 – Показники гемоцитопоезу в курчат-бройлерів до початку досліду (n=6)

Вік птиці, діб	Гемоглобін, г/л	Величина гематокриту, л/л	Еритроцити, Т/л	MCV, мкм^3	MCH, пг	Лейкоцити, г/л
16	102,00	28,00	2,00	140,0	51,00	26,50
	99,50	30,00	1,80	166,7	55,28	26,70
	98,60	30,00	1,90	157,9	51,89	29,00
	106,50	27,00	1,90	142,1	56,05	28,40
	87,50	29,00	2,00	145,0	43,75	29,00
	94,00	28,00	1,80	155,6	52,22	29,30
M	98,02	28,67	1,90	151,2	51,70	28,15
m	2,69	0,49	0,03	4,2	1,76	0,5
Lim	87,5–102,0	27,0–30,0	1,8–2,0	140,0–166,7	51,00–56,05	26,50–29,30

стерігали. Загибелі птиці не було.

У період випоювання птиці першої дослідної групи розчину препарату Польодоксин кількість еритроцитів у крові збільшувалась на 4–20 % ($p < 0,01$); у курчат другої дослідної групи, яким випоювали розчин препарату Тилмокс 25 % – на 5–8 % (табл. 2). Показник гематокриту у курчат-бройлерів дослідних груп був на рівні контролю.

Уміст гемоглобіну в крові птиці дослідних груп через добу після випоювання розчинів антибіотиків був меншим від показника курчат контрольної групи на 7 та 8 % відповідно ($p < 0,05$ і $0,01$), а на 4 добу – на 11 та 10 % ($p < 0,01$).

Зазнавали змін показники індексу крові – об'єм одного еритроциту (MCV, мкм³) та вміст гемоглобіну в одному еритроциті (MCH, пг). Так, об'єм еритроцитів у птиці першої дослідної групи (застосовували польодоксин) зменшувався на 8 % ($p < 0,01$) через дві доби, а через одну та чотири доби він був меншим від контролю на 17 % ($p < 0,01$). Це призводить до зменшення рівня гемоглобіну, за підвищення рівня еритроцитів у крові курчат-бройлерів. У курчат другої дослідної групи, яким випоювали розчин препарату Тилмокс 25 %, об'єм еритроцитів зменшувався лише на 4–9 % ($p < 0,01$) від показника контролю.

Уміст гемоглобіну в одному еритроциті птиці обох дослідних груп був меншим від показника контролю впродовж всього періоду застосування антибіотиків, а найменший показник встановлено через 4 доби – 75 % від показника контролю в курчат першої дослідної групи ($p < 0,001$), та 85 % – другої ($p < 0,001$).

Випоювання птиці першої дослідної гру-

пи розчину польодоксину супроводжувалося зменшенням кількості лейкоцитів крові на 8 % відносно показника контролю через добу ($p < 0,05$), і збільшенням їх кількості на 6 та 7 % – через 3 та 4 доби відповідно ($p < 0,01$ і $p < 0,05$). Змін кількості лейкоцитів у крові курчат другої дослідної групи в період застосування Тилмоксу 25 % не спостерігали.

У період припинення застосування курчатам першої та другої дослідних груп розчинів антибіотиків кількість еритроцитів у їх крові перевищувала показник контролю на 23–59 % ($p < 0,01$) та 21–46 % ($p < 0,01$) відповідно. Показник гематокриту був меншим від показника контролю на 8 % у курчат першої дослідної групи на 6 добу досліді ($p < 0,05$), а у курчат другої дослідної групи – на 10 % ($p < 0,05$) на 6 і 9 добу досліді (табл. 3).

Уміст гемоглобіну у крові курчат обох дослідних груп у період припинення застосування антибіотиків (5–9 доба досліді) був на рівні показника у птиці контрольної групи (табл. 3).

Подальше збільшення кількості еритроцитів за стабільних показників умісту гемоглобіну та незначних змін величини гематокриту в крові курчат-бройлерів дослідних груп у період припинення застосування антибіотиків, призвело до зміни показників індексів крові. Зокрема, об'єм одного еритроциту (MCV, мкм³) у курчат першої дослідної групи був меншим від показника контролю на 23–39 % ($p < 0,001$), а у курчат другої дослідної групи – на 16–35 % ($p < 0,001$). Уміст гемоглобіну в одному еритроциті (MCH, пг) також зменшувався і становив 62–83 % від показника контролю у птиці першої дослідної

Таблиця 2 – Показники крові курчат-бройлерів під час застосування польодоксину та тилмоксу 25 %, (M $\pm$ m)

Показники	Група птиці		Доба досліді			
	контрольна (0) (n=6)	дослідна (1, 2) (n=3)	1	2	3	4
Еритроцити, Т/л	1,90 $\pm$ 0,03	1	2,23 $\pm$ 0,12**	1,98 $\pm$ 0,11	2,17 $\pm$ 0,12*	2,28 $\pm$ 0,11**
		2	2,01 $\pm$ 0,05	1,90 $\pm$ 0,06	2,05 $\pm$ 0,08	2,01 $\pm$ 0,01**
Показник гематокриту, л/л	28,67 $\pm$ 0,49	1	27,97 $\pm$ 1,02	27,67 $\pm$ 1,20	28,13 $\pm$ 0,47	28,73 $\pm$ 1,37
		2	27,67 $\pm$ 0,88	27,43 $\pm$ 1,23	28,10 $\pm$ 0,59	28,00 $\pm$ 0,58
Гемоглобін, г/л	98,02 $\pm$ 2,69	1	91,20 $\pm$ 1,40*	88,40 $\pm$ 0,46**	90,30 $\pm$ 1,30*	87,67 $\pm$ 0,88**
		2	90,00 $\pm$ 1,26**	88,60 $\pm$ 0,70**	90,50 $\pm$ 1,04*	88,30 $\pm$ 1,46**
MCV, мкм ³	151,2 $\pm$ 0,42	1	126,5 $\pm$ 11,91*	139,7 $\pm$ 1,72***	130,40 $\pm$ 5,53**	126,20 $\pm$ 6,72**
		2	137,20 $\pm$ 3,92**	144,6 $\pm$ 7,44	137,40 $\pm$ 5,61	139,30 $\pm$ 3,58**
MCH, пг	51,70 $\pm$ 1,76	1	41,12 $\pm$ 2,72**	44,95 $\pm$ 2,57**	41,86 $\pm$ 1,68***	38,54 $\pm$ 1,56***
		2	44,65 $\pm$ 0,50**	47,70 $\pm$ 1,12	44,15 $\pm$ 1,48**	43,98 $\pm$ 0,26***
Лейкоцити, Г/л	28,15 $\pm$ 0,50	1	25,80 $\pm$ 0,15**	27,80 $\pm$ 0,31	29,80 $\pm$ 0,25**	30,10 $\pm$ 0,55*
		2	27,97 $\pm$ 0,88	26,83 $\pm$ 0,62	29,27 $\pm$ 0,58	29,17 $\pm$ 0,88

Примітка: $p <$ – між контролем та дослідними групами (* – 0,05; ** – 0,01; *** – 0,001).

Таблиця 3 – Показники крові курчат-бройлерів після припинення застосування польодоксину та тилмоксу 25 %, (M±m)

Показники	Група птиці		Доба досліджу				
	контрольна (0) (n=6)	дослідна (1, 2) (n=3)	5	6	7	8	9
Еритроцити, Т/л	1,90 ± 0,03	1	2,87 ± 0,12***	2,33 ± 0,20*	3,03 ± 0,09***	2,37 ± 0,19*	2,83 ± 0,15***
		2	2,70 ± 0,15***	2,73 ± 0,13***	2,77 ± 0,18***	2,30 ± 0,26	2,63 ± 0,19**
Показник гематокриту, л/л	28,67 ± 0,49	1	27,37 ± 0,91	26,33 ± 0,67*	27,67 ± 0,88	27,00 ± 0,58	27,33 ± 0,67
		2	27,67 ± 0,70	25,67 ± 1,45*	27,67 ± 1,20	28,33 ± 1,20	25,67 ± 1,20*
Гемоглобін, г/л	98,02 ± 2,69	1	91,43 ± 0,63*	99,00 ± 1,68	99,07 ± 0,55	98,07 ± 1,05	102,53 ± 2,29
		2	99,67 ± 0,38	99,87 ± 0,96	98,30 ± 0,90	99,20 ± 0,46	98,73 ± 1,37
MCV, мкм ³	151,20 ± 4,22	1	106,0 ± 2,63***	114,6 ± 10,54**	91,50 ± 5,51***	115,9 ± 12,61*	96,80 ± 3,24***
		2	110,0 ± 1,02***	113,0 ± 7,22***	100,30 ± 2,14***	127,50 ± 18,92	98,70 ± 9,65***
MCH, пг	51,70 ± 1,76	1	32,00 ± 1,32***	43,14 ± 4,09	32,71 ± 0,97***	41,92 ± 3,06**	36,30 ± 1,08***
		2	37,13 ± 1,92***	36,69 ± 1,65***	35,83 ± 2,39***	44,29 ± 5,06	37,80 ± 2,24***
Лейкоцити, Г/л	28,15 ± 0,50	1	28,47 ± 0,33	29,43 ± 0,30*	28,07 ± 1,02	28,00 ± 0,78	25,10 ± 0,38***
		2	28,87 ± 0,24	28,40 ± 0,31	28,93 ± 0,42	26,20 ± 0,36**	26,63 ± 0,33**

Примітка: p< – між контролем та дослідними групами (* – 0,05; ** – 0,01; *** – 0,001).

групи (p< 0,001) та 69–86 % – у птиці другої дослідної групи (p< 0,001) (табл. 3).

Кількість лейкоцитів у крові курчат обох дослідних груп була стабільною впродовж 5–7 доби, і лише на 8 та 9 добу зменшувалася на 5–11 % відповідно (p< 0,001 і p< 0,01).

Обговорення. Відомо, що протимікробні засоби мають здатність проявляти вплив не тільки на мікроорганізми, але й на організм тварин (птиці). Тому перед застосуванням маловивчених антибіотиків з лікувальною метою, обов'язково досліджують реакцію організму здорової тварини на їх дію. Саме такими маловивченими препаратами є Польодоксин з групи тетрацикліну та Тилмокс 25 % з групи макролідів, які набувають широкого застосування за орнітобактеріозу та ускладнених збудником орнітобактеріозу інфекцій курчат-бройлерів.

За застосування польодоксину та тилмоксу 25 % відповідно до рекомендованої схеми клінічно здоровим курчатам-бройлерам кросу КООБ-500, кількість еритроцитів у їх крові в перші 4 доби збільшувалася на 4–20 % (p< 0,01) та на 5–8 % відповідно, однак не перевищувала нормативні значення (1,8–2,4 Т/л) [13].

Збільшення кількості еритроцитів у крові курчат першої дослідної групи до 2,83 ± 0,15 – 3,03 ± 0,09 Т/л, та до 2,63 ± 0,19 – 2,77 ± 0,18 Т/л у крові курчат другої дослідної групи в період припинення застосування антибіотиків оцінюємо еритроцитоз.

Величина гематокриту у птиці обох дослідних груп була у межах нормативних значень (22,7–28,6 л/л), лише через 6 діб від початку досліджу зменшувалася на 8 та 10 % відповідно (p< 0,05) відносно контролю.

Зменшення вмісту гемоглобіну у крові пти-

ці дослідних груп (на 11 та 10 % відповідно) у період застосування антибіотиків (1–4 доби) пояснюємо їх впливом на процес синтезу протейнів, які необхідні для утворення протейнової частки гемоглобіну, що було встановлено за дослідження сироватки крові курчат-бройлерів. Окрім того, після припинення застосування антибіотиків (5–9 доба досліджу) уміст гемоглобіну в крові птиці обох дослідних груп не відрізнявся від контролю (табл. 3).

Об'єм еритроцитів (MCV) та уміст гемоглобіну у них (MCH) у крові птиці обох дослідних груп були вірогідно меншими від показників контролю впродовж всього досліджу (1–9 доба). Вираженішими зміни цих показників були у курчат першої дослідної групи, яким застосовували польодоксин (табл. 3).

Вірогідне зниження вмісту гемоглобіну, зменшення середнього об'єму еритроцитів (MCV) та вмісту гемоглобіну (MCH) в еритроцитах крові курчат обох дослідних груп свідчить за розвиток мікроцитарної гіпохромної анемії. Хоча після припинення застосування досліджуваних препаратів уміст гемоглобіну в крові курчат-бройлерів обох дослідних груп відновлювався до показника у курчат контрольної групи, проте, ознаки мікроцитарної гіпохромної анемії (зменшення середнього об'єму еритроцитів та вмісту гемоглобіну в них) залишалися. Ймовірно на відновлення цих показників потрібно більше часу.

Кількість лейкоцитів у крові птиці, який застосовували польодоксин була через добу вірогідно меншою (на 8 %), ніж в контролі, а через 3 та 4 добу – збільшувалася на 6 та 7 % (p< 0,01 і p< 0,05) відповідно. Зменшення кількості лейкоцитів через добу після застосування

польодоксину пояснюємо пригніченням мієлопоезу у червоному кістковому мозку доксицикліну-клікломом. Збільшення ж їх кількості на 3 та 4 доби зумовлено, на нашу думку, інтенсивнішою продуктивною здатністю кісткового мозку після його тимчасового пригнічення.

У крові птиці, якій застосовували тилмокс 25 %, змін кількості лейкоцитів з 1 до 4 доби дослідів не спостерігали. Не було встановлено змін кількості лейкоцитів у крові птиці обох груп з 5 до 7 доби дослідів, лише на 8 та 9 доби спостерігали зменшення кількості лейкоцитів на 5–11 % ($p < 0,01$).

Висновки. 1. Застосування клінічно здоровим курчат-бройлерів кросу КООБ-500 розчинів польодоксину та тилмоксу 25 % згідно з рекомендованою схемою не спричиняло змін їх клінічного стану та поведінкових реакцій.

2. Застосування птиці дослідних груп польодоксину та тилмоксу 25 % призводило до розвитку еритроцитозу, а кількість еритроцитів у крові збільшувалась на 4–59 та 8–46 % відповідно ($p < 0,01$).

3. Зменшення вмісту гемоглобіну в крові курчат-бройлерів обох дослідних груп на 11 та 10 % ($p < 0,05$) відповідно у період застосування антибіотиків (1–4 доба дослідів), вмісту гемоглобіну в одному еритроциті на 13–38 та 14–31 % ($p < 0,01$) відповідно, середнього об'єму еритроцитів на 8–39 та 5–35 % ($p < 0,01$) відповідно, упродовж періоду дослідів (1–9 доби), засвідчує про розвиток мікроцитарної гіпохромної анемії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лоретц О.Г., Горелик О.В., Зяблицева М.А. Динаміка морфологічних і біохімічних показателів крові цыплят-бройлерів при використанні в раціоні мікробіологічних препаратів. Аграрний вестник Урала. 2017. №11 (165). С. 25–29.
2. Головкин Н.П., Тимошенко О.П., Яценко І.В. Гематологічні показники крові курчат-бройлерів різного віку на тлі збагачення раціону цитратом наномолібдену та комплексною кормовою добавкою «Пробікс». Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2015. Том 17. № 3 (63). С. 8–13.
3. Talebi A., Asri-Rezaei S., Rozeh-Chai R., Sahraei R. Comparative Studies on Haematological Values of Broiler Strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). International journal of poultry science. 2005. № 4 (8). P. 573–579.
4. Бехтерева Н.П., Кисляков В.А., Кондради Г.П. Физиология системы крови. Физиология эритропоэза. Л.: Наука. 1979. 360 с.
5. Kempf I., Reeve-Johnson L., Gesbert F. Efficacy of Tilmicosin in the Control of Experimental Mycoplasma Gallisepticum Infection in Chickens. Avian Diseases. 1997. № 4. P. 802–807.
6. Mohamed Elbadawy., Mohamed Aboubakr. Pharmacokinetics, tissue residues of tilmicosin phosphate (tilmicosin®) and its in vitro and in vivo evaluation for the

control of Mycoplasma gallisepticum infection in broiler chickens. International Journal of Pharmacology and Toxicology. 2017. № 5 (1). P. 11–16.

7. Wafaa A., AbdEl-Ghany. The In-vitro and In-vivo Evaluation of Tiamulin and Tilmicosin for the Treatment of Mycoplasma gallisepticum Infected Broiler Chickens. International Journal of Poultry Science. 2009. № 8 (12). P. 1189–1198.

8. Gutiérrez L., Zermeno J., Alcalá Y., Sumano H. Higher bioavailability of doxycycline in broiler chicken with a novel in-feed pharmaceutical formulation. Poultry Science. 2017. № 96 (8). P. 2662–2669.

9. Бессарабов Б.Ф. Гематологические показатели и здоровье птицы. Животноводство России. 2009. №3. С. 17–18.

10. Бажибина Е.Б., Коробов А.В., Середа С.В., Павлович В.П. Методологические основы оценки клинико-морфологических показателей крови домашних животных. Учебное пособие. М.: ООО «Аквариум-Принт», 2005. 128 с.

11. Prokić V.S., Davidov I., Belić B. Morphometric Parameters of Erythrocytes in Juvenile Mandarin Ducks *Aix galericulata*. Brazilian Journal of Poultry Science. 2019. № 21 (2).

12. Михайленко С. О. Гематологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів при введенні до їх раціону біологічно активної кормової добавки «Гумілід» з водою. Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. 2015. № 4. С.132–135.

REFERENCES

1. Loretc, O.G., Gorelik, O.V., Zyabliceva, M.A. (2017). Dinamika morfologicheskikh i biokhimicheskikh pokazatelej krovi cyplyat-brojlerv pri ispol'zovanii v racione mikrobiologicheskikh preparatov [Dynamics of morphological and biochemical blood parameters of broiler chickens when using microbiological preparations in the diet]. Agrarnyj vestnik Urala [Agrarian Bulletin of the Urals]. no.11 (165), pp. 25–29.
2. Golovko, N.P., Timoshenko, O.P., Yacenko, I.V. (2015). Gematologichni pokazniki krovi kurchat-brojlerv riznogo viku na tli zbagachennya racionu citratom nanomolibdeni ta kompleksnoyu kormovoyu dobavkoyu «Probiks» [Hematological parameters of the blood of broiler chickens of different ages on the background of enrichment of the diet with nanomolybdenum citrate and a complex feed additive "Probix"]. Naukovij visnik LNUVMBT imeni S.Z. Gzhic'ko-go [Scientific Bulletin Stepan Gzhitskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Vol. 17, no. 3 (63), pp. 8–13.
3. Talebi, A., Asri-Rezaei, S., Rozeh-Chai, R., Sahraei, R. (2005). Comparative studies on haematological values of broiler strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). International journal of poultry science. no. 4 (8), pp. 573–579.
4. Bekhterova, N.P., Kislyakov, V.A., Kondradi, G.P. (1979). Fiziologiya sistemy krovi [Physiology of the blood system]. Fiziologiya eritropoeza [Physiology of erythropoiesis]. L.: Science. 360 p.
5. Kempf, I., Reeve-Johnson, L., Gesbert, F. (1997). Efficacy of Tilmicosin in the Control of Experimental Mycoplasma Gallisepticum Infection in Chickens. Avian Diseases. no. 4, pp. 802–807.
6. Mohamed, Elbadawy., Mohamed, Aboubakr. (2017).

Pharmacokinetics, tissue residues of tilmicosin phosphate (tilmicoral®) and its in vitro and in vivo evaluation for the control of *Mycoplasma gallisepticum* infection in broiler chickens. *International Journal of Pharmacology and Toxicology*. no. 5 (1), pp. 11–16.

7. Wafaa, A., Abd, El-Ghany. (2009). The In-vitro and In-vivo Evaluation of Tiamulin and Tilmicosin for the Treatment of *Mycoplasma gallisepticum* Infected Broiler Chickens. *International Journal of Poultry Science*. no. 8 (12), pp. 1189–1198.

8. Gutiérrez, L., Zermeño, J., Alcalá, Y., Sumano, H. (2017). Higher bioavailability of doxycycline in broiler chickens with a novel in-feed pharmaceutical formulation. *Poultry Science*. no. 96 (8), pp. 2662–2669.

9. Bessarabov, B.F. (2009). Gematologicheskie pokazateli I zdorov'e pticy [Hematological indicators and bird health]. *Zhivotnovodstvo Rossii* [Livestock of Russia]. no. 3, pp. 17–18.

10. Bazhibina, E.B., Korobov, A.V., Sereda, S.V., Pavlovich, V.P. (2005). Metodologicheskie osnovy ocenki kliniko-morfologicheskikh pokazatelej krovi domashnih zhivotnyh [Methodological basis for assessing the clinical and morphological parameters of blood of domestic animals]. *Uchebnoe posobie* [Tutorial]. M.: Aquarium-Print LLC, 128 p.

11. Prokić, V.S., Davidov, I., Belić, B. (2019). Morphometric Parameters of Erythrocytes in Juvenile Mandarin Ducks *Aix galericulata*. *Brazilian Journal of Poultry Science*. no. 21 (2).

12. Myhajlenko, Je.O. (2015). Gematologichni ta biohimichni pokazniki krovi kurchat-brojlerviv privvedeni do ih racionu biologichno aktivnoy kormovoy dobavki "Gumilid" z vodoyu [Hematological and biochemical parameters of the blood of broiler chickens with the introduction into their diet of biologically active feed additive "Humilid" with water]. *Naukovo-tekhnichnijbyuleten' NDC biobezpeki ta ekologichnogo kontrolyu resursiv APK* [Scientific and technical bulletin of the Research Center for Biosafety and Environmental Control of Agricultural Resources]. no. 4, pp. 132–135.

Влияние поледоксина и тилмокса 25% на морфологические и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров

Тышківська А.М., Духницький В.Б., Тышківський М.Я.

В статье приведены результаты исследований влияния препарата Поледоксин, который относится к группе тетрациклинов и препарата Тилмокс 25 %, принадлежащий к группе макролидов, на некоторые морфологические и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров кросса Кообб-500.

Установлено, что применение препаратов Поледоксин, и Тилмокс 25 % здоровым цыплят-бройлерам согласно схемы, рекомендованной для лечения птицы, больной орнитобактериозом и инфекций, осложненных возбудителем орнитобактериоза, не вызывает изменений клинического состояния и поведенческих реакций птицы.

Исследованием крови установлено, что под влиянием препарата Поледоксин количество эритроцитов в крови цыплят-бройлеров увеличивалось на 4–59 % ($p < 0,05$), у цыплят, которым применяли препарат Тилмокс

25 % – на 5–46 % относительно контроля. Величина гематокрита была меньше показателя контроля на 8 % у цыплят, которым применяли Поледоксин через 6 суток опыта ($p < 0,05$), у цыплят, которым применяли Тилмокс 25 % – на 10 % ($p < 0,05$) через 6 и 9 суток опыта. Содержание гемоглобина в крови птицы исследуемых групп через сутки после выпойки растворов антибиотиков был меньше контроля на 7 и 8 % соответственно ($p < 0,05$ и $p < 0,01$), а через 4 суток – на 11 и 10 % ($p < 0,05$). Под влиянием Поледоксина объем одного эритроцита (MCV, мкм³) в крови цыплят был меньше контроля на 23–39 % ($p < 0,01$), а при воздействии тилмокса 25 % – на 16–35 % ($p < 0,01$). Содержание гемоглобина в одном эритроците (MCH, пг) составило 62–83 % от показателя контроля при воздействии Поледоксина ($p < 0,01$) и 69–86 % – при воздействии тилмокса 25 % ($p < 0,01$). Количество лейкоцитов в крови птицы под влиянием Поледоксина уменьшалось на 8 % через сутки ($p < 0,01$), и увеличивалось на 6 и 7 % – через 3 и 4 суток ($p < 0,01$). Уменьшение количества лейкоцитов в крови цыплят обеих исследовательских групп на 5–11 % ($p < 0,001$ и $p < 0,01$) было установлено через 8 и 9 суток.

Ключевые слова: препараты Поледоксин, Тилмокс 25 %, цыплята-бройлеры, эритроциты, гематокрит, гемоглобин, лейкоциты.

The effect of polidoxin and tilmox 25% on the morphological and biochemical parameters of the blood of broiler chickens

Tyshkivska A., Dukhnitsky V., Tyshkivsky M.

The article presents the results of studies of the effect of the drug "Poledoxin", which belongs to the group of tetracyclines and the drug "Tilmox 25%", belonging to the group of macrolides, on some morphological and biochemical parameters of blood of Coobb-500 broiler chickens.

It has been established that the use of the preparations "Poledoxin" and "Tilmox 25 %" for healthy broiler chickens according to the scheme recommended for treating birds with ornithobacteriosis and infections complicated by the causative agent of ornithobacteriosis does not cause changes in the clinical condition and behavioral reactions of the bird.

A blood test found that under the influence of the drug "Poledoxin", the number of red blood cells in the blood of broiler chickens increased by 4–59 % ($p < 0,01$) in chickens which used the drug "Tilmox 25 %" – by 5–46 % relative to control. The hematocrit value was less than the control indicator by 8 % in chickens that were treated with Poledoxin after 6 days of experiment ($p < 0,05$) in chickens that were used with tilmox 25 % – by 10 % ($p < 0,05$) through 6 and 9 days of experience. The hemoglobin content in the blood of poultry of the studied groups one day after drinking antibiotic solutions was less than the control by 7 and 8 %, respectively ($p < 0,05$, $p < 0,01$), and after 4 days – by 11 and 10 % ($p < 0,01$). Under the influence of Poledoxin, the volume of 1 erythrocyte (MCV, μm^3) in the blood of chickens was less than the control by 23–39 % ($p < 0,05$, $p < 0,01$), and when exposed to tilmox 25% – by 16–35 % ($p < 0,01$). The hemoglobin content in 1 erythrocyte (MCH, pg) was 62–83 % of the control index when exposed to Poledoxin ($p < 0,01$) and 69–86 % when exposed to tylmox 25 % ($p < 0,01$).

0,01). The number of leukocytes in the blood of a bird under the influence of "Poledoxin" decreased by 8 % after a day ($p < 0,01$), and increased by 6 and 7 % after 3 and 4 days ($p < 0,01$). A decrease in the number of leukocytes in the blood of chickens of both research groups by 5–11 % ($p < 0,001$,

$p < 0,01$) was established after 8 and 9 days.

Key words: Poledoxin, Tilmox 25 %, broiler chickens, red blood cells, hematocrit, hemoglobin, white blood cells.



Copyright: © Тишківська А.М., Духницький В.Б., Тишківський М.Я.
This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Тишківська А.М.	ID https://orcid.org/0000-0003-4419-2174
Духницький В.Б.	ID https://orcid.org/0000-0002-9670-1244
Тишківський М.Я.	ID https://orcid.org/0000-0003-0826-5276

УДК 619:616.61-002.151/.155.194-008.6:6367

Стан еритроцитопоезу у службових собак за фізичного та емоційного навантаження

Головаха В.І. , Мостовий Є.В. , Піддубняк О.В. , Кюрчев О.М.*

* кінолог-інструктор КСУ

Білоцерківський національний аграрний університет

 БНАУ, м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1. E-mail: ovpidubnyak73@ukr.net



Головаха В.І., Мостовий Є.В., Піддубняк О.В., Кюрчев О.М. Стан еритроцитопоезу у службових собак за фізичного та емоційного навантаження. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 80–87.

Golovaha V.I., Mostovyy Ye.V., Pidubnyak O.V., Kyurchjev O.M. Stan erythrocytopoezu u sluzhbovyh sobak za fizychnogo ta emocijnogo navantazhennja. Naukovyj visnyk veterinarynnoi medycyny, 2020. № 1.PP. 80–87.

Рукопис отримано: 14.02.2020р.

Прийнято: 28.02.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-80-87

Під час досліджень вивчено показники еритроцитопоезу у службових собак за фізичних навантажень. Дослідження проводили на собаках породи бельгійська вівчарка (малінуа) віком 1,5–2 роки, які виконували вправи з міжнародної програми Mondioring, що включали фізичні та емоційні навантаження для підготовки собак для ЗСУ, прикордонних військ та національної поліції. Кров відбирали у тварин до тренування (у спокої) та після процесу тренування (тривав 2 години). Встановлено, що у 62,5 % тварин виявили тенденцію до підвищення загальної кількості еритроцитів та їх популяцій – „старих” і „зрілих”. Такі зміни у собак під час фізичних вправ є показником більш інтенсивного дозрівання „молодих” еритроцитів у периферичній крові, елімінації „зрілих” клітин із депо, підвищеної опірності бішару їх мембран та інтенсифікації процесів приєднання і віддачі оксигену еритроцитами.

Щодо вмісту гемоглобіну в крові та гематокритної величини, то ці показники у 75,0 % собак після фізичних вправ мали тенденцію до підвищення. Однак, індекси „червоної” крові (*MCH* і *MCV*) мали тенденцію до зниження, що вказує на посилення процесів адаптації еритроцитів до фізіологічної гіпоксії під час фізичного навантаження та появу в кров’яному руслі великої кількості ненасичених мікроцитарних форм еритроцитів, зокрема „старих” популяцій. За дослідження ферумотрансферинового комплексу слід відмітити, що у 87,5 % тварин кількість Феруму, ЗФЗЗ та рівень трансферину підвищилися, що пов’язано з викидом у кров’яне русло резервних запасів Феруму для утворення гемоглобіну та адекватною спроможністю гепатоцитів синтезувати трансферин під час фізичного навантаження.

Ключові слова: собаки, фізичне навантаження, еритроцити, гемоглобін, гематокритна величина, кислотна резистентність еритроцитів, Ферум, трансферин, ферумотрансфериновий комплекс.

Постановка проблеми. Фізична підготовка є найважливішою характеристикою для собак службових порід, оскільки вона дає змогу підтримувати високий рівень їх активності, а також увагу та ефективність нюху [1, 2]. Усі ці елементи пов’язані з перебігом метаболічних процесів, у регуляції яких бере участь еритроцитопоез, оскільки від його функціонального стану залежить здоров’я і результативність службових собак [3, 4]. Регулярні фізичні навантаження поліпшують функції серцево-судинної системи, підвищують енергетичний метаболізм і антиоксидантний захист, забезпечують м’язову силу і фізичну витривалість [5].

Вивчення перебігу функціональних і метаболічних процесів є надзвичайно важливим за процесів, які індукуються за різних фізичних навантажень у собак службових порід [6].

За фізичного навантаження у тварин розвивається тканинна гіпоксія, тому необхідно вивчати функціональний стан еритроцитопоезу, який бере участь у забезпеченні тканин оксигеном [7]. Моніторинг здоров’я тварин під час дослідження крові дозволяє виявити патологічний стан на ранніх його стадіях, оскільки кров є первинною ланкою відображення метаболічних розладів в організмі [8].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Під час інтенсивних фізичних навантажень еритроцити стають більш уразливими до окиснювального пошкодження внаслідок дії активних форм оксигену, високої концентрації поліненасичених жирних кислот і гемі Феруму [9].

Виявлено, що в собак відбуваються індуковані зміни між балансом оксидантної та антиоксидантної систем, залежно від типу вправ, їх інтенсивності та тривалості, стану підготовки, умов навколишнього середовища, а також наявних захворювань [10, 11].

Останні дані свідчать, що у собак породи німецька вівчарка за субмаксимальних вправ (їх використовували для виявлення наркотичних засобів) підвищувався вміст креатинкінази (KK; $p < 0,001$), аспартатамінотрансферази (AsAT, $p < 0,05$) та неестерифікованих жирних кислот (NEFA; $p < 0,01$), що вказує про пошкодження м'язів і зниження клітинного енергетичного метаболізму [12].

Також науковці проводили дослідження щодо змін гематологічних і біохімічних показників в упряжних собак (гонки на санках на великій відстані – 600 км). Фізичний стан собак на фініші відображає зміни фізіологічної адаптації, досягнутої під час виконання витривалості, однак зміни, що спостерігалися у собак, яких вилучили з перегонів, можуть вказувати на патологічні стани. За результатами досліджень встановлено, що у вилучених з перегонів собак спостерігається вірогідне збільшення кількості нейтрофілів, С-реактивного білка, азоту сечовини крові та співвідношення Натрій/Калій, Фосфору, активності AsAT, АлАТ, лужної фосфатази та креатинкінази; вірогідне зниження кількості еритроцитів, гематокриту, вмісту гемоглобіну, загального білка, альбумінів, глобулінів, креатиніну, Калію та Кальцію [13].

Тому **метою** досліджень було вивчення показників еритроцитопоезу у службових собак під час фізичних навантажень.

Матеріал і методи. Дослідження проводили на собаках породи бельгійська вівчарка (малінуа) віком 1,5–2 роки ($n=8$). Собаки харчувалися сухими кормами преміум класу. Тварини виконували вправи з міжнародної програми Mondioring, які включали фізичні та емоційні навантаження для підготовки собак для ЗСУ, прикордонних військ та поліції. Кров відбирали у тварин до тренування (у спокої) та після процесу тренування (тривав 2 години).

Програма Mondioring складається з трьох частин: перша включає навантаження «робота по слухності»: рух поруч, комплекс вправ (сидіти, лежати, стояти), відсутність провідни-

ка, апортування, висилка вперед. Даний розділ потребує від собак значної концентрації уваги, при цьому фізичне навантаження незначне.

Друга частина – стрибки. В період проведення навантаження собаки виконували лише безопорний стрибок – це фізичні навантаження середнього ступеня.

Третя частина тренування – «кусачки». Під час проведення фізичного навантаження собаки виконували вправи для розвитку ігрової мотивації. Суть її полягала в досягненні стану збудження на прив'язі, за якого тварини виконували відкус. Під час отримання необхідного збудження собака постійно натягувала прив'язь із метою отримання здобичі, за рахунок чого піддавалася потужним фізичним навантаженням. Після відкусу навантаження переходило на м'язи щелеп і собака заспокоювалась. Загальний процес тренування тривав близько двох годин.

У крові визначали загальну кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, гематокритну величину, індекси “червоної” крові – вміст гемоглобіну в еритроциті (MCH) та середній об'єм еритроцита (MCV) гематологічним аналізатором Mindray BC-2800 Vet. Популяційний склад еритроцитів визначали методом фракціонування в градієнті густини сахарози за І. Сізовою [14]; кислотну резистентність еритроцитів – за А.І. Терським та І.І. Гітельзоном [15]. У сироватці крові визначали вміст Феруму, загальну та ненасичену ферумозв'язувальну здатність сироватки крові (ЗФЗЗ, НФЗЗ), рівень трансферину та насиченість його ферумом (ферозинний метод).

Результати досліджень та їх обговорення. Встановлено, що кількість еритроцитів у собак до фізичного навантаження в середньому становила $6,4 \pm 0,27$ Т/л. Приблизно такі ж значення кількості еритроцитів були і в собак після тренування ($6,5 \pm 0,30$ Т/л; табл. 1). Однак, якщо проаналізувати детальніше, то у 62,5 % тварин виявили тенденцію до підвищення кількості еритроцитів.

Для більш детального вивчення функціонального стану еритроцитів, визначали їх плавучість у градієнті густини сахарози, що дає змогу дослідити не тільки кількісний склад “червоних” клітин, але й дати ґрунтовну характеристику його якісним компонентам, а саме співвідношенню популяцій еритроцитів у периферичній крові собак під час фізичного навантаження. Кількість “старих” і “зрілих” форм еритроцитів у собак після тренування вірогідно не змінилася (табл. 1), однак у 85,7 % тварин виявили тенденцію до збільшення цих популяцій еритроцитів у периферичній крові.

Таблиця 1 – Показники еритроцитів і їх популяційного складу в службових собак (n=8)

Період дослідження	Біометричний показник	Еритроцити, Т/л	Популяційний склад еритроцитів, у проц.		
			“старі”	“зрілі”	“молоді”
До тренування	Lim	5,22–7,26	7,1–26,1	28,8–48,9	43,1–54,5
	M ± m	6,4±0,27	15,8±2,75	37,0±3,37	47,2±1,64
Після тренування	Lim	5,06–7,20	2,8–32,6	30,9–59,7	28,7–57,9
	M ± m	6,5±0,30	16,7±4,58	41,5±3,82	41,9±3,92

Що стосується „молодих” червонокрівців, то їх кількість мала тенденцію до зниження і в середньому становила до та після тренування 47,2±1,64 і 41,9±3,92 % відповідно ($p<0,5$; табл. 1).

Вивчення популяційного складу еритроцитів периферичної крові наочно демонструє фізико-хімічні властивості їх мембран, тому дослідження динаміки кислотної резистентності „червоних” клітин до гемолізу в собак до та після фізичного навантаження є прямим свідченням насиченості ліпідними компонентами їх мембран та здатності протистояти зовнішнім і внутрішнім чинникам.

Аналіз графічного зображення кислотної стійкості еритроцитів у собак до фізичних вправ указує на те, що час основного піку настав на 3,5 хв; висота його складала 16 %. Повний гемоліз еритроцитів завершувався на 7 хв (рис. 1). Слід зазначити, що дана еритрограма була пологою та помірноплинною (гемоліз „старих” і „зрілих” форм еритроцитів відбувався за однаковий час із „молодими”). Однак, еритрограма собак після навантаження

має суттєві відмінності. Вона зміщена праворуч, повний час гемолізу був 7,8 хв, основний пік складав 26,0 % клітин, що на 10 % більше, ніж у собак до навантаження та зміни його конфігурації (він став гострим). Ліва частина графіка сягала 4,8 хв (проти 3,8 хв у собак до навантаження), що свідчить про збільшення кількості „старих” і „зрілих” форм еритроцитів за рахунок їх викиду із депо. Однак, права частина еритрограми була швидкоплинною і сягала 2,8 хв (проти 3,8 хв у собак до навантаження), що вказує на зменшення елімінації в кров’яне русло „молодих” популяцій, які є недостатньо зрілими і не здатні повноцінно виконувати процеси трансфузії газів.

В основі дихальної функції крові лежить функціонування основного гемопротеїну еритроцита – гемоглобіну, вміст якого в крові собак до тренування в середньому становив 145,25±3,61 г/л. Такі ж величини виявили і під час дослідження рівня гемоглобіну у собак після фізичного навантаження ($p<0,5$; табл. 2). Однак, у 75,0 % тварин виявили підвищення цього показника, що, напевно, вказує на посилену ро-

% гемоліза

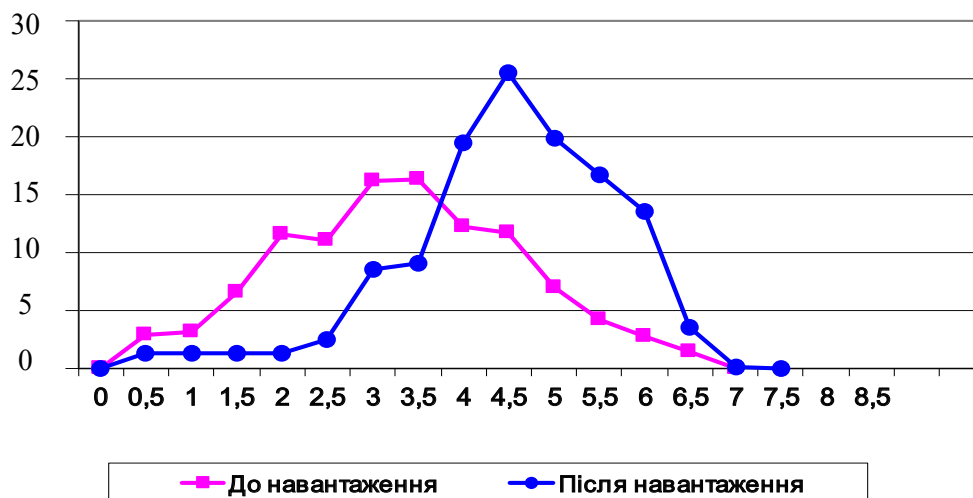


Рис. 1. Еритрограми у собак до та після навантаження.

боту кісткового мозку та інтенсивне утворення гемоглобіну за фізіологічної гіпоксії.

Для оцінки загального об'єму формених елементів крові, основну частку яких складають еритроцити, визначали гематокритну величину. Цей показник у собак до та після тренування вірогідно не відрізнявся (табл. 2). Однак, за детального аналізу отриманих даних, у 75,0 % тварин після тренування виявили підвищення гематокритної величини.

Про інтенсивність дозрівання еритроцитів та насичення їх гемоглобіном в кістковому мозку свідчать індекси "червоної" крові – *MCH* і *MCV*. У собак обох груп вони були в середньому однаковими (табл. 2; $p < 0,5$). Проте, у 62,5 % дослідних собак виявили тенденцію до зниження цих коефіцієнтів, що вказує на посилення процесів адаптації клітин "червоної" крові до фізіологічної гіпоксії під час фізичного навантаження та появу в кров'яному руслі великої кількості ненасичених мікроцитарних форм еритроцитів, зокрема „старих” популяцій.

Стабільність метаболічних процесів і забезпечення механізмів оксигенації в організмі залежить від роботи ферумотрансферинового комплексу, основним компонентом якого є Ферум. Рівень його в сироватці крові у собак до тренування в середньому становив $28,8 \pm 2,13$ мкмоль/л. Подібні ж величини цього мікроелемента були і після фізичних вправ ($p < 0,5$; табл. 3). Однак, слід зазначити, що у 87,5 % тварин кількість Феруму

підвищилася, що, можливо, є закономірним явищем, яке пов'язане з викидом у кров'яне русло резервних запасів Феруму для утворення гемоглобіну (у тварин після тренування вміст кров'яного пігменту підвищився на 4,2 %).

Іншим інформативним тестом, який характеризує метаболізм Феруму в організмі тварин, є загальна ферумозв'язувальна здатність сироватки крові (ЗФЗЗ). У собак до тренування середнє значення ЗФЗЗ становило $70,5 \pm 1,29$ мкмоль/л. Після фізичного навантаження цей показник мав тенденцію до підвищення ($p < 0,5$; табл. 3), що вказує на адекватну відповідь депо трансферину (печінки) на посилену потребу в цьому протеїні.

Ненасичена (латентна) ферумозв'язувальна здатність сироватки крові (свідчить про резервні запаси вільного Феруму) у собак в спокої становила $41,7 \pm 1,62$ мкмоль/л. Такі ж середні її значення були після тренування ($p < 0,5$; табл. 3), що вказує на стабільність ферумотрансферинового комплексу та процесів трансформації молекули Феруму в організмі тварин цієї групи.

Важливим індикатором стану обміну Феруму є вміст трансферину та насиченість його цим мікроелементом. Рівень цього протеїну в сироватці крові собак до тренування в середньому становив $3,15 \pm 0,05$ г/л, після нього середня величина теж не змінилася. Однак, у 85,7 % тварин виявили тенденцію до підвищення трансферину в крові (табл. 4).

Таблиця 2 – Показники «червоної» крові у собак (n=8)

Період дослідження	Вміст гемоглобіну, г/л	<i>MCH</i> , п/г	Гематокритна величина, %	<i>MCV</i> , мкм ³
До тренування	120,0–154,0	18,3–26,8	30,0–48,0	45,9–79,6
	$145,25 \pm 3,61$	$23,1 \pm 1,26$	$41,5 \pm 2,07$	$64,6 \pm 4,07$
Після тренування	126,0–179,0	19,4–28,6	32,0–53,0	59,7–84,8
	$151,4 \pm 5,79$	$23,5 \pm 1,31$	$43,4 \pm 3,82$	$66,9 \pm 2,86$

Таблиця 3 – Показники ферумотрансферинового комплексу в сироватці крові у собак до та після навантаження (n=8)

Період дослідження	Ферум, мкмоль/л	ЗФЗЗ, мкмоль/л	НФЗЗ, мкмоль/л
До тренування	23,2–38,4	64,7–76,2	33,6–50,6
	$28,8 \pm 2,13$	$70,5 \pm 1,29$	$41,7 \pm 1,62$
Після тренування	25,0–45,3	65,9–82,6	26,5–55,1
	$32,9 \pm 3,30$	$75,2 \pm 2,60$	$41,6 \pm 3,06$

Таблиця 4 – Показники трансферину в сироватці крові у собак до та після навантаження (n=8)

Період дослідження	Біометричний показник	Вміст трансферину, г/л	Насиченість трансферину Ферумом, у проц.
До тренування	Lim	2,89–3,38	32,0–52,5
	$M \pm m$	$3,15 \pm 0,05$	$40,7 \pm 2,56$
Після тренування	Lim	2,94–3,69	31,8–59,7
	$M \pm m$	$3,4 \pm 0,12$	$44,9 \pm 5,17$

Таку ж тенденцію мала і насиченість цього протеїну Ферумом. Цей коефіцієнт у собак до експерименту в середньому становив $40,7 \pm 2,56$ %. У наступний період дослідження (після навантаження) у тварин він не змінювався (табл. 4), що, напевно, пов'язано зі збільшенням рівня Феруму в сироватці крові за рахунок транспорту його з депо.

Обговорення. Еритроцитопоез є унікальним механізмом і функціональною системою, яка займає провідну ланку в забезпеченні тканинного дихання та стабільності метаболічних процесів в організмі. Система еритроциту – це популяція всіх еритроїдних клітин організму, які знаходяться на різних стадіях розвитку (проліферації, диференціації, дозрівання та руйнування) [16].

Вивчення фізіології та патофізіології гемопоезу, і його функціональної одиниці – еритроцита дає змогу конкретизувати закономірності змін клітинного гомеостазу і дослідити локальні механізми його регуляції. Еритроцитарна система має високу метаболічну активність, безпосередньо бере участь у транспортуванні кисню, діоксиду карбону (вуглекислого газу) та деяких біологічно активних речовин, регуляції кислотно-основної рівноваги і водно-електролітного балансу [17]. Тому система еритроцитопоезу однією із перших реагує на виникнення гіпоксичного стану за фізичних навантажень у тварин, зокрем у собак [18].

Очікувати високих результатів у кінології можна лише після оцінки стану еритроцитопоезу не тільки у спокої тварин, але й після фізичного навантаження, оскільки механізми адаптації “червоних” клітин до максимальних стресових навантажень і швидкість відновлення їх функцій впливають на стан здоров'я та результативність тварин [19]. Під час оцінки еритроцитопоезу слід враховувати як загальноприйняті показники, так і фізико-хімічні властивості еритроцитів (плавучість, кислотну резистентність) та механізми його регуляції (ферумо-трансфериновий комплекс), оскільки фізичні можливості та результативність їх залежать від перебігу метаболічних процесів у клітинах червоної крові. А поява патологічних змін в системі еритроциту негативно впливає на процеси тканинного дихання в організмі та зумовлює зниження м'язової активності під час фізичних навантажень [20].

Таким чином, за нашими дослідженнями, у собак під час фізичних вправ відбуваються зміни популяційного складу еритроцитів (тенденція до збільшення відносної кількості “старих” і “зрілих” та зменшення “молодих”), що є, напевно, показником більш інтенсивного до-

зрівняння “молодих” еритроцитів в периферичній крові та елімінації “зрілих” клітин із депо. Підтвердженням цього є зміна кислотної резистентності еритроцитів за рахунок підвищеної опірності бішару їх мембран та інтенсифікації процесів приєднання і віддачі кисню “червоними” клітинами, що сприяє їй швидкому “старінню”. Ці процеси пов'язані з регуляторними механізмами, що забезпечують мікроелементи, зокрема кобальт, завдяки якому в клітинах еритроїдного паростка кісткового мозку каталізуються процеси дозрівання еритроцитів.

Що стосується вмісту гемоглобіну в крові та гематокритної величини, то ці показники у 75,0 % собак після фізичного навантаження мали тенденцію до підвищення. Однак, індекси “червоної” крові (*MCH* і *MCV*) мали тенденцію до зниження, що вказує на посилення процесів адаптації еритроцитів до фізіологічної гіпоксії під час фізичного навантаження та появу в кров'яному руслі великої кількості ненасичених мікроцитарних форм еритроцитів, зокрема “старих” популяцій. При дослідженні ферумотрансферинового комплексу слід відмітити, що у 87,5 % тварин кількість Феруму, ЗФЗ та рівень трансферину підвищилися, які пов'язані з викидом у кров'яне русло резервних запасів Феруму для утворення гемоглобіну та адекватну спроможність гепатоцитів синтезувати трансферин під час фізичних вправ.

Висновки. Таким чином, у собак породи бельгійська вівчарка під час фізичних навантажень за програмою Mondioring встановили у 62,5 % тварин тенденцію до збільшення загальної кількості еритроцитів за рахунок викиду з депо “старих” і “зрілих” їх популяцій, підвищену опірність бішару мембран еритроцитів та інтенсифікацію процесів приєднання і віддачі кисню, у 75 % собак – підвищення рівня гемоглобіну, що вказує на посилену роботу кісткового мозку, інтенсивне утворення його за фізіологічної гіпоксії та викидом у кров'яне русло у 87,5 % дослідних тварин резервних запасів Феруму.

Відомості про дотримання етичних норм. Експериментальні дослідження проводили із дотриманням вимог Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. “Про захист тварин від жорстокого поводження” та узгоджують-ся з основними принципами “Європейської конвенції з 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).

Відомості про конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Catherine O'Brien, Larry G. Berglund. Predicting recovery from exertional heat strain in military working dogs. *Journal of Thermal Biology*. 2018. Vol. 76. P. 45–51. Doi: doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.07.001
2. Gazit I., Terkel J. Explosives detection by sniffer dogs following strenuous physical activity. *Applied Animal Behaviour Science*. 2003. Vol. 81. Issue 2. P. 149–161. Doi: doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00274-5
3. Apparent total-tract macronutrient digestibility, serum chemistry, urinalysis, and fecal characteristics, metabolites and microbiota of adult dogs fed extruded, mildly cooked, and raw diets / Kiley M. Algya et al. *Journal of Animal Science*. 2018. Vol. 96. Issue 9. P. 3670–3683. Doi: doi.org/10.1093/jas/sky235
4. Monitoring changes in body surface temperature associated with treadmill exercise in dogs by use of infrared methodology / M. Rizzo et al. *Journal of Thermal Biology*. 2017. Vol. 69. P. 64–68. Doi: doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.06.007
5. Effects of weight loss on heart rate normalization and increase in spontaneous activity in moderately exercised overweight dogs / J.C. Bouthegourd et al. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. 2009. Vol. 4. P. 153–164.
6. Головаха В.І., Анфорова М.В., Піддубняк О.В., Дубовий А.А. Лікування гепатоанемічного синдрому у службових собак. *Наук. вісник вет. медицини. Біла Церква*, 2015. Вип. 2 (122). С. 42–49.
7. Анфорова М.В., Головаха В.І., Піддубняк О.В., Тишківський М.Я. Зміни властивостей еритроцитів у собак. *Наук. вісник Львів. нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. Львів*, 2016. Т. 18. № 3 (71). Ч. 2. С. 3–6.
8. Changes of erythropoiesis indices in dogs with babesiosis / V.I. Holovakha et al. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2018. № 9(3). P. 379–383. Doi: https://doi.org/10.15421/021856
9. Stohrer M. Hammer B., Hammer R., Brincker B., Stangassinger M. Oxidative stress following extreme physical stress. Part 1: Genesis, clinical relevance and studies on vitamin E-supplemented sled dogs. *Tierärztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere*. 2002. Vol. 30. Issue 4. P. 266–273.
10. Клинико-гематологический статус у собак и кошек при атопическом дерматите / В.И. Головаха и др. *Ученые записки УО ВГАВМ. Витебск*, 2018. Т. 54. Вип. 4. С. 40–44.
11. Безух В.М., Піддубняк О.В. Клініко-гематологічний статус собак за отруєння зоокумарином. *Наук. вісник вет. медицини. Біла Церква*. 2015. Вип. 15 (118). С. 10–13.
12. Benefits of dietary supplements on the physical fitness of German Shepherd dogs during a drug detection training course / L.A. Menchetti et al. *Public Library of Science*. Vol. 14. Issue 6. 2019. Doi: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218275

13. Haematological and serum biochemical values in Norwegian sled dogs before and after competing in a 600 km race / T.H.A. Jahr et al. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2019. Vol. 61. Issue 1. Article 20.
14. Сизова И.А., Каменская В.В., Федяков В.И. Безаппаратурный способ фракционирования красных клеток крови в градиенте плотности сахарозы. *Изв. Сиб. отд. АН СССР*. 1980. Т. 3. №15. С. 119–122.
15. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин / В.І. Левченко та ін.; за ред. В.І. Левченка. Київ: Аграрна освіта, 2010. 437 с.
16. Эмерсон С.Дж. Гемопоз. Развитие клеток крови [в кн.: Шиффман Ф.Дж. Патология физиологии крови]. М., Спб.: БИНОМ–Невский диалект, 2000. С. 17–42.
17. Effect of dietary (n-9), (n-6) and (n-3) fatty acids on membrane lipid composition and morphology of fat erythrocytes / A. Escudero et al. *Biochimica et Biophysica Acta-lipids and Lipid Metabolism*. 1998. Vol. 1394. Issue 1. P. 65–73. Doi: https://doi.org/10.1016/S0005-2760(98)00095-2
18. Roy J. Shephard Peptic Ulcer and Exercise. *Sports Medicine*. 2017. Vol. 47. Issue 1. P. 33–40.
19. Immunometabolic parameters in overweight dogs during weight loss with or without an exercise program / A.D. Vitger et al. *Domestic Animal Endocrinology*. 2017. Vol. 59. P. 58–66. Doi: https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.10.007
20. Serum biochemical, blood gas and antioxidant status in search and rescue dogs before and after simulated fieldwork / J.W.A. Spoo et al. *Veterinary Journal*. Vol. 2015. Issue 1. P. 47–53. Doi: https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.07.002

REFERENCES

1. Catherine, O'Brien, Larry, G. Berglund. (2018). Predicting recovery from exertional heat strain in military working dogs. *Journal of Thermal Biology*. Vol. 76, pp. 45–51. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.07.001
2. Gazit, I., Terkel, J. (2003). Explosives detection by sniffer dogs following strenuous physical activity. *Applied Animal Behaviour Science*. Vol. 81, Issue 2, pp. 149–161. Available at: https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00274-5
3. Kiley, M. Algya., Tzu-Wen, L. Cross., Kristen, N. (2018). Leuck. Apparent total-tract macronutrient digestibility, serum chemistry, urinalysis, and fecal characteristics, metabolites and microbiota of adult dogs fed extruded, mildly cooked, and raw diets. *Journal of Animal Science*. Vol. 96, Issue 9, pp. 3670–3683. Available at: https://doi.org/10.1093/jas/sky235
4. Rizzo, M., Arfuso, F., Alberghina, D., Giudiceb, E., Ganesella, M., Piccionea, G. (2017). Monitoring changes in body surface temperature associated with treadmill exercise in dogs by use of infrared methodology. *Journal of Thermal Biology*. Vol. 69, pp. 64–68. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.06.007
5. Bouthegourd, J.C., Kelly, M., Clety, N., Tardif, S., Smeets, D. (2009). Effects of weight loss on heart rate normalization and increase in spontaneous activity in moderately exercised overweight dogs. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*. Vol. 4, pp. 153–164.

6. Holovakha, V.I., Anforova, M.V., Piddubniak, O.V., Dubovyi, A.A. (2015). Likuvannya hepatoanemichnoho syndromu u sluzhbovykh sobak [Treatment of hepatoanemic syndrome in service dogs]. *Nauk. visnyk vet. Medytsyny* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. Bila Tserkva, Vol. 2 (122), pp. 42–49.

7. Anforova, M.V., Holovakha, V.I., Piddubniak, O.V., Tyshkivskiy, M.Ia. (2016). Zminy vlastyvosti erytrotytiv u sobak [Changes in erythrocyte properties in dogs]. *Nauk. visnyk Lviv. nats. un-tu vet. medytsyny ta biotekhnologii im. S.Z. Hzhyskoho* [Scientific Bulletin Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Lviv, Vol. 18, no. 3 (71), Part 2, pp. 3–6.

8. Holovakha, V.I., Piddubnyak, O.V., Bakhur, T.I., Vovkotrub, N.V., Antipov, A.A., Anforova, M.V., Gutij, B.V., Slivinska, L.G., Kurdeko, O.P., Macynovich, A.O. (2018). Changes of erythropoiesis indices in dogs with babesiosi. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. no. 9(3), pp. 379–383. Available at: <https://doi.org/10.15421/021856>

9. Stohrer, M., Hammer, B., Hammer, R., Brincker, B., Stangassinger, M. (2002). Oxidative stress following extreme physical stress. Part 1: Genesis, clinical relevance and studies on vitamin E-supplemented sled dogs. *Tierärztliche Praxis Ausgabe Kleintiere Heimtiere*. Vol. 30, Issue 4, pp. 266–273.

10. Holovakha, V.Y., Sliusarenko, A.A., Svyrsaia, N.M., Mostovaia, A.V., Sliusarenko, S.V., Pyddubniak, O.V., Tushkivskiy, M.Ia. (2018). Klynko-hematolohicheskyi status u sobak y koshek pry atopicheskom dermatyte [Clinical and hematological status in dogs and cats with atopic dermatitis]. *Uchenue zapysky UOV HAVM* [Scientific notes UOV GAVM]. Vytebsk, Vol. 54, Issue 4, pp. 40–44.

11. Bezukh, V.M., Piddubnyk, O.V. (2015). Kliniko-hematolohichni status sobak za otruiennia zookumarynom [Clinical-hematological status of dogs for zoocoumarin poisoning]. *Nauk. visnyk vet. Medytsyny* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. Bila Tserkva, Vol. 15 (118), pp.10–13.

12. Menchetti, L.A., Guelfi, G.A., Speranza, R.B., Carotenuto, P.B., Moscati, L.C., Diverio, S.A. Benefits of dietary supplements on the physical fitness of German Shepherd dogs during a drug detection training course. *Public Library of Science*. Vol. 14, Issue 6, June 2019. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218275>

13. Jahr, T.H.A., Fergestad, M.E.B., Brynildsrud, O.C., Brun-Hansen, H.A., Skancke, E.A. (2019). Haematological and serum biochemical values in Norwegian sled dogs before and after competing in a 600 km race. *Acta Veterinaria Scandinavica*. Vol. 61, Issue 1, Article 20.

14. Syzova, Y.A., Kamenskaia, V.V., Fediakov, V.Y. (1980). Bezapparturnyiy sposob frakcionirovaniya krasnykh kletok krovi v gradiente plotnosti saharozy [A non-apparatus method for fractionation of red blood cells in a sucrose density gradient]. *Yzv. Syb. otd. AN SSSR* [News Sib. Dep. USSR Academy of Sciences]. Vol. 3, no. 15, pp. 119–122.

15. Levchenko, V.I., Holovakha, V.I., Kondrakhin, I.P. (2010). Metody laboratornoi klinichnoi diahnostyky khvorob tvaryn [Methods of laboratory clinical diagnosis of animal diseases]. Kyiv: Agricultural Education, 437 p.

16. Jemerson, S.Dzh. (2000). Gemopojez. Razvitie kletok krovi [v kn.: Shiffman F.Dzh. Patofiziologija krovi] [The development of blood cells [in the book: Shiffman F.J. Pathophysiology of blood]]. Moscow, St. Petersburg: BINOM – Nevsky dialect. pp. 17–42.

17. Escudero, A., Montilla, J.C. Garcia, J.M. Sanchez-Quevedo, M.C. Periago, J.L., Hortelano, P., Suarez, M.D. (1998). Effect of dietary (n-9), (n-6) and (n-3) fatty acids on membrane lipid composition and morphology of fat erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta-lipids and Lipid Metabolism*. Vol. 1394, Issue 1, pp. 65–73. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0005-2760\(98\)00095-2](https://doi.org/10.1016/S0005-2760(98)00095-2)

18. Roy, J. (2017). Shephard Peptic Ulcer and Exercise. *Sports Medicine*. Vol. 47, Issue 1, pp. 33–40.

19. Vitger, A.D., Stallknecht, B.M., Miles, J.E., Hansen, S.L., Vegge, A., Bjornvad, C.R. (2017). Immunometabolic parameters in overweight dogs during weight loss with or without an exercise program. *Domestic Animal Endocrinology*. Vol. 59, pp. 58–66. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.10.007>

20. Spoo, J.W.A., Zoran, D.L.B., Downey, R.L.C., Bischoff, K.D., Wakshlag, J.J.E. (2015). Serum biochemical, blood gas and antioxidant status in search and rescue dogs before and after simulated fieldwork. *Veterinary Journal*. Vol. 206, Issue 1, pp. 47–53. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.07.002>

Состояние эритроцитопоза у служебных собак при физической и эмоциональной нагрузке

Головаха В.И., Мостовой Е.В., Пиддубняк О.В., Кюрчев А.Н.

Во время исследований изучены показатели эритроцитопоза у служебных собак при физической нагрузке. Исследования проводили на собаках породы бельгийская овчарка (малинуа) в возрасте 1,5–2 года, которые выполняли упражнения по международной программе Mondioring, включавшая физические и эмоциональные нагрузки для подготовки собак для ВСУ, пограничных войск и национальной полиции. Кровь отбирали у животных до тренировки (в покое) и после процесса тренировки (длится 2 часа). Установлено, что у 62,5 % животных выявили тенденцию к повышению общего количества эритроцитов и их популяций – "старых" и "зрелых". Такие изменения у собак во время физических упражнений является показателем более интенсивного созревания "молодых" эритроцитов в периферической крови, элиминации "зрелых" клеток из депо, повышенной сопротивляемости поверхности их мембран и интенсификации процессов присоединения и отдачи кислорода эритроцитами.

Относительно содержания гемоглобина в крови и гематокритной величины, то эти показатели у 75,0 % собак после физических упражнений имели тенденцию к повышению. Однако, индексы "красной" крови (MCH и MCV) имели тенденцию к снижению, что указывает на усиление процессов адаптации эритроцитов к физиологической гипоксии во время физической нагрузки и появление в кровяном русле большого количества ненасыщенных ми-

кроцитарных форм эритроцитов, в частности "старых" популяций. При исследовании ферумотрансферринового комплекса следует отметить, что у 87,5 % животных количество Ферума, ОФСС и уровень трансферрина повысились, что связано с выбросом в кровяное русло резервных запасов Ферума для образования гемоглобина и адекватной способностью гепатоцитов синтезировать трансферрин во время физической нагрузки.

Ключевые слова: собаки, физическая нагрузка, эритроциты, гемоглобин, гематокритная величина, кислотная резистентность эритроцитов, Ферум, трансферрин, ферумотрансферриновый комплекс.

The state of erythrocytopoiesis in dogs in physical and emotional load

Holovakha V., Mostovoy E., Piddubnyak O., Kurchev O.

In our studies, we examined the indices of erythrocytopoiesis in service dogs for physical activity. The studies were conducted on 1.5–2 years old Belgian Shepherd (Malinois) dogs who performed exercises from the international Mondioring program, which included physical and emotional training to train dogs for the Armed Forces, Border Troops and National Police. Blood was collected from animals before training (at rest) and after the training process (lasting 2 hours). It was

found that 62.5 % of animals showed a tendency to increase the total number of erythrocytes and their populations – "old" and "mature". Such changes in dogs during exercise are indicative of more intense maturation of "young" erythrocytes in the peripheral blood, elimination of "mature" cells from the depot, increased resistance to the membrane of their membranes, and intensification of the processes of erythrocyte attachment and delivery.

With regard to hemoglobin content in the blood and hematocrit, these figures in 75.0 % of dogs after exercise tended to increase. However, red blood indices (MCH and MCV) tended to decrease, indicating an increase in the erythrocyte adaptation processes to physiological hypoxia during exercise and the appearance of a large number of unsaturated microcytic forms of erythrocytes in the bloodstream in particular. In the study of the ferumotransferrin complex, it should be noted that in 87.5 % of the animals, the amount of ferum, TIBC and transferrin levels increased, which are related to the release into the bloodstream of the reserve reserves of the ferrum for hemoglobin formation and adequate ability of hepatocytes to synthesize during transplantation.

Key words: dogs, physical activity, erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, acid resistance of erythrocytes, ferrum, transferrin, ferumotransferin complex.



Copyright: © Головаха В.І., Мостовий Є.В., Піддубняк О.В. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Головаха В.І.

ID <https://orcid.org/0000-0001-5937-5075>

Мостовий Є.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-2996-5936>

Піддубняк О.В.

ID <https://orcid.org/0000-0001-9071-2041>

УДК 619:616.5:636.6:612-017

Вплив комплексу наноаквахелатів селену і германію на гуморальний імунітет в організмі перепелів

Ємельяненко А.А., Шмаюн С.С., Ніщененко М.П. ,
Ємельяненко О.В., Порошинська О.А., Стовбецька Л.С.,
Козій В.І. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 Ємельяненко А.А., БНАУ, м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1. E-mail: alla.emelyanenko@btsau.edu.ua



Ємельяненко А.А., Шмаюн С.С., Ніщененко М.П., Ємельяненко О.В., Порошинська О.А., Стовбецька Л.С., Козій В.І. Вплив комплексу наноаквахелатів селену і германію на гуморальний імунітет в організмі перепелів. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 88–95.

Jemel'janenko A.A., Shmajun S.S., Nishhemenko M.P., Jemel'janenko O.V., Poroshyn'ska O.A., Stovbec'ka L.S., Kozij V.I. Vplyv kompleksu nanoakvahelativ selenu i germaniju na gumoral'nyj imunitet v organizmi perepeliv. Naukovyj visnyk veterynarnoi medycyny, 2020. № 1. PP. 88–95.

Рукопис отримано: 26.02.2020р.

Прийнято: 16.03.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-88-95

Наведено результати досліджень щодо впливу наноаквахелатів селену і германію в комплексі на вміст імуноглобулінів та циркулюючих імунних комплексів в організмі перепелів. Встановлено, що рівень імуноглобулінів і їх класів є основним показником стану гуморального імунітету.

За результатами досліджень встановлено, що у однодобових перепелів вміст класів імуноглобулінів А, М, G у сироватці крові становив $0,80 \pm 0,03$; $0,30 \pm 0,01$ та $5,82 \pm 0,06$ мг/мл, що відповідно на 31,1; 20,0 та 6,0 % більше порівняно з контрольною групою.

При цьому в п'ятидобовому віці перепелів у сироватці крові вміст IgA становив $0,84 \pm 0,02$ мг/мл, IgM – $0,54 \pm 0,03$ мг/мл та IgG – $6,87 \pm 0,04$ мг/мл, що більше відповідно на 29,2; 42,1 та 5,0 %, порівняно з контрольною групою.

Під час дослідження сироватки крові перепелів за вмістом циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) відмічено, що в 1- та 5-добовому віці в дослідних групах вміст середньомолекулярних ЦІК був порівняно з контролем достовірно меншим, відповідно у 1,5 та 1,6 рази. Вміст низькомолекулярних ЦІК у сироватці крові перепелів як в однодобовому віці, так і через чотири доби вірогідно зменшився, порівняно з контрольною групою, відповідно у 2 та 1,1 рази. Це, ймовірно, характеризує загальну ефективність і збалансованість реакцій імунної системи за впливу наноаквахелатів селену і германію в оптимальних дозах, відповідно 0,05 та 5,0 мкг/кг, які проявляють позитивний вплив на імунітет перепелів у ранньому постембріональному періоді.

Отже, застосування комплексу наноаквахелатів селену та германію має взаємодоповнюючу дію та сприяє збільшенню імунореактивності молодяку шляхом підтримання активності імунної системи.

Ключові слова: наноаквахелат селену, наноаквахелат германію, перепілки, імуноглобуліни, імунітет.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. На основі огляду наукових публікацій коротко описані основні біологічні характеристики перепелів, які свідчать про перспективність їх розведення як цінного джерела делікатесних і лікувально-дієтичних

продуктів харчування [1–3]. Відомо, що перепелів використовують не лише для отримання продукції (м'яса, яєць), але й як лабораторну птицю, як модель для наукових досліджень з генетики, ендокринології, ембріології та фізіології [4–6].

Погіршення екологічної ситуації, збільшення кількості технологічних стрес-факторів, вплив природних і антропогенних чинників обумовлюють причину зниження імунореактивності організму птиці [7], розвитку імунodefіцитних станів та зниження рівня антиоксидантного захисту організму птиці в ембріональному періоді його розвитку та ранньому постембріональному онтогенезі, коли відбувається закладання захисних систем організму [8].

На сучасному етапі розвитку птахівництва однією з головних проблем цієї галузі є підвищення виводимості, життєздатності та імунітету птиці [9]. Одним з індикаторів імунного захисту є показник рівня імунoglobulinів. Визначення основних класів імунoglobulinів в сироватці крові птиці дозволяє отримувати інформацію про стан гуморального імунітету [10, 11].

Однією з біологічних функцій імунoglobulinів є нейтралізація антигенів з утворенням циркулюючих імунних комплексів. Це фізіологічний процес, який здійснюється в організмі тварин і птиці та спрямований на підтримку захисних функцій. Підвищення здатності організму виробляти імунoglobulini збільшує його захисні можливості, в результаті чого спостерігається зростання пристосованості організму до різних чинників середовища, що забезпечує поліпшення продуктивних якостей і збереженість сільськогосподарської птиці [12–15].

Значна кількість препаратів, які використовують у птахівництві з метою стимуляції обмінних процесів, антиоксидантного, вітамінного, імунного статусу організму мають різне походження. Деякі з них відзначаються побічними ефектами та певною токсичністю, а також потребують тривалого застосування [16].

На сьогодні в Україні та світі широко впроваджують нанотехнології і наноматеріали, які стрімко ввійшли в життя людства, зокрема у сільськогосподарське виробництво, що дає змогу забезпечити належний імунний та антиоксидантний захист стад птиці, біобезпеку виробництва продукції птахівництва та одержати продукцію високої якості [17, 18].

У зв'язку із зазначеним вище, досить актуальним є вивчення впливу комплексу наноаквахелатів селену і германію на показники імунної реактивності організму птиці.

Мета дослідження – встановити вплив наноаквахелатів селену і германію в комплексі на динаміку вмісту імунoglobulinів та циркулюючих імунних комплексів в організмі перепелів.

Матеріал і методи дослідження. Експерименти проводили в науково-дослідній лабораторії кафедри нормальної та патологічної

фізіології тварин Білоцерківського національного аграрного університету. Для дослідження використовували перепелів (*Coturnix coturnix japonica*) 1–5-добового віку, породи фараон, м'ясного напрямку продуктивності. Параметри мікроклімату приміщення, де утримували птицю, відповідали зоогігієнічним нормам і були ідентичними для птиці усіх груп.

Під час проведення дослідження використовували інкубаційну обробку яєць, на добре прогрітий ембріон, який знаходився у стадії гастрюляції, тобто через 2 години після закладки на інкубацію, а потім за добу до критичних періодів: 9-та доба – замикання алантоїсу, 11-та доба – перехід на білкове живлення, 13-та доба – швидкий ріст постійних органів, 15-та доба – початок прокльовування, 17-та доба – вивід молодняку. При цьому обробку проводили в один і той же час, а кількість наноаквахелатів селену і германію у різних дозах становила 30 мл. Контроль обробляли дистильованою водою. Така кількість необхідна для того, щоб вся поверхня яєць була рівномірно зволожена. Для зрошення використовували спеціальні обприскувачі.

Для проведення досліджень сформовано дослідну і контрольну групи по 5 перепелів у кожній. Яйця птиці дослідної групи в період інкубації обробляли наноаквахелатним розчином селену та германію, в комплексі, у дозі 0,05 для селену та 5,0 для германію мкг/кг яєць.

Методом отримання наночасток металів селену і германію є застосування ерозійно-вибухової нанотехнології, розробленої на основі нового фізичного явища. Отримані наноматеріали є висококоординаційними аніоноподібними аквахелатами нанометалів. Гідратовані наночастки металів є аналогами комплексних сполук, що складаються з комплексоутворювача, яким є одна або декілька наночасток, що мають поверхневий електричний заряд, і лігандів, у якості яких використовуються молекули води. Поверхневий електричний заряд у наночастинці утворюють в результаті вибухово-електронної емісії з поверхні провідника при ерозивно-вибуховому диспергуванні металу. Суміш колоїдів металів представляє собою двокомпонентну систему з деіонізованої води та часток металів у нанорозмірному стані (1,0–50,0 нм) зі слабкою кислотою реакцією (pH 6,7–6,9) та вмістом металів від 100 мг/л. Отриманий фізичним методом, даний колоїд значно відрізняється від колоїдів Se, Ge отриманих хімічним або електролізним способом, де іони металів діють токсично і тому використовуються досить обмежено [19, 20]. Розчини наноаквахелатів селену і германію були

виготовлені в м. Київ ТОВ "Наноматеріали і нанотехнології" і повністю готові до використання.

Для проведення біохімічних досліджень матеріал відбирали у добового та 5-добового молодняку перепелів. Для досліджень взято по 5 перепелів з кожної групи в один і той же час доби для виключення коливань фізіологічного-біохімічних параметрів. Кров відбирали після декапітації птиці під етерним наркозом, а матеріалом для дослідження слугувала сироватка крові.

Гуморальний імунітет оцінювали за вмістом у сироватці крові циркулюючих імунних комплексів, рівнем загальних імуноглобулінів та їх класів IgM, IgG, IgA.

Вміст в сироватці крові перепелів циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) визначали за допомогою тест-системи фірми «Гранум» м. Харків. Принцип методу полягає у зміні величини світлового розсіювання розчину поліетиленгліколю внаслідок осадження ним ЦІК із сироватки крові і визначали спектрофотометрично за довжини хвилі 450 нм оптичної щільності проти контролю.

Загальну кількість імуноглобулінів в сироватці крові визначали за реакцією з натрію сульфідом. Принцип методу полягає в тому, що у процесі взаємодії сироватки крові, яка містить імуноглобуліни, з розчином натрію сульфіді змінюється структура білкових молекул і розчин мутніє, а інтенсивність помутніння пропорційна концентрації імуноглобулінів. Визначали на спектрофотометрі за довжини хвилі 400 нм.

Класи імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG) в сироватці крові перепелів досліджували за допомогою тест-системи фірми «Гранум» м. Харків. Відповідно до інструкції з тест-системи на «Вошер», «Інкубатор-шейкер», «Рідер» марки StatFax, «Мікроцентрифуга-стусувач».

Результати дослідження. За даними таблиці 1 після обробки наноаквахелатами селену і германію в дозах 0,05 та 5,0 мкг/кг вміст загальних імуноглобулінів в сироватці крові перепелів 1-добового віку був $7,46 \pm 0,11$ мг/мл, що на 11,5 % ($p < 0,05$) більше ніж у контролі. На п'яту добу вміст загальних імуноглобулінів у дослідній групі збільшився на 16,6 % і становив $8,70 \pm 0,12$ мг/мл, що на 10,3 % більше ніж у контролі ($p < 0,05$). Це, ймовірно, можна пояснити особливістю імуномодулюючого впливу комплексної дії наноаквахелатів Se і Ge на показники специфічного захисту організму перепелів, оскільки надзвичайно важливим аспектом забезпечення високого рівня імунореактивності перепелят в період раннього постембріонального періоду є підтримання активності імунної та антиоксидантної систем.

Також встановлено, що у однодобових перепелів вміст класів імуноглобулінів A, M, G у сироватці крові становив $0,80 \pm 0,03$; $0,30 \pm 0,01$ та $5,82 \pm 0,06$ мг/мл, що на 31,1 % ($p < 0,01$), 20,0 та 6,0 % ($p < 0,05$) відповідно більше, порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$).

При цьому в п'ятидобовому віці перепелів у сироватці крові вміст класів IgA становив $0,84 \pm 0,02$ мг/мл, IgM $0,54 \pm 0,03$ мг/мл та IgG – $6,87 \pm 0,04$ мг/мл, що більше на 29,2; 42,1 ($p < 0,01$) та 5,0 % ($p < 0,05$) відповідно, порівняно з контрольною групою, оскільки імуноглобуліни є кінцевими продуктами В-клітин, а визначення їх вмісту в крові птиці дозволяє оцінити В-систему імунітету, як з кількісної, так і функціональної сторони [21]. Виявлене нами збільшення концентрації окремих класів імуноглобулінів у сироватці крові перепелів дослідної групи також свідчить про стимулюючий вплив специфічних імуноглобулінів на антитілогенез за комплексного впливу наноаквахелатів селену і германію в оптимальних дозах.

Таблиця 1 – Динаміка вмісту загальних імуноглобулінів (мг/мл), їх класів (Ig A, Ig M, Ig G) та циркулюючих імунних комплексів (од. опт. щільн.) у сироватці крові перепелів за комплексного впливу наноаквахелатів селену і германію, (n=5)

Показник	Перепели однодобового віку		Перепели п'ятидобового віку	
	Група			
	дослідна	контроль	дослідна	контроль
Загальні імуноглобуліни	7,46±0,11*	6,60±0,20	8,70±0,12*	7,80±0,12
IgM	0,30±0,01*	0,25±0,01	0,54±0,03*	0,38±0,01
IgG	5,82±0,06*	5,49±0,05	6,87±0,04**	6,54±0,05
IgA	0,80±0,03**	0,61±0,04	0,84±0,02**	0,65±0,02
ЦІК:				
Середньомолекулярні	0,09±0,01**	0,14±0,01	0,56±0,05**	0,90±0,08
Низькомолекулярні	1,36±0,05**	1,66±0,05	2,46±0,05*	2,76±0,07

Примітка: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; порівняно з контрольною групою.

Згідно з літературними даними встановлено, що утворення і наявність ЦІК в рідинах організму – це один з проявів імунної відповіді організму на надходження антигенів та є важливим чинником, що забезпечує імунітет [22, 23]. У наших експериментах було відмічено, що в сироватці крові перепелів 1- та 5-добового віку в дослідних групах вміст середньомолекулярних ЦІК був порівняно з контролем достовірно менше у 1,5 та 1,6 рази ($p < 0,01$). Вміст низькомолекулярних ЦІК у сироватці крові перепелів як в однодобовому віці, так і через чотири доби вірогідно зменшився, порівняно з контрольною групою, у 2 ($p < 0,01$) та 1,1 ($p < 0,05$) рази. Це, ймовірно, характеризує загальну ефективність і збалансованість реакцій імунної системи за впливу наноаквахелатів селену і германію в оптимальних дозах 0,05 та 5,0 мкг/кг, які справляють позитивний вплив на імунітет перепелів в ранньому постембріональному періоді.

Обговорення результатів дослідження.

Чинники зовнішнього та внутрішнього середовища організму досить істотно впливають на імунореактивність і реактивність організму птиці в цілому в ранній постембріональний період розвитку. У результаті аналізу імуностимулюючої дії наноаквахелатів селену, германію та їх комплексного застосування в оптимальних дозах на показники гуморального імунітету, встановили позитивний стимулюючий вплив на імунітет, що свідчить про посилений захист організму птиці в критичні періоди її росту та розвитку.

На думку S. Hassan та співавт. [24], нанотехнології мають значний потенціал застосування у різних сферах діяльності людини. Особливо велике значення може мати їх використання у тваринництві. Автори наголошують, що не зважаючи на досить невеликі дози мікроелементів у раціонах продуктивних тварин, залишається відкритим питання їх біологічної доступності та ефективності. Нанотехнології дозволяють вирішувати ці питання за рахунок впливу на фізичні і хімічні властивості речовин. Так, зменшення розміру часток речовини приводить до збільшення площі активної поверхні, тобто біологічної активності. У зв'язку з цим вивчення потенційних можливостей використання нанотехнологій у продуктивному тваринництві і птахівництві є важливим завданням сучасної науки. Автори особливо наголошують на важливості вивчення ефективності наноаквахелатів у різних видів продуктивної птиці.

Так, згідно з даними A.P. Del Vesco та співавт. [25], використання селену перепелам

сприяло активації ензимів маркерів стресу, що на думку авторів свідчить про підвищення антиоксидантних властивостей організму за рахунок активації експресії відповідних генів. Інші автори [26] відмічають значне підвищення продуктивності перепелів за згодовування Селену, особливо в період холодового стресу. Sahin K. та співавт. [27, 28] вказують на здатність Селену нівелювати негативний вплив підвищеної температури на перепелів та покращувати перетравність кормів за його згодовування.

Biswas A. та співавт. [9] встановили, що додавання Селену в раціон перепелів позитивно впливає на їх імунну реактивність, але не підвищує продуктивні якості птиці.

Результати досліджень отримані M. Baylan та співавт. [29] свідчать про те, що засвоєність Селену залежить від виду корму, а також тривалості та умов його зберігання.

Оцінку функціонального стану імунної системи в період раннього постембріонального періоду розвитку перепелів проводили за вмістом загальних імуноглобулінів. Комплексне застосування в оптимальних дозах наноаквахелатів селену і германію у дослідній групі сприяло збільшенню вмісту загальних імуноглобулінів у сироватці крові перепелів в добовому та 5-добовому віці на 13,0–11,5 %, порівняно з контролем. Такі зміни вмісту загальних імуноглобулінів у сироватці крові перепелів, ймовірно, є свідченням активізуючої дії аквахелатів на стан специфічної імунореактивності організму птиці.

Аналізуючи отримані результати слід відмітити, що різні дози селену і германію по різному впливають на вміст IgM, G та A. Комплексне застосування наноаквахелатів селену та германію в оптимальних дозах сприяло зростанню у перепелів однодобового віку вмісту класів IgM, G, A на 20,0; 6,0 та 31,1 %, відповідно, порівняно з контролем ($p < 0,01$). Отже, можна висловити припущення, що виявлене нами збільшення концентрації окремих класів імуноглобулінів у сироватці крові перепелів дослідної групи свідчить про стимулюючий вплив наноаквахелатів селену і германію в оптимальних дозах.

Важливим показником, який свідчить про підвищення реактивності імунної системи є вміст циркулюючих імунних комплексів в сироватці крові птиці. Комплексне застосування наноаквахелатів селену та германію в оптимальних дозах перепелам добового та 5-добового віку сприяло зменшенню вмісту середньомолекулярних ЦІК у 1,5 та 1,6 рази ($p < 0,01$), порівняно з контролем. Вміст низькомолекулярних циркулюючих імунних комплексів у

сироватці крові перепелів як в однодобовому віці, так і через чотири доби, також вірогідно зменшився порівняно з контролем у 2,0 ($p < 0,01$) та 1,1 ($p < 0,001$) рази. Це, ймовірно, характеризує загальну ефективність і збалансованість реакцій імунної системи за впливу наноаквахелатів селену і германію в оптимальних дозах 0,05 та 5,0 мкг/кг, які позитивно впливають на імунореактивність перепелів в ранньому постембріональному віці.

Висновки. Таким чином, за аналізу змін показників гуморального імунітету перепелів у період раннього постембріонального періоду розвитку (на 1-шу та 5-ту добу життя), можна зробити висновок, що комплексне застосування наноаквахелатів Se та Ge сприяло вірогідному зростанню вмісту класів імуноглобулінів А, М, G у сироватці крові птиці. Це, ймовірно, можна пояснити особливістю імуномодуючого впливу комплексної дії наноаквахелатів селену і германію на показники специфічного захисту та імунорезистентності організму перепелів в ранньому періоді розвитку.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Експериментальні дослідження проводили відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р.

Відомості про конфлікт інтересів. Автори статті Ємельяненко А.А., Шмаюк С.С., Ніщенко М.П., Ємельяненко О.В., Порошинська О.А., Стовбецька Л.С., Козій В.І. «Вплив наноаквахелатів селену і германію в комплексі на динаміку вмісту імуноглобулінів та циркулюючих імунних комплексів в організмі перепелів» стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження. Матеріали статті можуть бути опубліковані.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Productivity and selenium concentrations in egg and tissue of laying quails fed selenium from hydroponically produced selenium-enriched kale sprout (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* L.) / O. Chinrasri et al. *Biol Trace Elem Res.* 2013 Dec. Vol. 155(3). P. 381–386. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9824-3>.
2. Abedi P., Tabatabaei Vakili S., Mamouei M., Aghaei A. Effect of different levels of dietary vitamin E on reproductive and productive performances in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Vet Res Forum.* 2017. Vol. 8(4). P. 353–359. PubMed PMID: 29326796.
3. Levels of supplementation of inorganic selenium and vitamin E for meat quail aged 0 to 14 and 14 to 35 days / V. Zancanela et al. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2018. Apr. Vol. 102(2). P. 918–930. Doi: <https://doi.org/10.1111/jpn.12857>.
4. Kowalczyk A.M., Klećkowska-Nawrot J., Łukaszewicz E.T. Effect of selenium and vitamin E addition to the extender on liquid stored capercaillie (*Tetrao urogallus*) semen quality. *Reprod Domest Anim.* 2017. Aug. Vol. 52(4). P. 603–609. Doi: <https://doi.org/10.1111/rda.12955>.
5. Biswas A., Mohan J., Mandal A.B., Lal N. Semen characteristics and biochemical composition of cloacal foam of male Japanese quails (*Coturnix coturnix Japonica*) fed diet incorporated with selenium. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2017. Apr. Vol. 101(2). P. 229–235. Doi: <https://doi.org/10.1111/jpn.12557>.
6. Anan Y., Ohbo A., Tani Y., Ogra Y. Metabolic pathway of inorganic and organic selenocompounds labeled with stable isotope in Japanese quail. *Anal Bioanal Chem.* 2014. Dec. Vol. 406(30). P. 7959–7966. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8260-3>.
7. Sahin N., Onderci M., Sahin K., Kucuk O. Supplementation with organic or inorganic selenium in heat-distressed quail. *Biol Trace Elem Res.* 2008. Jun. Vol. 122(3). P. 229–237. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-007-8075-6>.
8. The effect of cadmium in combination with zinc and selenium on ovarian structure in Japanese quails / P. Nad et al. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* 2007. Nov. Vol. 42(13). P. 2017–2022. PubMed PMID: 17990164.
9. Biswas A., Mohan J., Sastry K.V. Effect of higher levels of dietary selenium on production performance and immune responses in growing Japanese quail. *Br Poult Sci.* 2006. Aug. Vol. 47(4). P. 511–515. PubMed PMID: 16905478.
10. Welfare indicators for laying Japanese quails caged at different densities / D.F. Soares et al. *An Acad Bras Cienc.* 2018. Oct-Dec. Vol. 90(4). P. 3791–3797. Doi: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820180276>. PubMed PMID: 30517223.
11. Najdi S., Nikbakht Brujeni G., Sheikhi N., Chakhkar S. Development of anti-*Helicobacter pylori* immunoglobulins Y (IgYs) in quail. *Iran J Vet Res.* 2016. Spring. Vol. 17(2). P. 106–110. PubMed PMID: 27822235; PubMed Central PMCID: PMC5090139.
12. Effect of in ovo injection of threonine on immunoglobulin A gene expression in the intestine of Japanese quail at hatch / H. Kermanshahi et al. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2017. Feb. Vol. 101(1). P. 10–14. Doi: <https://doi.org/10.1111/jpn.12543>. Epub 2016 Jul 22. PubMed PMID: 27445232.
13. Maternally derived egg hormones, antibodies and antimicrobial proteins: common and different pathways of maternal effects in Japanese quail / M. Okuliarova et al. *PLoS One.* 2014. Nov. 12. Vol. 9(11): e 112817. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112817>. eCollection 2014. PubMed PMID: 25390303; PubMed Central PMCID: PMC4229250.
14. Use of egg yolk-derived immunoglobulin as an alternative to antibiotic treatment for control of *Helicobacter pylori* infection / J.H. Shin et al. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2015. Sep. Vol. 9(5). P. 1061–1066.
15. Surai P.F., Karadas F., Pappas A.C., Sparks N.H. Effect of organic selenium in quail diet on its accumulation in tissues and transfer to the progeny. *Br Poult Sci.* 2006. Feb. Vol. 47(1). P. 65–72. PubMed PMID: 16546799.

16. Surai P.F., Pappas A.C., Villaverde C., Sparks N.H. Effect of organic selenium in the maternal diet on selenium concentration in tissues of newly hatched quail. *Br Poult Sci.* 2004. Apr. Vol. 45 Suppl 1. P. 57–58. PubMed PMID: 15222375.

17. Jakhar K.K., Sadana J.R. Sequential pathology of experimental aflatoxicosis in quail and the effect of selenium supplementation in modifying the disease process. *Mycopathologia.* 2004. Jan. Vol. 157(1). P. 99–109. PubMed PMID: 15008352.

18. Телятніков А.В. Вплив наночасток металів на гематологічні показники і строки загоєння при закритих переломах кісток у собак. Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина. 2014. Вип. 6. С. 81–84. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_vet_2014_6_25

19. Гусев А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. 2-е изд., испр. Москва: Физматлит, 2009. 416 с.

20. Каплунов В.Г., Косинов Н.В. Функциональные наноматериалы для биологии и медицины. Тезисы докладов Третьей Всероссийской конф. по наноматериалам «Нано – 2009». Екатеринбург, 2009. С. 758–760.

21. Макаров А.И., Порядин Г. В., Салмаси Ж.М. Механизмы регуляции экспрессии поверхностных структур дифференцированного лимфоцита. *Иммунология.* 2017. Т. 3. С. 4–8.

22. Стахович В.И. Диагностическая значимость физико-химических показателей циркулирующих иммунных комплексов при острых и хронических интоксикациях ксенобиотиками. Современные проблемы токсикологии. 2006. №1. С. 67–69.

23. Фролов В.М. Циркулирующие иммунные комплексы и фагоцитарная активность моноцитов у больных хроническим бронхитом при проведении дифференцированной иммунокоррекции. *Український пульмонологічний журнал.* 2003. №3. С. 28–30.

24. Hassan S., Hassan F.U., Rehman M.S. Nano-particles of Trace Minerals in Poultry Nutrition: Potential Applications and Future Prospects. *Biol Trace Elem Res.* 2019. Aug. 31. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01862-9>.

25. Effects of selenium supplementation on the oxidative state of acute heat stress-exposed quails / A.P. Del Vesco et al. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2017. Feb. Vol. 101(1). P. 170–179. Doi: <https://doi.org/10.1111/jpn.12437>.

26. Sahin N., Sahin K., Onderci M. Vitamin E and selenium supplementation to alleviate cold-stress-associated deterioration in egg quality and egg yolk mineral concentrations of Japanese quails. *Biol Trace Elem Res.* 2003. Winter. Vol. 96(1–3). P. 179–189. PubMed PMID: 14716097.

27. Sahin K., Kucuk O. Effects of vitamin E and selenium on performance, digestibility of nutrients, and carcass characteristics of Japanese quails reared under heat stress (34 degrees C). *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2001. Dec. Vol. 85(11–12). P. 342–348. PubMed PMID: 11906558.

28. Sahin K., Sahin N., Yeralioglu S., Onderci M. Protective role of supplemental vitamin E and selenium on lipid peroxidation, vitamin E, vitamin A, and some mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress. *Biol Trace Elem Res.* 2002. Jan. Vol. 85(1). P. 59–70. PubMed PMID: 11881799.

29. Baylan M., Canogullari S., Ayasan T., Copur G. Effects of dietary selenium source, storage time, and temperature on the quality of quail eggs. *Biol Trace Elem*

Res. 2011. Nov. Vol. 143(2). P. 957–964. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8912-x>.

REFERENCES

1. Chinrasri, O., Chantiratikul, P., Maneetong, S., Chookhampaeng, S., Chantiratikul, A. (2013). Productivity and selenium concentrations in egg and tissue of laying quails fed selenium from hydroponically produced selenium-enriched kale sprout (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* L.). *Biol Trace Elem Res.* Dec. Vol. 155(3), pp. 381–386. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9824-3>.

2. Abedi, P., Tabatabaei, Vakili S., Mamouei, M., Aghaei, A. (2017). Effect of different levels of dietary vitamin E on reproductive and productive performances in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Vet Res Forum.* Vol. 8(4), pp. 353–359. PubMed PMID: 29326796.

3. Zancanela, V., Furlan, A.C., Pozza, P.C., Marcato, S.M., Grieser, D.O., Stanquevis, C.E., Finco, E.M., Oliveira-Bruxel, T.M., Ferreira, M.F.Z. (2018). Levels of supplementation of inorganic selenium and vitamin E for meat quail aged 0 to 14 and 14 to 35 days. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* Apr. Vol. 102(2), pp. 918–930. Available at: <https://doi.org/10.1111/jpn.12857>.

4. Kowalczyk, A.M., Klećkowska-Nawrot, J., Łukaszewicz, E.T. (2017). Effect of selenium and vitamin E addition to the extender on liquid stored capercaillie (*Tetrao urogallus*) semen quality. *Reprod Domest Anim.* Aug. Vol. 52(4), pp. 603–609. Available at: <https://doi.org/10.1111/rda.12955>.

5. Biswas, A., Mohan, J., Mandal, A.B., Lal, N. (2017). Semen characteristics and biochemical composition of cloacal foam of male Japanese quails (*Coturnix coturnix Japonica*) fed diet incorporated with selenium. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* Apr. Vol. 101(2), pp. 229–235. Available at: <https://doi.org/10.1111/jpn.12557>.

6. Anan, Y., Ohbo, A., Tani, Y., Ogra, Y. (2014). Metabolic pathway of inorganic and organic selenocompounds labeled with stable isotope in Japanese quail. *Anal Bioanal Chem.* Dec. Vol. 406(30), pp. 7959–7966. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8260-3>.

7. Sahin, N., Onderci, M., Sahin, K., Kucuk, O. (2008). Supplementation with organic or inorganic selenium in heat-distressed quail. *Biol Trace Elem Res.* Jun. Vol. 122(3), pp. 229–237. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12011-007-8075-6>.

8. Nad, P., Massanyi, P., Skalicka, M., Korenekova, B., Cigankova, V., Almasiova, V. (2007). The effect of cadmium in combination with zinc and selenium on ovarian structure in Japanese quails. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng.* Nov. Vol. 42(13), pp. 2017–2022. PubMed PMID: 17990164.

9. Biswas, A., Mohan, J., Sastry, K.V. (2006). Effect of higher levels of dietary selenium on production performance and immune responses in growing Japanese quail. *Br Poult Sci.* Aug. Vol. 47(4), pp. 511–515. PubMed PMID: 16905478.

10. Soares, D.F., Pizzolante, C.C., Duarte, K.M.R., Moraes, J.E., Budiño, F.E.L., Soares, W.V.B., Kakimoto, S.K. (2018). Welfare indicators for laying Japanese quails caged at different densities. *An Acad Bras Cienc.* Oct-Dec. Vol. 90(4), pp. 3791–3797. Available at: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820180276>. PubMed PMID: 30517223.

11. Najdi, S., Nikbakht, Brujeni G., Sheikhi, N., Chakhkar, S. (2016). Development of anti-Helicobacter

pylori immunoglobulins Y (IgYs) in quail. Iran J Vet Res. Spring. Vol. 17(2), pp. 106–110. PubMed PMID: 27822235; PubMed Central PMCID: PMC5090139.

12. Kermanshahi, H., Ghofrani, Tabari D., Khodam-bashi, Emami N., Daneshmand, A., Ibrahim, S.A. (2017). Effect of in ovo injection of threonine on immunoglobulin A gene expression in the intestine of Japanese quail at hatch. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). Feb. Vol. 101(1), pp. 10–14. Available at: <https://doi.org/10.1111/jpn.12543>. Epub 2016 Jul 22. PubMed PMID: 27445232.

13. Okuliarova, M., Kankova, Z., Bertin, A., Leterrier, C., Mostl, E., Zeman, M. (2014). Maternally derived egg hormones, antibodies and antimicrobial proteins: common and different pathways of maternal effects in Japanese quail. PLoS One. Nov. 12. Vol. 9(11), pp. 112817. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112817>. eCollection 2014. PubMed PMID: 25390303; PubMed Central PMCID: PMC4229250.

14. Shin, J.H., Yang, M., Nam, S.W., Kim, J.T., Myung, N.H., Bang, W.G., Roe, I.H. (2015). Use of egg yolk-derived immunoglobulin as an alternative to antibiotic treatment for control of Helicobacter pylori infection. Clin Diagn Lab Immunol. Sep. Vol. 9(5), pp. 1061–1066.

15. Surai, P.F., Karadas, F., Pappas, A.C., Sparks, N.H. (2006). Effect of organic selenium in quail diet on its accumulation in tissues and transfer to the progeny. Br Poult Sci. Feb. Vol. 47(1), pp. 65–72. PubMed PMID: 16546799.

16. Karadas, F., Surai, P.F., Pappas, A.C., Villaverde, C., Sparks, N.H. (2004). Effect of organic selenium in the maternal diet on selenium concentration in tissues of newly hatched quail. Br Poult Sci. Apr. Vol. 45 Suppl 1, pp. 57–58. PubMed PMID: 15222375.

17. Jakhar, K.K., Sadana, J.R. (2004). Sequential pathology of experimental aflatoxicosis in quail and the effect of selenium supplementation in modifying the disease process. Mycopathologia. Jan. Vol. 157(1), pp. 99–109. PubMed PMID: 15008352.

18. Telyatnikov, A.V. (2014). Vplyv nanochastok metaliv na hematologichni pokaznyky i stroky zagojennja pry zakrytyh perelomah kistok u sobak [Influence of metal nanoparticles on hematological indices and terms of healing in closed bone fractures in dogs]. Visnyk Sums'kogo nacional'nogo agrarnogo universytetu [Bulletin of Sumy National Agrarian University]. Series: Veterinary Medicine. Issue 6, pp. 81–84. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_vet_2014_6_25

19. Gusev, A.I. (2009). Nanomaterialy, nanostruktury, nanotehnologii [Nanomaterials, nanostructures, nanotechnologies]. 2-e izd., ispr. [2-edition revised]. Moscow: Fizmatlit, 416 p.

20. Kaplunenko, V.G., Kosinov, N.V. (2009). Funkcional'nye nanomaterialy dlja biologii i medicyny [Functional nanomaterials for biology and medicine]. Tezisy dokladov Tret'ej Vserossijskoj konf. po nanomaterialam «Nano – 2009» [Abstracts of the reports of the Third All-Russian Conf. on nanomaterials "Nano - 2009"]. Ekaterinburg, pp. 758–760.

21. Makarkov, A.I., Poryadin, G.V., Salmasi, Zh.M. (2017). Mekhanizmy reguljaczii e'kspresii poverkhnostny'kh struktur differencirovannogo limfocyta [Mechanisms of regulation of expression of surface structures of differentiated lymphocyte]. Immunologiya [Immunology]. Vol. 3, pp. 4–8.

22. Stakhovich, V.I. (2006). Diagnosticheskaya znachimost' fiziko-khimicheskikh pokazatelej czirkuliruyushhikh immunny'kh kompleksov pri ostr'y'kh i khronicheskikh intoksikaciyakh ksenobiotikami [Diagnostic significance of physico-chemical parameters of circulating immune complexes in acute and chronic xenobiotic intoxications]. Sovremenny'e problemy' toksikologii [Current problems of toxicology]. no.1, pp. 67–69.

23. Frolov, V.M. (2003). Czirkuliruyushhie immunny'e komplekсы i fagocytarnaya aktivnost' monocytov u bol'ny'kh khronicheskimi bronkhitom pri provedenii differencirovannoj immunokorrekcii [Circulating immune complexes and phagocytic activity of monocytes in patients with chronic bronchitis during differential immunocorrection]. Ukrayins'kij pul'monologichnij zhurnal [Ukrainian Pulmonary Journal]. no. 3, pp. 28–30.

24. Hassan, S., Hassan, F.U., Rehman, M.S. (2019). Nano-particles of Trace Minerals in Poultry Nutrition: Potential Applications and Future Prospects. Biol Trace Elem Res. Aug. 31. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01862-9>.

25. Del, Vesco A.P., Gasparino, E., Zancanela, V., Grieser, D.O., Stanquevis, C.E., Pozza, P.C., Oliveira, Neto A.R. (2017). Effects of selenium supplementation on the oxidative state of acute heat stress-exposed quails. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). Feb. Vol. 101(1), pp. 170–179. Available at: <https://doi.org/10.1111/jpn.12437>.

26. Sahin, N., Sahin, K., Onderci, M. (2003). Vitamin E and selenium supplementation to alleviate cold-stress-associated deterioration in egg quality and egg yolk mineral concentrations of Japanese quails. Biol Trace Elem Res. Winter. Vol. 96(1-3), pp. 179–189. PubMed PMID: 14716097.

27. Sahin, K., Kucuk, O. (2001). Effects of vitamin E and selenium on performance, digestibility of nutrients, and carcass characteristics of Japanese quails reared under heat stress (34 degrees C). J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). Dec. Vol. 85(11–12), pp. 342–348. PubMed PMID: 11906558.

28. Sahin, K., Sahin, N., Yaralioglu, S., Onderci, M. (2002). Protective role of supplemental vitamin E and selenium on lipid peroxidation, vitamin E, vitamin A, and some mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress. Biol Trace Elem Res. Jan. Vol. 85(1), pp. 59–70. PubMed PMID: 11881799.

29. Baylan, M., Canogullari, S., Ayasan, T., Copur, G. (2011). Effects of dietary selenium source, storage time, and temperature on the quality of quail eggs. Biol Trace Elem Res. Nov. Vol. 143(2), pp. 957–964. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8912-x>.

Влияние комплекса наноаквахелатив селена и германия на гуморальный иммунитет в организме перепелов

Емельяненко А.А., Шмаюн С.С., Нищенко М.П., Емельяненко А.В., Порошинская А.А., Стовецкая Л.С., Козий В.И.

Приведены результаты исследований влияния комплекса наноаквахелатов селена и германия на содержание иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов в организме перепелов. Установлено, что уровень иммуноглобулинов является основным показателем состояния гуморального иммунитета.

По результатам исследований установлено, что в односуточных перепелов содержание классов иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови составляло $0,80 \pm 0,03$; $0,30 \pm 0,01$ и $5,82 \pm 0,06$ мг/мл, что соответственно на 31,1, 20,0 и 6,0 % больше по сравнению с контрольной группой.

При этом в сыворотке крови перепелов пятисуточного возраста содержание IgA составило $0,84 \pm 0,02$ мг/мл, IgM – $0,54 \pm 0,03$ мг/мл и IgG – $6,87 \pm 0,04$ мг/мл, что больше соответственно на 29,2, 42,1 и 5,0 % по сравнению с контрольной группой.

Во время исследования сыворотки крови перепелов на содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) отмечено, что в 1- и 5-суточном возрасте в опытных группах содержание среднемолекулярных ЦИК было достоверно меньшим по сравнению с контролем, соответственно в 1,5 и 1,6 раза. Содержание низкомолекулярных ЦИК в сыворотке крови перепелов как в односуточном возрасте, так и через четверо суток достоверно уменьшилось по сравнению с контрольной группой, соответственно в 2 и 1,1 раза. Это, вероятно, характеризует общую эффективность и сбалансированность реакций иммунной системы при воздействии наноаквахелатов селена и германия в использованных дозах, соответственно 0,05 и 5,0 мкг/кг, которые проявляют положительное влияние на иммунитет перепелов в раннем постэмбриональном периоде.

Таким образом, применение комплекса наноаквахелатов селена и германия имеет взаимодополняющее действие и способствует увеличению иммунореактивности молодняка путем поддержания активности иммунной системы.

Ключевые слова: наноаквахелат селена, наноаквахелат германия, перепелки, иммуноглобулины, иммунитет.

The influence of the Selenium and Germanium on humoral immunity content in quails

Yemelyanenko A., Shmayun S., Nishmenenko M., Yemelyanenko O., Poroshinska O., Stovbetska L., Koziy V.

The results of the studies on the influence of Selenium and Germanium nanoacqualates complex on the content of immunoglobulins and circulating immune complexes in quail's are presented in the article. It was found that the level of immunoglobulins is the main indicator of the state of humoral immunity.

According to the results of the studies the content of immunoglobulins A, M, G in the quail's serum was 0.80 ± 0.03 mg/ml, 0.30 ± 0.01 mg/ml, and 5.82 ± 0.06 mg/ml, accordingly. That are 31.1%, 20.0% and 6.0%, respectively, comparing with data of the control group.

In the serum of five days old quail's Ig A content was 0.84 ± 0.02 mg/ml, Ig M 0.54 ± 0.03 mg/ml and Ig G 6.87 ± 0.04 mg/ml, that consisted 29.2%, 42.1% and 5.0%, respectively, comparing with the control group.

The content of circulating immune complexes (CEC) in the blood serum of one- and five-days old quails was 1.5 and 1.6 times, respectively lower than in the birds of the control group. The content of low molecular weight CECs in the serum of one- and five-days old quail, decreased significantly in both groups (in 2 and 1.1 times, respectively). This probably characterizes the overall efficacy and balance of the immune system's responses in quails exposed to Selenium and Germanium nanoacqualates at used doses of 0.05 µg/kg and 5.0 µg/kg, respectively. We consider that as a positive effect on the immunity of quails in the early post-embryonic period.

Therefore, the use of Selenium and Germanium nanoacqualates complex has a complementary effect and helps to increase the immunoreactivity of young animals by maintaining the activity of the immune system.

Key words: Selenium nanoacqualate, Germanium nanoacqualate, quails, immunoglobulins, immunity.



Copyright: © Yemelyanenko A. et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Ніщенко М.П.
Козій В.І.

ID <https://orcid.org/0000-0003-3172-4768>
ID <https://orcid.org/0000-0002-8221-6678>

ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК 636.2.09:616.8: 615.9:612.015.1

**Корекція вмісту Натрію та Калію у крові корів
кормовою добавкою Гермацинк із урахуванням
типологічних особливостей нервової системи****Журенко О.В.***Національний університет біоресурсів і природокористування України*

✉ E-mail: Zhurenko-lena@ukr.net



Журенко О.В. Корекція вмісту Натрію та Калію у крові корів кормовою добавкою Гермацинк із урахуванням типологічних особливостей нервової системи. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 96–102.

Zhurenko O.V. Korekcija vmistu Natriju ta Kaliju u krvi koriv kormovoju dobavkoju Germacynk iz urahuvannjam typologichnyh osoblyvostej nervovoi' systemy. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 96–102.

Рукопис отримано: 26.12.2019р.

Прийнято: 16.01.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-96-102

У цільній крові, клітинах та сироватці крові визначали вміст Натрію, Калію. Розраховували показник трансмембранного потенціалу. Доведено ефективність корекції вмісту окремих макроелементів у крові корів з різним типом вищої нервової діяльності та вегетативним статусом за застосування кормової добавки Гермацинк. Через 10 діб після початку задавання нанопрепарату вміст Натрію в клітинах крові корів сильного неврівноваженого (далі СН) та слабого типів вищої нервової діяльності (далі ВНД) знижується лише на 8,7 % ($p < 0,05$) та 15,1 % ($p < 0,05$) порівняно до показників корів з сильним врівноваженим рухливим (далі СВР) типом ВНД. Вміст Натрію в клітинах крові через 30 діб після початку досліджень у корів СН та слабого типів ВНД достовірно не відрізняється від показників корів СВР типу. Однак, через 45 діб після задавання кормової добавки Гермацинк у клітинах крові корів слабого типу ВНД вміст цього металу знову достовірно збільшується на 9,2 % ($p < 0,05$) від показника корів СВР типу ВНД. У корів зі слабким типом вищої нервової діяльності вміст Калію в сироватці крові протягом 10 діб після початку задавання нанопрепарату збільшується на 16,0 % ($p < 0,05$). За впливу кормової добавки Гермацинк в клітинах крові корів-симпатикотоніків нормалізується співвідношення вмісту Натрію до Калію. Слід відмітити, що задавання кормової добавки Гермацинк тваринам із СВР, СВІ (сильним врівноваженим інертним) та СН типами ВНД достовірно не впливає на показник трансмембранного потенціалу за Калієм. Тоді як значення цього показника у корів зі слабким типом ВНД протягом 45 діб досліджень зменшується на 20,9 % ($p < 0,001$). У корів з різними типами ВНД співвідношення одно- до двовалентних іонів протягом всього періоду досліджень зменшується в межах тенденції на 3,8–5,2 %.

Таким чином, проведені дослідження вказують, що задавання кормової добавки Гермацинк коровам з різними типами ВНД має коригуючий вплив на вміст Натрію та Калію у крові тварин.

Ключові слова: вища нервова діяльність, корови, макроелементи, кормова добавка, клітини крові.

Постановка проблеми. Мінеральні речовини входять до складу всіх клітин і тканин організму, гормонів та ферментів [6]. Вони потрібні для нормальної діяльності серцево-судинної, нервової, м'язової та інших систем, беруть участь у синтезі важливих сполук, обмінних процесах, кровотворенні, травленні, нейтралізації шкідливих для організму продуктів обміну, в побудові тканин організму та забезпечують сталість внутрішнього середовища [8].

Головною проблемою в галузі тваринництва залишається підвищення продуктивності тварин [10]. Переваги застосування кормової добавки Гермацинк полягають у тому, що цитрати металів отримані за допомогою ерозійновибухової нанотехнології проявляють стимулювальний ефект більш виражено, ніж їхні молекулярні форми. Як комплексоутворювач виступають наночастки із поверхневим електричним зарядом зі знаком «мінус», а в ролі лігандів – мо-

лекули води або інших хімічних елементів. За структурною будовою наночастки подібні до аніонного хелатного комплексу через наявність поверхневого електричного заряду зі знаком «мінус», але при цьому виключаються токсичні прояви через відсутність аніона. Основою розв'язання цієї проблеми є підтримання оптимального рівня обміну речовин, зокрема мінерального. Однак і дотепер обсяг інформації щодо корекції вмісту окремих макроелементів у крові корів із урахуванням типологічних особливостей нервової системи обмежений поодинокими дослідженнями.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Незважаючи на те, що мінеральні речовини не мають енергетичної цінності, як білки, жири і вуглеводи, багато ферментативних процесів в організмі неможливі без участі тих або інших елементів [2]. Відомо, що вміст макроелементів в організмі тварин сталий, вони входять до складу органічних сполук, є структурними компонентами кісток та у значній кількості містяться в рідинах живого організму [7]. Макроелементи відіграють ключову роль у підтриманні кислотно-основного балансу, осмотичного тиску, мембранного потенціалу та передачі нервових збуджень. Проведеними дослідженнями встановлено достовірний вплив основних характеристик коркових процесів на вміст макроелементів у крові корів [1]. Вміст макроелементів в організмі достатньо сталий, навіть відносно великі відхилення від норми сумісні з життєдіяльністю організму. Основний процес всмоктування макро- і мікроелементів відбувається у верхньому відділі тонкого кишковика, а саме у дванадцятипалій кишці [9]. Регуляція здійснюється за допомогою центральної і вегетативної нервової системи, ендокринної системи. Калій є основним внутрішньоклітинним катіоном [8]. Формує трансмембранний потенціал ($K_{in} > K_{out}$) і поширює його зміну по клітинній мембрані шляхом обміну з іонами Натрію по градієнту концентрацій [11]. Натрій виконує "позаклітинні" функції: формування потенціалу дії шляхом обміну з іонами Калію; транспорт вуглекислого газу; гідратація білків; солюбілізація (утворення розчинних у воді) органічних кислот. Регуляція осмотичного тиску і водного обміну, за порушення яких розвиваються спрага, сухість слизових оболонок, набряклість шкіри. Натрій значно впливає і на білковий обмін [4]. У середині клітин Натрій необхідний для підтримки нейром'язової збудливості і роботи $Na^+ - K^+$ -насоса, що забезпечують регуляцію клітинного обміну різних метаболітів. Від Натрію залежить транспорт амінокислот, вуглеводів, неорганічних та органічних аніонів через мембрани клітин [5].

Таким чином, дослідження індивідуальних особливостей щодо вмісту макро- та мікроелементів у крові корів дозволить краще зрозуміти центральні регуляторні механізми їх обміну та створить передумови для індивідуального підходу в балансуванні раціонів корів за рівнем мінеральних речовин.

Мета дослідження – корекція вмісту Натрію та Калію кормовою добавкою Гермацинк у крові корів із урахуванням типологічних особливостей нервової системи.

Матеріал і методи дослідження. Досліди проводили на коровах української чорно-рябій породи 2–3-ї лактації. Типи ВНД визначали за методикою харчових умовних рефлексів Г. В. Паршутіна та Т. В. Іполітової. За результатами дослідження умовно-рефлекторної діяльності було сформовано 4 дослідні групи. У першу групу входили тварини сильного врівноваженого рухливого, у другу – сильного врівноваженого інертного, у третю – сильного неуврівноваженого, у четверту – слабого типів вищої нервової діяльності. У першому досліді визначали ефективність кормової добавки Гермацинк за корекції обміну мінеральних речовин у корів з різними типами вищої нервової діяльності. Дослід проведено на двох групах корів (контрольна і дослідна) відповідно по 20 тварин у кожній, із яких по п'ять тварин кожного типу ВНД (СВР, СВІ, СН та слабого). Коровам дослідної групи протягом десяти діб випоювали кормову добавку «Гермацинк» в дозі 10 мл/добу ТУУ 10.9-00493706-001:2019. Відповідно тварини отримували Магнію (500 мг/добу), Цинку (50 мг/добу), Германію та Церію (по 0,01 мг/добу). При цьому раціон та режим доїння не змінювали. Тваринам контрольної групи кормову добавку не задавали. Матеріалом для досліджень слугували відібрані зразки крові корів із яремної вени (від 5 особин з кожної групи) до задавання кормової добавки та через 10, 30 та 45 діб після початку досліджень. У цільній крові, клітинах та сироватці крові визначали вміст Натрію, Калію [3].

Результати дослідження. Проведеними дослідженнями встановлено, щодо випоювання кормової добавки Гермацинк у тварин з різними типами ВНД вміст Натрію в сироватці крові достовірно не відрізнявся (табл. 1). Після задавання кормової добавки Гермацинк у корів з різними типами ВНД вміст Натрію протягом усього періоду досліджень достовірно не змінюється. Слід лише відмітити менший вміст Натрію в сироватці крові корів СН типу ВНД на 2,7 % ($p < 0,05$) через 10 діб після початку задавання нанопрепарату, порівняно до показників корів з СВР типом ВНД на цьому етапі досліджень.

Таблиця 1 – Вміст Натрію в крові корів з різними типами вищої нервової діяльності за впливу кормової добавки Гермацинк (г/л; $M \pm m$, $n=4$)

Період досліджень	Тип нервової системи			
	СВР	СВІ	СН	С
Сироватка крові				
До задавання	3,25±0,03	3,24±0,03	3,18±0,04	3,25±0,01
Через 10 діб	3,27±0,02	3,24±0,03	3,19±0,03*	3,23±0,02
Через 30 діб	3,27±0,03	3,25±0,04	3,2±0,03	3,23±0,01
Через 45 діб	3,24±0,02	3,23±0,02	3,2±0,03	3,25±0,02
Клітини крові				
До задавання	0,41±0,02	0,44±0,04	0,48±0,02*	0,49±0,01*
Через 10 діб	0,43±0,01	0,45±0,03	0,47±0,01*	0,50±0,01**
Через 30 діб	0,44±0,01	0,46±0,03	0,45±0,01	0,47±0,02
Через 45 діб	0,44±0,01	0,47±0,02	0,45±0,01	0,48±0,02*

Примітка: достовірна різниця з сильним врівноваженим рухливим типом вищої нервової діяльності: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

До задавання кормової добавки Гермацинк у тварин із СВР та СВІ типами ВНД вміст Натрію в клітинах крові достовірно не відрізнявся, тоді як у корів з СН та слабким типами ВНД був відповідно на 15,2 % ($p < 0,05$) та 18,2 % ($p < 0,05$) більшим від такого у корів СВР типів. У тварин СВР та СН типу ВНД після задавання кормової добавки Гермацинк відмічено лише тенденцію щодо підвищення вмісту Натрію в клітинах крові, тоді як у корів СН та слабого типів ВНД у клітинах крові вміст Натрію протягом усього періоду досліджень дещо зменшується.

Проведеними дослідженнями встановлено, що до задавання кормової добавки Гермацинк у тварин із сильними типами ВНД вміст Калію в сироватці крові достовірно не відрізнявся (табл. 2).

На відміну від цього, у корів слабого типу ВНД вміст Калію в сироватці та клітинах крові був відповідно на 30,3 % ($p < 0,05$) та 17,8 % ($p < 0,01$) менше від такого у корів СВР типу. Слід відмітити, що після задавання кормової добавки Гермацинк у корів із сильними типами ВНД (СВР, СВІ та СН) вміст Калію протягом усього періоду досліджень достовірно не змінюється, хоча прослідковується тенденція щодо його підвищення в сироватці крові в межах 2–13 %.

Проведеними дослідженнями встановлено, що до задавання кормової добавки Гермацинк у тварин із сильними типами ВНД відношення вмісту Натрію до Калію в крові достовірно не відрізнялося (табл. 3).

Таблиця 2 – Вміст Калію в крові корів з різними типами вищої нервової діяльності за впливу кормової добавки Гермацинк (г/л; $M \pm m$, $n=4$)

Період досліджень	Тип нервової системи			
	СВР	СВІ	СН	С
Сироватка крові, мг/100 мл				
До задавання	21,93±1,99	21,88±3,13	23,95±2,68	15,28±0,96*
Через 10 діб	23,48±1,98	21,5±2,87	24,1±3,24	17,73±0,55*
Через 30 діб	24,75±1,53	23,33±1,6	23,93±3,63	19,18±1,01*
Через 45 діб	24,23±1,47	24,65±2,58	24,3±3,17	20,48±1,48
Клітини крові, мг/100 мл				
До задавання	368,61±11,65	370,18±13,85	352,99±9,32	303±10,88**
Через 10 діб	369,09±12,69	369,33±14,59	353,36±9,92	313,5±8,84**
Через 30 діб	361,86±14,4	365,98±12,78	354,39±9,96	321,55±9,1
Через 45 діб	362,16±14,0	366,51±11,61	356,5±8,75	322,18±9,52*
Трансмембранний потенціал, ум. од.				
До задавання	17,19±1,46	17,95±2,4	15,28±1,65	20,12±1,74
Через 10 діб	16,04±1,32	17,95±1,94	15,5±2,13	17,71±0,5
Через 30 діб	14,8±1,12	15,81±0,61	15,96±2,61	16,86±0,65
Через 45 діб	15,05±0,7	15,25±1,23	15,39±1,87	15,91±0,88

Примітка: достовірна різниця із сильним врівноваженим рухливим типом вищої нервової діяльності: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Таблиця 3 – Відношення вмісту Натрію до Калію в крові корів з різними типами вищої нервової діяльності за впливу кормової добавки Гермацинк (ум. од.; $M \pm m$, $n=4$)

Період досліджень	Тип нервової системи			
	СВР	СВІ	СН	С
Сироватка крові				
До задавання	15,25 $\pm$ 1,52	16,02 $\pm$ 2,85	13,78 $\pm$ 1,55	21,50 $\pm$ 1,39*
Через 10 діб	14,27 $\pm$ 1,42	15,93 $\pm$ 2,22	13,94 $\pm$ 1,94	18,26 $\pm$ 0,55*
Через 30 діб	13,39 $\pm$ 0,88	14,14 $\pm$ 0,96	14,37 $\pm$ 2,30	16,99 $\pm$ 0,93*
Через 45 діб	13,55 $\pm$ 0,89	13,60 $\pm$ 1,60	13,81 $\pm$ 1,68	16,10 $\pm$ 1,09
Клітини крові				
До задавання	0,11 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,01***
Через 10 діб	0,12 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,01**
Через 30 діб	0,12 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01*
Через 45 діб	0,12 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01**

Примітка: достовірна різниця із сильним врівноваженим рухливим типом вищої нервової діяльності: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Тоді як у корів слабого типу ВНД відношення вмісту Натрію до Калію у сироватці та клітинах крові було відповідно на 41,0 % ($p < 0,05$) та 43,7 % ($p < 0,001$) більше від такого у корів СВР типу. Слід відмітити, що після задавання кормової добавки Гермацинк у корів із сильними типами ВНД відношення вмісту Натрію до Калію протягом усього періоду досліджень достовірно не змінюється. Протягом 45 діб досліджень встановлено лише тенденцію щодо підвищення значення цього показника в сироватці крові корів СВР, СВІ та СН типів ВНД відповідно на 11,2; 15,1 та 0,2 %.

У корів зі слабким типом ВНД відношення вмісту Натрію до Калію в сироватці крові протягом 45 діб після початку задавання нанопрепарату хоч і зменшується лише на 8,9 %, однак достовірно не відрізняється від показників корів з СВР типом ВНД на цьому етапі досліджень.

У тварин слабого типу ВНД після задавання кормової добавки Гермацинк відмічено

лише тенденцію щодо зменшення показника відношення вмісту Натрію до Калію в клітинах крові. Так, протягом 45 діб досліджень відношення вмісту Натрію до Калію в клітинах крові цих тварин зменшується на 8,9 %, тоді як у корів СВР та СВІ типів ВНД відношення вмісту Натрію до Калію протягом цього періоду досліджень дещо збільшується (на 7,4–8,2 %). Слід відмітити, що через 10, 30 та 45 діб, після початку задавання нанопрепарату, відношення вмісту Натрію до Калію в клітинах крові корів слабого типу ВНД менше відповідно на 35,3 % ($p < 0,01$), 18,2 % ($p < 0,05$) та 22,0 % ($p < 0,01$), порівняно до показників корів із СВР типом ВНД.

Після задавання кормової добавки Гермацинк у корів з різними типами ВНД відношення одно- до двовалентних іонів протягом усього періоду досліджень зменшується у межах тенденції на 3,8–5,2 % (табл. 4). Слід відмітити, що попри достовірні різниці, уже через 30 діб експерименту у корів зі слабким типом

Таблиця 4 – Співвідношення одно- до двовалентних іонів у крові корів з різними типами вищої нервової діяльності за впливу кормової добавки Гермацинк (ум. од.; $M \pm m$, $n=4$)

Період досліджень	Тип нервової системи			
	СВР	СВІ	СН	С
Сироватка крові				
До задавання	32,06 $\pm$ 0,69	32,41 $\pm$ 0,60	32,24 $\pm$ 0,80	34,63 $\pm$ 0,56*
Через 10 діб	31,05 $\pm$ 0,73	31,83 $\pm$ 0,55	31,68 $\pm$ 0,69	34,09 $\pm$ 0,78*
Через 30 діб	30,13 $\pm$ 0,86	30,63 $\pm$ 0,64	30,40 $\pm$ 0,48	32,14 $\pm$ 0,43
Через 45 діб	30,84 $\pm$ 0,48	30,73 $\pm$ 1,19	30,70 $\pm$ 0,35	33,22 $\pm$ 0,35**
Клітини крові				
До задавання	52,41 $\pm$ 2,09	53,58 $\pm$ 1,71	54,52 $\pm$ 0,98	49,53 $\pm$ 1,06
Через 10 діб	50,47 $\pm$ 2,28	52,05 $\pm$ 1,50	52,75 $\pm$ 0,43	51,22 $\pm$ 1,50
Через 30 діб	48,33 $\pm$ 0,89	50,57 $\pm$ 0,98	49,5 $\pm$ 1,11	46,79 $\pm$ 0,99
Через 45 діб	50,68 $\pm$ 2,70	52,14 $\pm$ 2,12	53,05 $\pm$ 0,86	56,15 $\pm$ 3,98

Примітка: достовірна різниця із сильним врівноваженим рухливим типом вищої нервової діяльності: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

ВНД відношення одно- до двовалентних іонів в сироватці крові достовірно не відрізняється від показників корів з СВР типом ВНД на цьому етапі досліджень. Однак уже через 45 діб знову збільшується на 7,7 % ($p < 0,01$) від такого у корів СВР типу. Задавання кормової добавки, незалежно від типологічних характеристик нервової системи корів, достовірно не впливає на показник відношення одно- до двовалентних іонів в клітинах крові корів СВР та СВІ типів ВНД.

Слід відмітити зменшення даного показника з 10-ї до 30-ї доби експерименту у корів з СН типом ВНД на 7,2 % ($p < 0,05$). Тоді як у тварин слабого типу ВНД показник відношення одно- до двовалентних іонів в клітинах крові з 10-ї до 30-ї доби збільшується на 20 % ($p < 0,001$), а з 30-ї до 45-ї доби експерименту зменшується відповідно на 10,8 % ($p < 0,01$). Однак, достовірних різниць по цьому показнику із таким у корів з СВР типом ВНД встановлено не було.

Обговорення. Слід відмітити, що через 10 діб після початку задавання нанопрепарату вміст Натрію в клітинах крові корів СН та слабого типів ВНД знижується на 8,7 % ($p < 0,05$) та 15,1 % ($p < 0,05$), порівняно до показників корів з СВР типом ВНД. Доведено, що через 30 діб після початку досліджень вміст Натрію в клітинах крові корів СН та слабого типів ВНД достовірно не відрізняється від показників корів СВР типу. Однак, через 45 діб після задавання кормової добавки Гермацинк у клітинах крові корів слабого типу ВНД вміст цього металу знову достовірно збільшується на 9,2 % ($p < 0,05$) від показника корів СВР типу ВНД.

У корів зі слабким типом ВНД вміст Калію в сироватці крові протягом 10 діб після початку задавання нанопрепарату збільшується на 16,0 % ($p < 0,05$), це на 24,5 % ($p < 0,01$) менше порівняно до показників корів з СВР типом ВНД на цьому етапі досліджень. Протягом наступних 20 діб вміст цього металу в сироватці крові даних тварин зростає ще на 6,8 %. Загалом, протягом 45 діб після початку досліджень вміст Натрію в сироватці крові корів зі слабким типом ВНД збільшується на 34,0 %, внаслідок чого перестає достовірно відрізнятися від такого у корів з СВР типом ВНД.

У тварин слабого типу ВНД після задавання кормової добавки Гермацинк відмічено лише тенденцію щодо підвищення вмісту Калію в клітинах крові, так протягом 45 діб досліджень вміст Калію в клітинах крові цих тварин збільшується лише на 6,3 %, тоді як у корів СВР та СВІ типів ВНД вміст Калію протягом цього періоду досліджень дещо зменшується. Слід відмітити, що уже через 10 діб після

початку задавання нанопрепарату вміст Калію в клітинах крові корів слабого типу ВНД зменшується на 15,1 % ($p < 0,01$), порівняно до показників корів із СВР типом ВНД. Через 30 діб після початку досліджень вміст Калію в клітинах крові корів слабого типу ВНД достовірно не відрізняється від показників корів СВР типу. Однак, через 45 діб після задавання кормової добавки Гермацинк у клітинах крові корів слабого типу ВНД вміст цього металу достовірно зменшується на 11,02 % ($p < 0,05$) від показника корів СВР типу ВНД.

Показник трансмембранного потенціалу за Калієм у корів з різними типами ВНД достовірно не різниться протягом усього періоду досліджень. Слід відмітити, що задавання кормової добавки Гермацинк тваринам із СВР, СВІ та СН типами ВНД достовірно не впливає на показник трансмембранного потенціалу за Калієм. Тоді як значення цього показника у корів зі слабким типом ВНД протягом 45 діб досліджень зменшується на 20,9 % ($p < 0,001$).

У тварин слабого типу ВНД після задавання кормової добавки Гермацинк відмічено лише тенденцію щодо зменшення показника відношення вмісту Натрію до Калію в клітинах крові. Так, протягом 45 діб досліджень відношення вмісту Натрію до Калію в клітинах крові цих тварин зменшується на 8,9 %, тоді як у корів СВР та СВІ типів ВНД відношення вмісту Натрію до Калію протягом цього періоду досліджень дещо збільшується (на 7,4–8,2 %). Слід відмітити, що через 10, 30 та 45 діб, після початку задавання нанопрепарату, відношення вмісту Натрію до Калію в клітинах крові корів слабого типу ВНД менше відповідно на 35,3 % ($p < 0,01$), 18,2 % ($p < 0,05$) та 22,0 % ($p < 0,01$), порівняно до показників корів з СВР типом ВНД.

Після задавання кормової добавки Гермацинк у корів з різними типами ВНД відношення одно- до двовалентних іонів протягом усього періоду досліджень зменшується у межах тенденції на 3,8–5,2 %. Слід відмітити, що попри достовірні різниці, уже через 30 діб експерименту у корів зі слабким типом ВНД відношення одно- до двовалентних іонів в сироватці крові достовірно не відрізняється від показників корів із СВР типом ВНД на цьому етапі досліджень. Однак через 45 діб знову збільшується на 7,7 % ($p < 0,01$) від такого у корів СВР типу. Задавання кормової добавки, незалежно від типологічних характеристик нервової системи корів, достовірно не впливає на показник відношення одно- до двовалентних іонів в клітинах крові корів СВР та СВІ типів ВНД. Слід відмітити зменшення даного показника з 10-ї до 30-ї доби експерименту у корів з СН типом

ВНД на 7,2 % ($p < 0,05$). Тоді як у тварин слабого типу ВНД показник відношення одно- до двовалентних іонів в клітинах крові з 10-ї до 30-ї доби збільшується на 20 % ($p < 0,001$), а з 30-ї до 45-ї доби експерименту зменшується відповідно на 10,8 % ($p < 0,01$). Однак, достовірних різниць по цьому показнику із таким у корів з СВР типом ВНД встановлено не було.

Таким чином, проведені дослідження вказують, що застосування кормової добавки Гермацинк коровам з різними типами ВНД має коригуючий вплив на вміст окремих макроелементів у крові тварин.

Висновки. Доведено ефективність корекції вмісту окремих макроелементів в крові корів з різним типом вищої нервової діяльності та вегетативним статусом за застосування кормової добавки Гермацинк. У тварин через 10 діб після початку задавання нанопрепарату вміст Натрію в клітинах крові корів СН та слабого типів ВНД зменшується на 8,7 % ($p < 0,05$) та 15,1 % ($p < 0,05$), порівняно до показників корів з СВР типом ВНД. У корів зі слабким типом вищої нервової діяльності вміст Калію в сироватці крові протягом 10 діб після початку задавання нанопрепарату збільшується на 16,0 % ($p < 0,05$). Задавання кормової добавки Гермацинк тваринам із СВР, СВІ та СН типами ВНД приводить до підвищення інтенсивності обміну речовин у корів, що дає можливість підтримувати високий рівень продуктивності.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Експериментальні дослідження проводили відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р.

Відомості про конфлікт інтересів. Автори статті стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Карповський В. І. Типи вищої нервової діяльності великої рогатої худоби та характер адаптаційних реакцій на дію зовнішніх подразників: автореф. дис. ... д-ра. вет. наук / НУБіП України. Київ, 2011. 42 с.
2. Ноздрачев А. Д. Физиология вегетативной нервной системы. Л.: Наука, 1983. 296 с.
3. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В.В. Влізло та ін. Львів: СПОЛОМ. 2012. 764 с.
4. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын и др. М.: Медицина, 1991. 4 с.
5. Ветеринарна клінічна біохімія / В.І. Левченко та ін. Біла Церква, 2002. С. 177–180.
6. Динаміка показників мінерального обміну перепілок у різні періоди яйцекладки та за комплексу незамінних амінокислот в поєднанні з вітаміном Е/ М.П. Ніщенко та ін. Наук. вісн. НУБіП, Київ, 2018. № 285. С. 212–220.
7. Li J., Xing L., Zhang R. Effects of Se and Cd Co-treatment on the Morphology, Oxidative Stress, and Ion Concentrations in the Ovaries of Laying Hens. *Biol Trace Elem Res.* 2018. Vol. 183(1). P.156–163.
8. Comparison of selenium levels and sources and dietary fat quality in diets for broiler breeders and layer hens / S. Lee-son et al. *Poult.Sci.* 2008. Vol. 87(12). P. 2605–2612.
9. Effects of dietary form of selenium on its distribution in eggs / K. Čobanová et al. *Biol. Trace Elem Res.* 2011. Vol. 144(1-3). P. 736–746.
10. The effect of level and source of dietary selenium supplementation on eggshell quality / Z. Pavlović et al. *Biol Trace Elem Res.* 2010. no. 133(2). P. 197–202.
11. Довідник загальних і спеціальних методів дослідження крові сільськогосподарської птиці / Данчук В.В. та ін. Львів: СПОЛОМ, 2013. 248 с.
12. Авдосьєва І.К., Каплуненко В.Г., Пашенко А.Г. Перспективи використання здобутків нанотехнологій у ветеринарній практиці. *Тваринництво сьогодні.* 2015. №7. С. 52–56.

REFERENCES

1. Karpovs'kyj, V. I. (2011). Typy vyshhoi' nervovoi' dijal'nosti velykoi' rogatoj' hudoby ta harakter adaptacijnyh reakcij na diju zovnishnih podraznykiv: avtoref. dys. ... d-ra. vet. nauk / NUBiP Ukraïny [Types of higher nervous activity of cattle and the nature of adaptive reactions to the action of external stimuli: abstract. the dissertation of Doctor of Veterinary Sciences / NULES of Ukraine]. Kyiv, 42 p.
2. Nozdrachev, A. D. (1983). Fiziologija vegetativnoj nervnoj sistemy [Physiology of the autonomic nervous system]. L.: Science, 296 p.
3. Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratych, I.B. (2012). Laboratorni metodi doslidzhennya u biologii, tvarinnistvitaeterinariymeditsini [Laboratory methods for biology, animal health and veterinary medicine]. Lviv: SPOLOM, 760 p.
4. Avsycyn, A.P., Zhavoronkov, A. A., Rish, M.A., Strohokova L.S. (1991). Mikroelementozy cheloveka: etiologija, klassifikacija, organopatologija [Human microelements: etiology, classification, organopathology] M.: Medicine. 4 p.
5. Levchenko, V. I. Vlizlo, V.V. Kondrahin, I. P. (2002). Veterinarna klinichna biohimija. [Veterinary Clinical Biochemistry]. Bila Tserkva, pp. 177–180.
6. Nishchemenko, M.P., Poroshins'ka, O.A., Stovbec'ka, L.S. (2018). Dynamika pokaznykiv mineral'nogo obminu perepilok u rizni periody jajcekladky ta zakompleksu nezaminyh aminokyslot v pojednanni z vitaminom E [Dynamics of mineral metabolism of quail in different periods of oviposition and complex of essential amino acids in combination with vitamin E]. *Scientific Bulletin of NULESU.* Kyiv, no. 285, pp. 212–220.
7. Li, J., Xing, L., Zhang, R. (2018). Effects of Se and Cd Co-treatment on the Morphology, Oxidative Stress, and Ion Concentrations in the Ovaries of Laying Hens. *Biol Trace Elem Res.* Vol. 183(1), pp.156–163.

8. Leeson, S., Namkung, H., Caston, L., Durosoy S., Schlegel P. (2008). Comparison of selenium levels and sources and dietary fat quality in diets for broiler breeders and layer hens. *Poult.Sci.* Vol. 87(12), pp. 2605–2612.

9. Čobanová, K., Petrovič, V., Mellen, M., Arpášova, H., Grešáková, L., Faix, Š. (2011). Effects of dietary form of selenium on its distribution in eggs. *Biol. Trace Elem Res.* no. 144(1-3), pp. 43–47.

10. Pavlović, Z., Miletić, I., Jokić, Z., Pavlovski, Z., Skrbić, Z., Sobajić, S. (2010). The effect of level and source of dietary selenium supplementation on eggshell quality. *Biol Trace Elem Res.* no. 133(2), pp. 197–202.

11. Danchuk, V.V., Nishhemenko, M.P., Pelen'o, R.A., Roman'ko, M.Je., Ushkalov, V.O., Karpov's'kyj, V.I. (2013). *Dovidnyk zagal'nyh i special'nyh metodiv doslidzhennja krvi sil'skogospodars'koi' ptyci* [Guide for general and special methods of studying the blood of farm birds]. Lviv: SPOLOM, 248 p.

12. Avdos'jeva, I.K., Kaplunenko, V.G., Pashhenko, A.G. (2015). *Perspektivi vikoristannya zdobutiv nanotehnologij u veterinarnij praktiki* [Prospects for using nanotechnology gains in veterinary practice]. *Tvarinnictvo s'ogodni* [Livestock Today]. no. 7, pp. 52–56.

Коррекция содержания Натрия и Калия в крови коров кормовой добавкой Гермацинк с учетом типологических особенностей нервной системы

Журенко Е.В.

В цельной крови, клетках и сыворотке крови определяли содержание Натрия и Калия. Доказана эффективность коррекции содержания отдельных макроэлементов в крови коров с разным типом высшей нервной деятельности и вегетативным статусом при применении кормовой добавки Гермацинк. Через 10 суток после использования нанопрепарата содержание Натрия в клетках крови коров сильного неуравновешенного и слабого типов высшей нервной деятельности снижается только на 8,7 % ($p < 0,05$) и 15,1 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями крови коров с сильным уравновешенным подвижным типом высшей нервной деятельности. Содержание Натрия в клетках крови через 30 суток после начала исследований у коров сильного неуравновешенного и слабого типов высшей нервной деятельности достоверно не отличается от показателей крови коров с сильным уравновешенным подвижным типом. Однако, через 45 суток после кормления кормовой добавки Гермацинк в клетках крови коров слабого типа высшей нервной деятельности содержание этого металла вновь достоверно увеличивается на 9,2 % ($p < 0,05$) против показателя крови коров с сильным уравновешенным подвижным типом высшей нервной деятельности. У коров со слабым типом высшей нервной деятельности содержание Калия в сыворотке крови в течение 10 суток после начала кормления нанопрепаратом увеличивается на 16,0 % ($p < 0,05$). В клетках крови коров-симпатикотоников

нормализуется соотношение содержания Натрия в Калия. Следует отметить, что использование кормовой добавки Гермацинк животным с сильным уравновешенным подвижным, сильным уравновешенным инертным и сильным неуравновешенным типами высшей нервной деятельности достоверно не влияет на показатель трансмембранного потенциала Калия.

Таким образом, проведенные исследования указывают, что использование кормовой добавки Гермацинк коровам с различными типами высшей нервной деятельности имеет корректирующее влияние на содержание отдельных макроэлементов в крови животных.

Ключевые слова: высшая нервная деятельность, коровы, макроэлементы, кормовая добавка, клетки крови.

Correction of sodium and potassium content in the blood of the cows with the aid of feed additives of Hermatsins taking into account typological features of the nervous Zhurenko E.

The effectiveness of correction of the content of some macronutrients in the blood of cows with different types of higher nervous activity (HNA) and vegetative status has been confirmed using feed additive “Germatsink”. In cows with a weak type of higher nervous activity, the potassium content in the serum in 10 days after the administration of the nanopreparation increased by 16.0% ($p < 0.05$), calcium by 4.7%. 10 days after the start of the task of the nanopreparation, the sodium content in the blood cells of the cows of HF and a weak type of GNI becomes less than only 8.7% ($p < 0.05$) and 15.1% ($p < 0.05$) compared with the cows with SVR type GNI. The sodium content in blood cells 30 days after the start of studies in cows of HF and a weak type of GNI does not significantly differ from the indicators of cows of the CBP type. However, 45 days after the Germatsink feed supplement was prescribed in the blood cells of cows of a weak type of GNI, the content of this metal again becomes significantly higher by 9.2% ($p < 0.05$) of the cows of the SVR type of GNI. In cows with a weak type of higher nervous activity, the serum potassium content within 10 days after the start of the task nanopreparations increases by 16.0% ($p < 0.05$). According to the influence of the feed supplement Germacin in the blood cells of sympathetic cows, the ratio of sodium to potassium is normalized. It should be noted that the assignment of the Germacin feed additive to animals with SVR, SVI and SN type of GNI does not significantly affect the potassium transmembrane potential. Whereas the value of this index in cows with a weak type of HNA decreased by 20.9% in 45 days of research ($p < 0.001$).

Therefore, the studies shown that the administration of feed additive “Germatsink” to cows with different types of HNA had corrective effect on the content of some macronutrients in the blood of animals.

Key words: nerve activity, cows, macronutrients, feed additive, blood cells.



Copyright: © Журенко О.В. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК 619:616.728.3-018.3:611.018.81:636.932.3

Цито-, фіброархітектоніка та васкуляризація зовнішньої (червоної) зони менісків нутрій

Новак В.П. , Бевз О.С. , Мельниченко А.П. ,
Присяжнюк Н.М. , Нечипорук Є.В. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: anatomii@ukr.net



Новак В.П., Бевз О.С., Мельниченко А.П.,
Присяжнюк Н.М., Нечипорук Є.В. Цито-,
фіброархітектоніка та васкуляризація
зовнішньої (червоної) зони менісків нутрій.
Науковий вісник ветеринарної медицини,
2020. № 1. С. 103–112.

Novak V.P., Bevez O.S., Mel'nychenko A.P.,
Prysjazhnjuk N.M., Nechiporuk Ye.V. Cyto-,
fibroarhitektonika ta vaskulyaryzacija
zovnishn'oi' (chervonoj) zony meniskiv
nutrij. Naukovyj visnyk veterynarnoi'
medycyny, 2020. № 1. PP. 103–112.

Рукопис отримано: 29.04.2020р.

Прийнято: 13.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-103-112

Травми менісків визнані однією з причин захворюваності локомоторного апарату. Особливості гістоструктурної організації різних зон менісків є необхідною умовою розуміння патологій, пов'язаних з колінним суглобом. Це дозволить розширити та поглибити мікроморфологічні знання та практично застосувати під час обрання тактики лікування для збереження менісків, накладання швів під час реконструктивної репарації менісків, зменшити ризик судинних травмувань, надати можливість застосування тканинної інженерії для регенерації менісків. Адже на сьогодні відомо, що тільки збереження менісків або незначна ектомія внутрішньої зони, яка не підлягає відновленню за значного травмування, може зберегти здоров'я та біомеханіку колінного суглоба. Метою роботи було з'ясування цито- та фіброморфологічної характеристики, а також ступеня васкуляризації зовнішньої (червоної) зони латерального та медіального менісків колінного суглоба у стопоходячих нутрій. Використано комплекс гістологічних та нейрогістологічних методів дослідження. Запатентований нейрогістологічний спосіб імпрегнації виконаний у власному алгоритмі. Підбір тварин здійснювали за типом спеціалізації кінцівки до субстрату. В результаті гістологічного дослідження встановлено, що цито-, фіброархітектоніка зовнішньої (червоної) зони латерального та медіального менісків нутрій має загальнобіологічні ознаки, а васкуляризації характерна видоспецифічність. Зовнішня (червона) зона менісків нутрій має структуру подібну до щільної оформленої сполучної тканини. Цитоархітектоніка представлена клітинами фібробластичного ряду: фіброцитами, фібробластиками та малодиференційованими стовбуровими клітинами, які локалізуються між колагеновими волокнами поодинокі, попарно, ланцюжком або короткими рядами. Фіброархітектоніка – щільно упаковані пучки колагенових волокон з чіткою паралельною орієнтацією. Медіальний меніск має насичені зони інтраорганного судинного живлення внаслідок розширених, анастомозуючих капілярних розгалужень, утворених за рахунок перфорацій перименіскальними широкопетлистими сітками мікроциркуляцій, які займають значні ділянки та формують судинні поля, а також численні судинні клубочки. В латеральному меніску зона васкуляризації характеризується обмеженими капілярними розгалуженнями, інтервальною та малочисельною пенетрацією капілярами зовнішньої зони меніска та лімітованими, локалізованими перименіскальними сітками.

Ключові слова: фіброцити, фібробласти, колагенові волокна, васкуляризація, судинні клубочки, зовнішня зона, червона зона, меніск, колінний суглоб, нутрія.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Науковими дослідженнями останнього десятиліття встановлено анатомічні, біомеханічні та функціональні значення, які мають меніски в колінному суглобі [1].

На сьогодні загальновідомо, що меніски – це найважливіші структури, які виконують низку функцій, а їх відсутність у колінному суглобі призводить до безповоротного ураження хондралу [2].

Термін *meniscus* у перекладі з грецької мови означає «маленький місяць», оскільки має форму півмісяця [3]. Невідповідність поверхонь стегнової та великогомілкової кісток колінного суглоба «виправлені» двома півмісячними менісками (медіальним та латеральним) [4].

Меніск витримує багато різних навантажень, таких як зсув, напруження та стиснення. Він також відіграє вирішальну роль у перенесенні та передачі навантаження, поглинанні ударів, а також у змащенні та живленні суглобового хряща [5]. Ці складні функції вимагають спеціалізованої клиноподібної форми, яка виявляється дуже сприятливою для стабілізації вигнутого стегнового мишечку під час артикуляції з плоским великогомілковим плато [6]. Меніски колінного суглоба є фіброзно-хрящовими тканинними структурами і відіграють важливу роль у суглобі, а втрата меніска призводить до дегенеративних змін у колінному суглобі [7]. Як життєво важливі частини суглоба, меніски запобігають погіршенню та переродженню суглобового хряща, а також виникненню та розвитку остеоартрозу [1]. Травми меніска є поширеним і важливим джерелом дисфункції колінного суглобу [8]. Травма суглобів може поставити під загрозу функцію меніска, що призводить до пошкодження зчленованих поверхонь суглоба, та спричинює остеоартроз, дегенеративне захворювання, яке швидко наближається до рівня епідемії [9]. За порушення функції меніска у разі травми біомеханіка колінного суглобу збивається. Збільшується навантаження на хрящі в суглобі, що може призвести до втрати хряща, зміни кісток та прогресування ОА [10, 11]. Суглобовий хрящ і меніски виявляють низьку здатність або її відсутність до самовідновлення, і жоден з доступних способів лікування повністю не відновлює функцію органів [1, 12].

Меніск – це складна конструкція для лікування та заміни. Травмований або дегенеративний меніск сприяє остеоартритним змінам суглобів, яких слід уникати [13]. Повне загоєння меніска залишається проблемою в клініках [14]. Наразі загальновизнано, що необхідно

докласти максимум зусиль, щоб відновити та зберегти якомога більше рідної тканини меніска [15]. Регенерація тканин меніска є надзвичайно важкою і виглядає набагато складніше, ніж регенерація хряща через складний фенотип та функції тканин меніска [16].

Васкуляризація в цій тканині має велике значення. З пренатального розвитку до неонатального меніск є повністю васкуляризований. Потім судинна васкуляризація знижується [1]. Меніски мають обмежений потенціал зцілення через слабкість судинності [7]. Важливо розуміти ступінь васкуляризації меніска під час розгляду цілющого потенціалу регенерації. Здебільшого вважається, що підвищення судинності корелює з кращим потенціалом зцілення [17].

Метою дослідження було з'ясування цитота фіброморфологічної характеристики, а також ступеня васкуляризації зовнішньої (червоної) зони латерального та медіального менісків колінного суглоба у стопоходячих нутрій.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведені в науково-дослідній лабораторії мікроскопічного аналізу кафедри анатомії та гістології ім. П.О. Ковальського БНАУ відповідно до загальнокафедральної тематики «Експериментально-морфологічне дослідження реактивних та репаративних властивостей сполучнотканинних елементів локомоторного апарату ссавців і птахів, їх сегментальна-, екстра- та інтраорганна іннервація та васкуляризація», номер державної реєстрації 0118U004127. У роботі використано комплекс морфологічних методів досліджень: анатомічні, гістологічні, нейрогістологічні. Матеріалом для досліджень слугували латеральний та медіальний меніски обох колінних суглобів 8 статевозрілих нутрій (*Myocastorcoypus*). Підбір тварин здійснювали за типом спеціалізації кінцівки до субстрату.

Матеріал для досліджень відбирали від колінних суглобів нутрій, які утримувалися на приватній фермі та були забиті власником для продажу. Меніски відпрепаровували разом із прилеглою суглобовою капсулою, фіксували у 10–12 % розчині нейтрального формаліну. Заморожені зрізи виготовляли на заморожувальному мікротомі товщиною 10–15 мкм. Цито-, фібро- та ангіоархітектоніку вивчали комплексом гістологічних та нейрогістологічних методів: забарвлення гематоксиліном та еозином з диференціюванням, імпрегнація азотнокислим сріблом за методами Більшовського-Грос в модифікації Лаврентьєва, Кампосата об'єднаним методом у власній модифікації [18]. Для вивчення гістологічних препаратів використовували мікроскоп Axiolarplus (Carl Zeiss). Мікрофотографії були зроблені за допомогою

відеокамери Sigeta MDC-200 (окуляр $\times 10$, об'єктиви $\times 25/0,50$, $\times 40/0,65$, $100/0,25$), інтегрованою з персональним комп'ютером Axiolap plus (Carl Zeiss). Морфологічні дослідження проводили із суворим дотриманням біоетичних норм, відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. [19].

Результати дослідження. Спираючись на літературні дані, виділяли у менісках нутрій три зони: зовнішню (червону – red), середню (червоно-білу – red-white) та внутрішню (білу – white) [1, 20–22]. Зовнішня зона латерального та медіального (рис. 1, 2) менісків контактує із синовіальною оболонкою суглобової капсули. Синовіальна оболонка латерального меніска має на своїй поверхні синовіальні ворсини різної конфігурації та розміру. Гілки низхідної колінної та підколінної артерій формують мікроциркулярні розгалуження в синовіальній оболонці.

Судинні елементи синовіальної оболонки представлені артеріолами та венулами різних калібрів, а також капілярами. Капіляри синовіальної оболонки здебільшого локалізуються в пухкій сполучній тканині підсиновіального шару. Вони розташовані як поодинокі, так і

у вигляді перименіскальних капілярних сіток різного напрямку, складності та потужності. Напрямок капілярів змінюється з паралельного довгій осі меніска на перпендикулярний, в місці penetрації зовнішньої зони менісків. Після проникнення у зовнішню зону менісків напрямок ходу капілярів змінюється на паралельний, щодо локалізації колагенових волокон (рис. 1, А). Спостерігалися також косо-поперечні розгалуження дрібніших капілярів для забезпечення та збільшення області васкуляризації сусідніх ділянок зовнішньої зони менісків (рис. 1, В). Перименіскальні судинні розгалуження латерального меніска характеризуються обмеженою і локалізованою топографією, а також інтервальною перфорацією тканини меніска. У випадку контакту зовнішньої зони латерального меніска і синовіального шару, капіляри безпосередньо пенетрують тканину меніска (рис. 1, С).

В медіальному меніску нутрій спостерігалися численні, потужні, широкопетлисті та арборизуючі перименіскальні судинні сітки, які формували судинні поля (рис. 2, А, В). Вони займали обширні території підсиновіального шару синовіальної оболонки суглобової

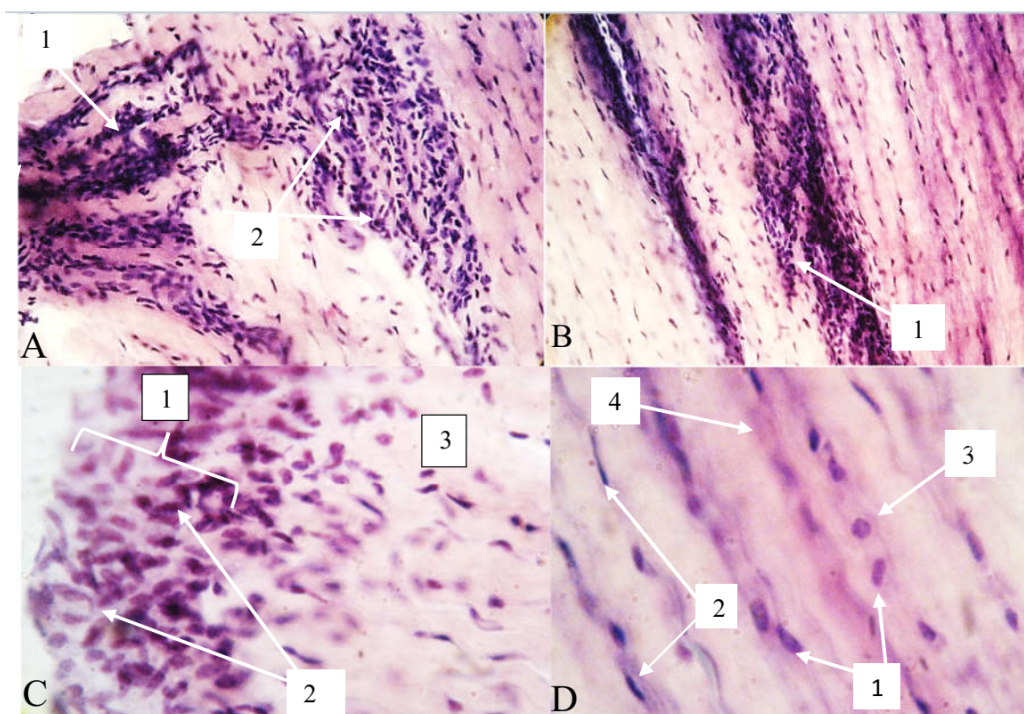


Рис. 1. Зовнішня (червона) зона латерального меніска нутрій:

А – penetрація капілярів підсиновіального шару та їх топографія: 1 – перименіскальна капілярна сітка; 2 – капілярна сітка меніска $\times 250$. В – 1 – косо-поперечна локалізація капілярів меніска $\times 250$. С – проникнення капілярів з синовіального шару: 1 – синовіальний шар; 2 – капіляри; 3 – меніск $\times 1000$. D – цитофіброархітектоніка: 1 – ядра фібробластів; 2 – ядра фіброцитів; 3 – клітини з округлими ядрами; 4 – колагенові волокна

Гематоксилін та еозин. $36.\times 1000$.

капсули прилеглої до меніска. У складі перименіскальних судинних сіток локалізуються дрібні артерії, артеріоли, венули, капіляри, а також численні та складно побудовані судинні клубочки (рис. 2, С). Гістоархітектоніка структур мікроциркуляції різноманітна: поздовжня, поперечна, косо-поперечна, дугоподібна до зовнішньої зони меніска. Але перфоруючі капілярні розгалуження завжди перпендикулярні до тканини меніска. Після чого капіляри знову змінюють свій напрямок на паралельний, що збігається з ходом колагенових волокон зовнішньої зони медіального меніска. Безпосередньо між колагеновими волокнами локалізуються розширені та складні капілярні розгалуження, які розповсюджуються на значні відстані, анастомозуючи між собою.

Структура зовнішньої зони латерального і медіального менісків нутрій подібна із будовою щільної оформленої сполучної тканини капсульно-зв'язкового апарату. Клітинний диферон зовнішньої зони латерального і медіального менісків представлений клітинами фібробластичного ряду. Клітини, які мають світлі овальні ядра, що оточені незначною слабобазофільною зоною ендоплазми, подібні до фібробластів.

Другий тип клітин з темними паличкоподібними або паличковими та хвилясто вигнутими ядрами є фіброцитами. Також спостерігався і третій тип клітин, з округлими слабобазофільними ядрами, можливо, це мало диференційовані клітини фібробластичного ряду (рис. 1, 2, D). Цитоархітектоніка клітинного диферону тісно пов'язана з топографією колагенових волокон. Усі клітини локалізовані повздовжніми рядами поміж пучків колагенових волокон, причому їх довга вісь є паралельною відносно волокон. У випадку хвилястої локалізації пучків колагенового волокнистого комплексу ядра фіброцитів мають відповідну паличкоподібну хвилясту форму. Клітини розміщені поодинокі, одна за одною, на рівній відстані, формуючи ланцюжок, по дві та три клітини підряд або формують короткі ряди. Причому у ланцюжку спостерігалися або лише фіброцити, або фіброцити, фібробласти та малодиференційовані клітини.

Фіброархітектоніка зовнішньої зони обох менісків має як чіткі, паралельно та щільно упаковані, рівні пучки колагенових волокон, так і дещо хвилясті паралельні пучки волокон, які чергуються між собою.

Обговорення. Меніски – це волокнисто-хрящові утворення, які були описані як

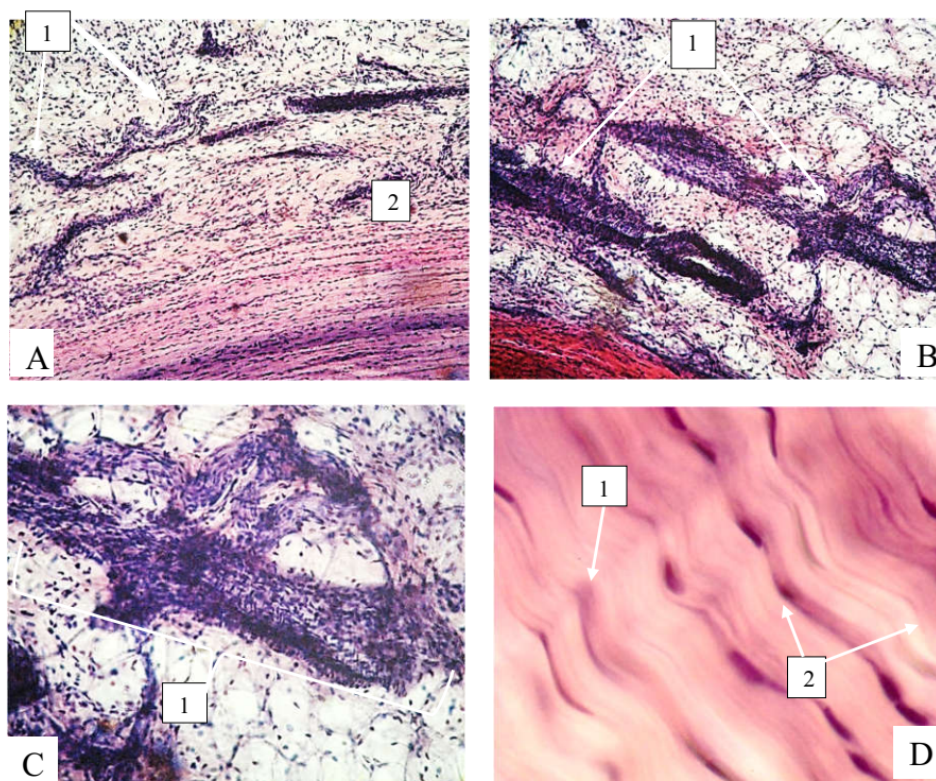


Рис. 2. Зовнішня (червона) зона медіального меніска нутрій:

A, B – 1 – перименіскальні судинні сітки; 2 – зовнішня зона меніска. x250.

C – 1 – судинний клубочок. x400. D – 1 – ядра фіброцитів; 2 – ядра фібробластів x1000. Гематоксилін та еозин.

такі, що мають проміжні структурні та функціональні властивості між щільною, волокнистою сполучною тканиною (тобто зв'язкою, сухожиллям) та гіаліновим хрящем [23]. Саме таку структуру – подібну до щільної оформленої сполучної тканини має зовнішня зона менісків нутрій. Оскільки біохімічно різні області існують у внутрішній і зовнішній частинах меніска, механічні властивості клітин меніска також можуть варіюватися залежно від регіону [24]. Розміщення підтипів клітин меніска, а також їх морфологія та архітектура підтверджують припущення, що їх специфічні характеристики лежать в основі здатності меніска реагувати на різні типи механічних навантажень навколишнього середовища [4]. Сьогодні характеристика клітин меніска висвітлена дещо суперечливо у літературі, з використанням низки різних термінів (фіброцити, фібробласти, клітини меніска, фіброхондроцити та хондроцити) [25]. Зони меніска відрізняються морфологією клітин та складом міжклітинного матриксу [1]. Незалежно від використовуваної термінології, очевидно, що наші дослідження збігаються з іншими роботами, що клітини зовнішньої зони мають овальну, веретеноподібну форми і подібні за зовнішнім виглядом на фібробласти. Таким чином, їх можна описати як клітини, подібні до фібробластів. Ці клітини також відображають довгі розширення клітин, що полегшує зв'язок з іншими клітинами та позаклітинним матриксом [1, 26]. В зовнішній зоні менісків стопоходячих нутрій також локалізуються різні клітини фібробластичного ряду: фіброцити, із паличко- та веретеноподібними ядрами, фібробласти – із світлими овальними ядрами та слабобазофільною ектоплазмою та третій вид клітин, з округлими слабобазофільними ядрами. Ми схилиємося до думки, що саме третій тип малодиференційованих клітин фібробластичного ряду може бути специфічними клітинами-попередниками – стовбуровими, що мають терапевтичні та регенеративні можливості, що підтверджує дані [27]. Цитоархітектура клітин фібробластичного ряду зовнішньої зони меніска нутрій дещо подібна до веретеноподібних клітин меніска кроля [4], вздовж поверхневого краю виявляються поодинокі, парами або короткими рядами, і є хаотично розташовані або розміщені в поздовжніх рядах між пучками щільних колагенових волокон. Порівняння характеристик стискання клітин показало подібність між клітинами зовнішнього меніска і клітинами зв'язки. Ці результати показують, що клітинна біомеханіка регіонально варіюється в меніску колінного суглоба і що клітини меніска біоме-

ханічно подібні з клітинами зв'язки. Механічні властивості скелетно-м'язових клітин можуть бути корисні для розробки математичних моделей або планування експериментів з вивчення механотрансдукції в різних м'яких тканинах [28]. Клітини меніска неоднорідні і можуть бути замінені з використанням різних клітинних джерел [1]. Клітинність – один з найважливіших біологічних параметрів, який необхідно враховувати під час регенеративних стратегій [29]. Розуміння механотрансдукції в меніску колінного суглоба може допомогти з'ясувати механізми, за допомогою яких клітини меніска підтримують здорові тканини, або викликають загоюючу відповідь після травми [30].

Ультраструктура поверхневого шару, який контактує з шарнірними суглобовими поверхнями меніска людини складається з випадково орієнтованих волокон, що забезпечують гладку мастильну поверхню, а також має чіткі радіально вирівняні волокна на периферії [31]. За даними [32] типи архітектурної організації колагенових фібрил у меніску зберігаються у різних видів ссавців і не залежать від віку та статі. Але в поверхневій зоні менісків нутрій фіброархітектоніка колагенових волокон представлена лише чітко, щільно упакованими пучками з суворою паралельною орієнтацією. Це збігається з даними [33], які вивчали за допомогою оптичної проєкційної томографії (ОПТ), що була здатна візуалізувати орієнтації колагенових пучків в 3D в межах зразків, отриманих із зовнішньої половини бичачого меніска та показали сильно вирівняну структуру пучка, а також ідентифіковані кровоносні судини у всіх зразках. Радіальні гілки від сплетення потрапляють в меніск з інтервалом, з більш багатим постачанням переднього та заднього рогів.

Судини обмежені периферією меніска зі змінним проникненням 10–30 % для медіального меніска та 10–25 % для бічного. Це має важливе значення для зцілення меніска [34]. Периферична, судинна зона кожного меніска людини товста, опукла і прикріплена до суглобової капсули [34] що, ймовірно, має загальнобіологічний характер, так як і у нутрій. Медіальний і бічний меніски не є дзеркальними зображеннями один одного [17]. Ці дані також чітко відображаються в особливостях васкуляризації зовнішньої (червоної) зони латерального і медіального менісків нутрій. Перименіскальні судинні сітки медіального меніска нутрій мають судини різного калібру, які анастомозують між собою та утворюють широкопетлисті арборизації, що займають значні території з численними ділянками перфорації зовнішньої зони меніска та наявністю судинних

клубочків. Латеральний меніск має обмежено локалізовані перименіскальні та субсиновіальні розгалуження, а також інтервальну капілярну перфорацію поверхневої зони тканини меніска. Ці дані збігаються з дослідженнями [17], що гілки медіальної та бічної генікулярних артерій перфоруєть меніски людини на капсульних прикріпленнях. Гілки цих судин породжують перименіскальне капілярне сплетіння в межах синовіальної та капсульної тканини, яке постачає периферичну межу меніска під час його прикріплення до капсули суглоба. У латеральному меніску не вистачає периферичного кровопостачання і по суті є аваскулярним в підколінній області. Оскільки значна сітка арборизуючих судин у периферичних капсульних та синовіальних прикріпленнях забезпечує васкуляризацію менісків, то відновлення менісків зазвичай розглядається для його зовнішньої третини [35]. Точний механізм, за допомогою якого відбувається регенерація меніска, залишається невідомим, проте, як вважається, він може відбуватися як зовнішнім, так і внутрішнім шляхом [13]. Однак спонтанне загоєння може спостерігатися в судинній області навіть у клінічних ситуаціях (хоча відносно рідко) та в дослідженнях на тваринах [7, 36, 37]. Один з можливих механізмів може бути віднесений до існування мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) у синовіальній рідині. Відомо, що після травми меніска кількість МСК в синовіальній рідині збільшується, забезпечуючи необхідні для лікування ендогенні клітини [38]. Сучасні методи відновлення ефективні лише для лікування пошкоджень, розташованих в периферичній васкуляризованій ділянці меніска [1]. Самолікування травм менісків безпосередньо залежить від васкуляризації, тому що аваскулярна зона не проявляє регенеративних властивостей [35]. Тому, дані про характеристику цито- фібро- та ангіоархітекtonіки зовнішньої (червоної) зони менісків нутрій можуть бути використані для оцінки ступеня важкості травмування та вибору тактики заходів, спрямованих на можливість самовідновлення, збереження кровопостачання, накладання швів або незначної ектомії.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Загальнобіологічні ознаки мають цито- та фіброархітекtonіка зовнішньої (червоної) зони латерального та медіального менісків нутрій. Зовнішня зона менісків нутрій має подібну структуру до щільної оформленої сполучної тканини. 2. Цитоархітекtonіка зовнішньої зони менісків стопоходячих нутрій утворена клітинами фібробластичного ряду: фіброцитами, фібробластиами та малодиферен-

ційованими стовбуровими клітинами. Вони локалізуються між колагеновими волокнами поодинокі, попарно, ланцюжком або короткими рядами. 3. Фіброархітекtonіка колагенових волокон представлена лише чітко, щільно упакованими пучками з суворою паралельною орієнтацією. 4. Видоспецифічні властивості пов'язані із зональними особливостями васкуляризації латерального та медіального менісків. Медіальний меніск має насичені зони інтраорганного судинного живлення внаслідок розширених, анастомозуючих капілярних розгалужень, утворених за рахунок перфорацій перименіскальними широкопетлистими сітками мікроциркуляції в прилеглій синовіальній оболонці, які займають значні ділянки, формують судинні поля та численні судинні клубочки. В латеральному меніску зона васкуляризації має обмежені капілярні розгалуження, інтервальну та малочисельну пенетрацію капілярами зовнішньої зони та лімітовані, локалізовані перименіскальні сітки. Оскільки клітинний диференс фібробластичного ряду зовнішньої зони менісків нутрій різномірний, то він може бути підтриманий стовбуровими клітинами різних джерел (мезенхімальні стовбурові клітини, отримані з кісткового мозку, синовії, синовіальної оболонки, окістя, інтрапателлярної жирової тканини) за використання методів тканинної інженерії, на що доцільно звернути увагу під час реконструктивного відновлення менісків.

Перспективою подальших досліджень є вивчення та порівняння морфологічних особливостей і морфометричних показників центральної (червоно-білої) та внутрішньої (білої) зон менісків нутрій.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Усі дослідження були проведені на трупному матеріалі.

Відомості про конфлікт інтересів. Конфлікт інтересів відсутній.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. The knee meniscus: Structure function, pathophysiology, current repair techniques, and prospects for regeneration / E.A. Makris et al. *Biomaterials*. 32. 2011. P. 7411–7431. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.037>
2. Pukaluk A., Ryniewicz A.M. Regeneration of knee joint menisci – methods review. *Bio-Algorithms and Med-Systems*. 2016. Vol. 12. Issue 2. Doi: <https://doi.org/10.1515/bams-2016-0002>
3. Bernstein J. *Clin Orthop Relat Res*. 2010. 468 (4). P. 1190–1192. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11999-010-1253-4>
4. The cells of the rabbit meniscus: their arrangement, interrelationship, morphological variations and cytoarchitecture/ M.P. Hellio Le Graverand et al. *J Anat*. 2001. Vol. 198. P. 525–535. Doi: <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2000.19850525.x>

5. Newman A.P., Anderson D.R., Daniels A.U., Dales M.C. Mechanics of the healed meniscus in a canine model. *Am J Sports Med.* 1989. Vol. 17. P. 164–175. Doi: <https://doi.org/10.1177/036354658901700205>
6. Radin E.L., de Lamotte F., Maquet P. Role of the menisci in the distribution of stress in the knee. *Clin Orthop Relat Res.* 1984. Vol. 185. P. 290–294. PMID: 6546709
7. Repair of menisci allusions using scaffold-freetissue-engineered construct derived from allogenic synovial MSC sinamini atures wine model / Y. Moriguchi et al. *Biomaterials.* 2013. Vol. 34. P. 2185–2193. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.11.039>
8. Increase in outpatient knee arthroscopy in the United States: a comparison of National Surveys of Ambulatory Surgery, 1996 and 2006/ S. Kim et al. *J Bone Joint Surg Am.* 2011. Vol. 93. P. 994–1000. Doi: <https://doi.org/10.2106/JBJS.I.01618>
9. Ratzlaff C.R., Liang M.H. New developments in osteoarthritis. Prevention of injury-related knee osteoarthritis: opportunities for the primary and secondary prevention of knee osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2010. Vol. 12(4). 215 p. Doi: <https://doi.org/10.1186/ar3113>
10. Trabecular morphometry by fractal signature analysis is a novel marker of osteoarthritis progression/ V.B. Kraus et al. *Arthritis Rheum.* 2009. Vol. 60. P. 3711–3722. Doi: <https://doi.org/10.1002/art.37970>
11. Differences in trabecular bone texture between knees with and without radiographic osteoarthritis detected by directional fractal signature method/ M. Wolski et al. *Osteoarthritis. Cartil.* 2010. Vol. 18. P. 684–690. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2010.01.002>
12. Adipose, bone marrow and synovial joint-derived mesenchymal stem cells for cartilage repair, Front/ C.R. Fellows et al. *Genet.* 7. 2016. 213 p. Doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00213>
13. De Albornoz P.M., Forriol F. The meniscal healing process. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2012. Vol. 2. P. 10–18. PMID: 237382
14. Segmental and regional quantification of 3D cellular density of human meniscus from osteoarthritic knee/ I.F. Cengiz et al. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015. Vol. 11(6). P. 1844–1852. Doi: <https://doi.org/10.1002/term.2082>
15. Seil R., Becker R. Time for a paradigm change in meniscal repair: Save the meniscus! *Knee Surgery, Sport. Traumatol. Arthrosc.* 2016. Vol. 24. P. 1421–1423. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00167-016-4127-9>
16. Jacob G., Shimomura K., Krych A. J., Nakamura N. The Meniscus Tear: A Review of Stem Cell Therapies. *Cells.* 2020. Vol. 9(1). 92 p. Doi: <https://doi.org/10.3390/cells9010092>
17. Kurzweil P.R. Inside-Out and Outside-in Meniscus Repair. URL: <https://musculoskeletalkey.com/inside-out-and-outside-in-meniscus-repair/>
18. Спосіб імпрегнації нітратом срібла заморожених гістопрізів для виявлення структур периферичної нервової системи: пат. № 135108 Україна: G01N 33/15 (2006.01) №u201901025 2019; заявл. 31.01.2019; опубл. 10.06.2019.
19. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України. Відомості Верховної Ради України. 2006. № 27. 230 с.
20. Poulsen M., Johnson D. Meniscal injuries in the young, athletically active patient. *The Physician and sport-medicine.* 2011. Vol. 39(1). P. 123–130. Doi: <https://doi.org/10.3810/psm.2011.02.1870>
21. Arnoczky S.P., Warren R.F. Microvasculature of the human meniscus. *Am. J. Sports Med.* 1982. Vol. 10. P. 90–95. Doi: <https://doi.org/10.1177/036354658201000205>
22. Forriol F. Growth factors in cartilage and meniscus repair. *Injury.* 2009. Vol. 40. P. 12–16. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(09\)70005-1](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(09)70005-1)
23. Benjamin M., Evans E.J. Fibrocartilage. *Anat.* 1990. Aug; Vol. 71. P. 1–15. PMID: PMC1257123
24. Relation ship between ultra structure and biomechanical properties of the kneeme niscus / A. Gabrion et al. *Surg Radiol Anat.* 2005. Dec. Vol. 27(6). P. 507–510. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00276-005-0031-6>
25. Human meniscus cell: characterization of the primary culture and use for tissue engineering/ K. Nakata et al. *Clin Orthop Relat Res.* 2001. Vol. 391. P. 208–218. PMID: 11603705
26. Characterisation of human knee meniscus cell phenotype/ P.C. Verdonk et al. *Osteoarthritis Cartilage.* 2005. Vol. 13. P. 548–560. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2005.01.010>
27. Cell based meniscus tissue engineering / H. Vander Bracht et al. *Topics in tissue engineering.* Vol. 3. 2007.
28. Sanchez-Adams J., Athanasiou K.A. Biomechanics of meniscus cells: regional variation and comparison to articular chondrocytes and ligament cells. *Biomech Model Mech-anobiol.* 2012. Vol. 11(7). P. 1047–1056. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10237-012-0372-0>
29. Segmental and regional quantification of 3D cellular density of human meniscus from osteoarthritic knee/ I.F. Cengiz et al. *J Tissue Eng Regen Med.* 2015. Vol. 11(6). P. 1844–1852. Doi: <https://doi.org/10.1002/term.2082>
30. Johannah S.A., Kyriacos A.A. Biomechanics of Meniscus Cells: Regional Variation and Comparison to Articular Chondrocytes and Ligament Cells. *Biomech Model Mech-anobiol.* 2012. Vol. 11(7). P. 1047–1056. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10237-012-0372-0>
31. New understanding of the complex structure of knee menisci: implications for injury risk and repair potential for athletes/ J.B. Rattner et al. *Scand J Med Sci Sports.* 2011. Vol. 21(4). P. 543–553. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2009.01073.x>
32. An evaluation of meniscal collagenous structure using optical projection tomography/ S.H. Andrews et al. *BMC Med Imaging.* 2013. Vol. 23. P. 13–21. Doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2342-13-21>
33. Biomechanical analysis of a double-bundle posterior cruciate ligament reconstruction/ C.D. Harner et al. *Am J Sports Med.* 2000. Vol. 28(2). P. 144–151. Doi: <https://doi.org/10.1177/03635465000280020201>
34. Foad A. Self-limited healing of aradialtear of the latera meniscus. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012. Vol. 20. P. 933–936. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00167-011-1660-4>
35. Yu H., Adesida A.B., Jomha N.M. Meniscus repair using mesenchymal stem cells - a comprehensive review- *Stem Cell Res. Ther.* 2015. Vol. 6. 86 p. Doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0077-2>
36. Marrow stimulation improves meniscal healing at early endpoints in a rabbit meniscal injury model/ M.D. Driscoll et al. *Arthroscopy.* 2013. Vol. 29. P. 113–121. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2012.06.023>
37. Enhancement of meniscal repair in the avascular zone using mesenchymal stem cells in a porcine model/

A.Q. Dutton et al. *J Bone Joint Surg Br.* 2010. Vol. 92. P. 169–175. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.92B1.22629>

38. Mesenchymal stem cells in synovial fluid increase after meniscus injury/ Y. Matsukura et al. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2014. Vol. 472. P. 1357–1364. <https://doi.org/10.1007/s11999-013-3418-4>

REFERENCES

1. Makris, E.A. (2011). The knee meniscus: Structure function, pathophysiology, current repair techniques, and prospects for regeneration. *Biomaterials.* 32, pp. 7411–7431. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.037>
2. Pukaluk, A., Ryniewicz, A.M. (2016). Regeneration of knee joint menisci – methods review. *Bio-Algorithms and Med-Systems.* Vol. 12, Issue 2. Available at: <https://doi.org/10.1515/bams-2016-0002>
3. Bernstein, J. (2010). *Clin Orthop Relat Res.* Vol. 468 (4), pp. 1190–1192. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11999-010-1253-4>
4. Hellio, Le Graverand M.P., Ou, Y., Schield-Yee, T., Barclay, L., Hart, D., Natsume, T. (2001). The cells of the rabbit meniscus: their arrangement, interrelationship, morphological variations and cytoarchitecture. *J Anat.* Vol. 198, pp. 525–535. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2000.19850525.x>
5. Newman, A.P., Anderson, D.R., Daniels, A.U., Dales, M.C. (1989). Mechanics of the healed meniscus in a canine model. *Am J Sports Med.* Vol. 17, pp. 164–175. Available at: <https://doi.org/10.1177/036354658901700205>
6. Radin, E.L., de Lamotte, F., Maquet, P. (1984). Role of the menisci in the distribution of stress in the knee. *Clin Orthop Relat Res.* Vol. 185, pp. 290–294. PMID: 6546709
7. Moriguchi, Y., Tateishi, K., Ando, W., Shimomura, K., Yonetani, Y., Tanaka, Y., Kita, K., Hart, D.A., Gobbi, A., Shino, K., Yoshikawa, H., Nakamura, N. (2013). Repair of meniscal lesions using a scaffold-free tissue-engineered construct derived from allogenic synovial MSCs in a miniature swine model. *Biomaterials.* Vol. 34, pp. 2185–2193. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.11.039>
8. Kim, S., Bosque, J., Meehan, J.P., Jamali, A., Marder, R. (2011). Increase in outpatient knee arthroscopy in the United States: a comparison of National Surveys of Ambulatory Surgery, 1996 and 2006. *J Bone Joint Surg Am.* Vol. 93, pp. 994–1000. Available at: <https://doi.org/10.2106/JBJS.I.01618>
9. Ratzlaff, C.R., Liang, M.H. (2010). New developments in osteoarthritis. Prevention of injury-related knee osteoarthritis: opportunities for the primary and secondary prevention of knee osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* Vol. 12(4), 215 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/ar3113>
10. Kraus, V.B., Feng, S., Wang, S.C., White, S., Ainslie, M., Brett, A., Holmes, A., Charles, H.C. (2009). Trabecular morphometry by fractal signature analysis is a novel marker of osteoarthritis progression. *Arthritis Rheum.* Vol. 60, pp. 3711–3722. Available at: <https://doi.org/10.1002/art.37970>
11. Wolski, M., Podsiadlo, P., Stachowiak, G.W., Lohmander, L.S., Englund, M. (2010). Differences in trabecular bone texture between knees with and without radiographic osteoarthritis detected by directional fractal signature method. *Osteoarthr. Cartil.* Vol. 18, pp. 684–690. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2010.01.002>
12. Fellows, C.R., Matta, C., Zakany, R., Khan, I.M., Mobasheri, A. (2016). Adipose, bone marrow and synovial joint-derived mesenchymal stem cells for cartilage repair. *Front. Genet.* Vol. 7, 213 p. Available at: <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00213>
13. De Albornoz, P.M., Forriol, F. (2012). The meniscal healing process. *Muscles Ligaments Tendons J.* Vol. 2, pp. 10–18. PMID: 23738268
14. Cengiz, I.F., Pereira, H., Pego, J.M., Sousa, N., Espregueira-Mendes, J., Oliveira, J.M., Reis, R.L. (2015). Segmental and regional quantification of 3D cellular density of human meniscus from osteoarthritic knee. *J Tissue Eng Regen Med.* Vol. 11(6), pp. 1844–1852. Available at: <https://doi.org/10.1002/term.2082>
15. Seil, R., Becker, R. (2016). Time for a paradigm change in meniscal repair: Save the meniscus! *Knee Surgery, Sport. Traumatol. Arthrosc.* Vol. 24, pp. 1421–1423. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00167-016-4127-9>
16. Jacob, G., Shimomura, K., Krych, A.J., Nakamura, N. (2020). The Meniscus Tear: A Review of Stem Cell Therapies / *Cells.* Vol. 9(1). 92 p. Available at: <https://doi.org/10.3390/cells9010092>
17. Kurzweil, P.R. Inside-Out and Outside-in Meniscus Repair. Available at: <https://musculoskeletalkey.com/inside-out-and-outside-in-meniscus-repair/>
18. Sposib impregnatsiyi nitratom sribla zamorozhenykh istoriziriv dlya vyhotovlennya peryferiynoyi nervovoyi systemy: pat. № 135108 Ukrayina: G01N 33/15 (2006.01) № u 2019 01025 2019; zayavl. 31.01.2019; opubl. 10.06.2019. [Method of silver nitrate impregnation of frozen histosections to detect structures of peripheral nervous system: US Pat. № 135108 Ukraine: G01N 33/15 (2006.01) 201u201901025 2019; declared 31/01/2019; publ. 06/10/2019].
19. Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennya: Zakon Ukrayiny Vidomosti Verkhovnoyi Rady Ukrayiny [On protection of animals from cruel treatment: Law of Ukraine Information of the Verkhovna Rada of Ukraine]. 2006. № 27, 230 p.
20. Poulsen, M., Johnson, D. (2011). Meniscal injuries in the young, athletically active patient. *The Physician and sportmedicine.* Vol. 39(1), pp. 123–130. Available at: <https://doi.org/10.3810/psm.2011.02.1870>
21. Arnoczky, S.P., Warren, R.F. (1982). Microvasculature of the human meniscus. *Am. J. Sports Med.* Vol. 10, pp. 90–95. Available at: <https://doi.org/10.1177/036354658201000205>
22. Forriol, F. (2009). Growth factors in cartilage and meniscus repair. *Injury.* Vol. 40, pp. 12–16. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(09\)70005-1](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(09)70005-1)
23. Benjamin, M., Evans, E.J. (1990). Fibrocartilage. *Anat.* Vol. 171, pp. 1–15. PMID: PMC1257123
24. Gabrion, A., Aïmedieu, P., Laya, Z., Havet, E., Mertil, P., Grebe, R., Laude, M. (2005). Relationship between ultrastructure and biomechanical properties of the knee meniscus. *Surg Radiol Anat.* Vol. 27(6), pp. 507–510. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00276-005-0031-6>
25. Nakata, K., Shino, K., Hamada, M., Mae, T., Miyama, T., Shinjo, H. (2001). Human meniscus cell: characterization of the primary culture and use for tissue engineering. *Clin Orthop Relat Res.* Vol. 391, pp. 208–218. PMID: 11603705
26. Verdon, P.C., Forsyth, R.G., Wang, J. (2005). Characterisation of human knee meniscus cell phenotype. *Osteoarthritis Cartilage.* Vol. 13, pp. 548–560. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2005.01.010>

27. Van der Bracht, H., Verdonk, R., Verbruggen, G., Elewaut, D., Verdonk, P. (2007). Cell based meniscus tissue engineering. In: Ashammakhi N, Reis R, Chiellini E, editors. Topics in tissue engineering. Vol. 3.

28. Sanchez-Adam, J., Athanasiou, K.A. (2012). Biomechanics of meniscus cells: regional variation and comparison to articular chondrocytes and ligament cells. *Biomech Model Mechanobiol.* Vol. 11(7), pp. 1047–1056. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10237-012-0372-0>.

29. Cengiz, I.F., Pereira, H., Pego, J.M., Sousa, N., Espregueira-Mende, J., Oliveira, J.M., Reis, R.L. Segmental and regional quantification of 3D cellular density of human meniscus from osteoarthritic knee. *J Tissue Eng Regen Med.* Vol. 11(6), pp. 1844–1852. Available at: <https://doi.org/10.1002/term.2082>

30. Johannah, S.A., Kyriacos, A.A. (2012). Biomechanics of Meniscus Cells: Regional Variation and Comparison to Articular Chondrocytes and Ligament Cells. *Biomech Model Mechanobiol.* Vol. 11(7), pp. 1047–1056. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10237-012-0372-0>

31. Rattner, J.B., Matyas, J.R., Barclay, L., Holowaychuk, S., Sciore, P., Lo, I.K., Shrive, N.G., Frank, C.B., Achari, Y., Hart, D.A. (2011). New understanding of the complex structure of knee menisci: implications for injury risk and repair potential for athletes. *Scand J Med Sci Sports.* Vol. 21(4), pp. 543–553. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2009.01073.x>

32. Andrews, S.H., Ronsky, J.L., Rattner, J.B., Shrive, N.G., Janniczky, H.A. (2013). An evaluation of meniscal collagenous structure using optical projection tomography. *BMC Med Imaging.* Vol. 23, pp. 13–21. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2342-13-21>.

33. Harner, C.D., Jansons, M.A., Kanamori, A., Yagi, M., Vogrin, T.M., Woo, S.L. (2000). Biomechanical analysis of a double-bundle posterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med.* Vol. 28(2), pp. 144–151. Available at: <https://doi.org/10.1177/03635465000280020201>

34. Foad, A. (2012). Self-limited healing of a radial tear of the lateral meniscus. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* Vol. 20, pp. 933–936. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00167-011-1660-4>.

35. Yu, H., Adesida, A.B., Jomha, N.M. (2015). Meniscus repair using mesenchymal stem cells - a comprehensive review *Stem Cell Res. Ther.* Vol. 6, 86 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0077-2>

36. Driscoll, M.D., Robin, B.N., Horie, M., Hubert, Z.T., Sampson, H.W., Jupiter, D.C., Tharakan, B., Reeve, R.E. (2013). Marrow stimulation improves meniscal healing at early endpoints in a rabbit meniscal injury model. *Arthroscopy.* Vol. 29, pp. 113–121. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2012.06.023>

37. Dutton, A.Q., Choong, P.F., Goh, J.C., Lee, E.H., Hui, J.H. (2010). Enhancement of meniscal repair in the avascular zone using mesenchymal stem cells in a porcine model. *J Bone Joint Surg Br.* Vol. 92, pp. 169–175. Available at: <https://doi.org/10.1302/0301-620X.92B1.22629>

38. Matsukura, Y., Muneta, T., Tsuji, K., Koga, H., Sekiya, I. (2014). Mesenchymal stem cells in synovial fluid increase after meniscus injury. *Clin. Orthop. Relat. Res.* Vol. 472, pp. 1357–1364. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11999-013-3418-4>

Цито-, фиброархитектоника и васкуляризация внешней (красной) зоны менисков нутрий

Новак В.П., Бевз О.С., Мельниченко А.П., Присяжнюк Н.М., Нечипорук Е.В.

Травмы менисков признаны причиной значительной заболеваемости опорно-двигательного аппарата. Особенности структурной организации различных зон менисков являются необходимым условием для понимания патологий, связанных с коленным суставом. Это позволит расширить и углубить микроморфологические знания и практически применить во время выбора тактики лечения для сохранения менисков, наложения швов при реконструктивной репарации менисков, уменьшит риск сосудистых травм, даст возможность применения тканевой инженерии для регенерации менисков. Ведь на сегодня известно, что только сохранение менисков или незначительная эктомия внутренней зоны, которая не подлежит восстановлению при значительном травмировании, может сохранить здоровье и биомеханику коленного сустава. Целью работы было определение особенностей цито- и фиброморфологической характеристики, а также степени васкуляризации внешней (красной) зоны латерального и медиального менисков коленного сустава у стопоходящих нутрий. Использован комплекс гистологических и нейрогистологических методов исследования. Запатентованный нейрогистологический способ импрегнации выполнен в собственном алгоритме. Подбор животных осуществляли по типу специализации конечности к субстрату. В результате гистологического исследования установлено, что цито-, фиброархитектоника внешней (красной) зоны латерального и медиального менисков нутрий имеет общебиологические признаки, а васкуляризации характерна видоспецифичность. Внешняя (красная) зона менисков нутрий схожа по структуре с плотной оформленной соединительной тканью. Цитоархитектоника представлена клетками фибробластического ряда: фиброцитами, фибробластами и малодифференцированными стволовыми клетками, которые локализируются между коллагеновыми волокнами одиночно, попарно, цепочкой или короткими рядами. Фиброархитектоника – плотно упакованные пучки коллагеновых волокон с четко выраженной параллельной ориентацией. Медиальный мениск имеет насыщенные зоны интраоргана сосудистого питания вследствие расширенных, анастомозирующих капиллярных разветвлений, образованных за счет перфораций перименискальными широкопетлистыми сетками микроциркуляции, которые занимают значительные территории и формируют сосудистые поля, а также многочисленные сосудистые клубочки. В латеральном мениске зона васкуляризации характеризуется ограниченными капиллярными разветвлениями, интервальной и малочисленной пенетрацией капиллярами внешней зоны мениска и лимитированными, локализованными перименискальными сетками.

Ключевые слова: фиброциты, фибробласты, коллагеновые волокна, васкуляризация, сосудистые клубочки, внешняя зона, красная зона, мениск, коленный сустав, нутрия.

Cyto-, fibroarchitectonics and vascularization of the external (red) zone of the coypu's meniscus

Novak V., Bevz O., Melnychenko A., Prisyazhniuk N., Nechiporuk Ye.

Meniscus injuries are recognized as the cause of significant morbidity of the musculoskeletal system. Features of

the structural organization of the various meniscus zones are a necessary for understanding pathologies associated with the knee joint. This will expand and deepen micromorphological knowledge and practically apply during the choice of treatment tactics for meniscus preservation, suturing during reconstructive meniscus repair, reduce the risk of vascular injuries, and make it possible to use tissue engineering for meniscus regeneration. Indeed, today it is known that only the preservation of menisci or a slight ectomy of the inner zone, which cannot be restored with significant injury, can preserve the health and biomechanics of the knee joint. The aim of our work was to determine the characteristics of the cyto- and fibromorphological characteristics, as well as the degree of vascularization of the external (red) zone of the lateral and medial menisci of the knee joint in foot-moving coypus. A complex of histological and neurohistological research methods was used in the work. The patented neurohistological method of impregnation is performed in its own algorithm. The selection of animals was carried out according to the type of specialization of the limb to the substrate. As a result of histological examination, it was found that cyto-fibroarchitectonics of the external (red)

zone of the lateral and medial menisci of the coypus has general biological signs, and species-specificity is characteristic of vascularization. The external (red) zone of the coypu's meniscus is similar in structure to the dense, formed connective tissue. Cytoarchitectonics is represented by of the fibroblastic typecells: fibrocytes, fibroblasts and undifferentiated stem cells, which are localized between collagen fibers individually, in pairs, in a chain or in short rows. Fibroarchitectonics – tightly packed bundles of collagen fibers with a pronounced parallel orientation. The medial meniscus has saturated zones of intraorgan vascular nutrition due to dilated, anastomosing capillary branches formed by perforations with perimeniscal broad-loop microcirculation nets that occupy large areas and form vascular fields, as well as numerous vascular glomeruli. In the lateral meniscus, the vascularization zone is characterized by limited capillary branches, interval and small penetration by capillaries of the meniscus red zone, and limited, localized perimeniscal nets.

Key words: fibrocytes, fibroblasts, collagen fibers, vascularization, vascular glomeruli, external zone, red zone, meniscus, knee joint, coypu.



Copyright: © Новак В.П. та ін. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Новак В.П.	ID https://orcid.org/0000-0002-4741-648X
Бевз О.С.	ID https://orcid.org/0000-0003-0218-1784
Мельниченко А.П.	ID https://orcid.org/0000-0002-1157-1672
Присяжнюк Н.М.	ID https://orcid.org/0000-0002-4737-0143
Нечипорук Є.В.	ID https://orcid.org/0000-0001-8256-4288

ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК (591.17+591.4):6369.21

Морфогенез осередків окостеніння кісткових органів поросят у ранньому постнатальному періоді онтогенезу

Оліяр А.В. , Лещова М.О. , Логвінова В.В. 

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

 E-mail: oliiar.a.v@dsau.dp.ua; lieshchova.m.o@dsau.dp.ua; 16051984@i.ua



Оліяр А.В., Лещова М.О., Логвінова В.В.
Морфогенез осередків окостеніння кісткових органів поросят у ранньому постнатальному періоді онтогенезу. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 113–120.

Olijar A. V., Ljeshhova M. O., Logvinova V. V.
Morfogenez oseredkiv okosteninnja kistkovykh organiv porosjat u rann'omu postnatal'nomu periodi ontogenezu. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 113–120.

Рукопис отримано: 24.03.2020р.

Прийнято: 13.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-113-120

Динаміка росту та розвитку основних і додаткових осередків окостеніння кісткових органів дає можливість з'ясування закономірностей зміни їх тканинних компонентів і наступну вікову ремоделювання за виконання біомеханічної та кровотворної функцій. Особливості морфогенезу кровотворних компонентів скелета в продуктивних тварин необхідно враховувати при визначенні етіопатогенезу та розробці методів лікування і профілактики інфекційних захворювань, імунодефіцитних і анемічних станів у молодняку. Досліджували кісткові органи (9-й грудний хребець, стегнова кістка) від клінічно здорових новонароджених, 5-, 10-, 15- та 20-добових поросят (n=5) білої української породи, вирощених за традиційними технологіями. Рентгенологічними дослідженнями в органах універсального гемопоезу визначали наявність і ступінь розвитку діа-, епі- та апофізарних осередків окостеніння, а також особливості структури губчастої і компактної кісткової тканин. Визначення відносної площі осередків окостеніння на рентгенограмах проводили методом “крапкового підрахунку” з використанням окулярних тестових систем за методикою Г.Г. Автандилова. У новонароджених поросят у кістках осового скелету виявляються лише діафізарний (тіла) осередок окостеніння та дужки, тоді як у кістках периферійного – діа- та епіфізарні, а також апофізарний (більшого вертлюга). Із віком у кістках кінцівок кількість їх не змінюється, а осового скелету – окрім раніше сформованих діафізарного і дужки, з'являються епіфізарні (голівки та ямки), починаючи з 20-добового віку. В усіх кістках спостерігається збільшення розмірів і відносної площі раніше сформованих осередків окостеніння. У кісткових органах всіх вікових груп превалює дрібнокоміркова губчаста кісткова тканина, тоді як компактна на момент народження наявна лише в периферійному скелеті, а в осовому – вперше з'являється у тілі хребця 10-добових, а також у дужці – 20-добових поросят. Товщина метафізарних хрящів, субхондральних кісток суглобових хрящів, а також епі- та діаметафізарної субхондральних кісток з віком помірно збільшується.

Ключові слова: органи кровотворення та імунного захисту, скелет, кісткові органи, основні і додаткові осередки окостеніння, кісткова тканина, поросята.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Органи кровотворення та імунного захисту входять до складу групи інтегруючих систем, що забезпечують структурний гомеостаз і обумовлюють ріст, розвиток та життєздатність організму [1, 2]. Вочевидь, з цієї причини дослідження особливостей їх морфо-

функціонального статусу в різних видів ссавців та птиці є популярними серед дослідників різних напрямів [3–11]. Орган універсального кровотворення та центральний орган імунного захисту – кісткова система, як інтегруюча опорна конструкція організму, є однією із найголовніших структур в імунній кооперації захисту

організму. Її невід'ємною складовою частиною є кістковий мозок, в якому, завдяки наявності популяції стовбурових клітин, утворюються клітини як мієлоїдного, так і лімфоїдного рядів [12, 13]. Нащадки стовбурових клітин постійно мігрують в інші органи гемо- та лімфоцитопоезу і диференціюються в різних напрямках [14].

Динаміка росту й розвитку осередків окостеніння кісткових органів дає можливість розуміти не лише закономірності змін тканинних компонентів, але й дозволяє виявити інтенсивність осифікації і особливості структури діа-, епі- та апофізарних осередків, а також їх подальшу вікову ремоделювання за виконання біомеханічної і кровотворної функцій. Основні відомості про особливості морфогенезу кровотворної функції скелета в продуктивних тварин необхідно враховувати при визначенні етіопатогенезу та розробці методів лікування і профілактики інфекційних захворювань, імунодефіцитних та анемічних станів у молодняку [15].

Територія для розвитку кісткового мозку в ссавців – це комірки губчастої кісткової речовини осередків окостеніння, які закладаються та найбільш інтенсивно розвиваються до народження, протягом плідного періоду [16, 17]. Отже, динаміка формування основних та додаткових осередків осифікації в скелеті плодів і закономірності змін їхньої відносної площі є показниками, що значною мірою відображають загальні принципи розвитку «кровотворної території» із визначенням ролі в цьому процесі кожного з осередків або певних їх груп [16].

Мета дослідження – визначити особливості кількісної і якісної динаміки росту та розвитку осередків окостеніння в кісткових органах свині свійської в ранньому постнатальному періоді онтогенезу.

Матеріал і методи дослідження. Роботу виконували на кафедрі нормальної і патологічної анатомії сільськогосподарських тварин і в лабораторії гістології, імуноцитохімії та патоморфології науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Матеріал відбирали від клінічно здорових поросят білої української породи, вирощених у свинарських господарствах за класичною технологією вирощування. Досліджували кісткові органи (9-й грудний хребець, стегнова кістка) новонароджених, 5-, 10-, 15- та 20-добових поросят ($n = 5$). Маса тіла тварин, її динаміка відповідали породі та віку. Наявність і ступінь розвитку діа-, епі- та апофізарних осередків окостеніння (ООК), а також особливості структури губчастої та компактно-ї кісткової тканин (КТ) в органах універсально-

го гемопоєзу визначали на рентгенограмах, виготовлених на рентгенологічному апараті «Арман-1» (модель 9Л15), напруга на трубці 75 кВ, фокусна відстань 40 см, анодний струм до 100 міліампер на секунду (2–4 рази). Визначення відносної площі (ВП) ООК на рентгенограмах проводили методом “крапкового підрахунку” з використанням окулярних тестових систем (вставок) за методикою Г.Г. Автандилова [18]. Після підрахунку крапок, які припали на всю площу рентгенівського зображення і окремих ООК кісткового органа, величину ВП ООК вивраховували за формулою:

$$\text{Свідн.} = P_k / P_z \times 100\%,$$

де Свідн. – відносна площа осередків окостеніння, %;

P_k – кількість крапок, які припадають на площу окремих осередків епихондрального окостеніння;

P_z – кількість крапок, які припадають на всю площу рентгенографічного відображення кісткового органа.

Отримані результати досліджень статистично оброблені, в таблиці 1 дані представлені у вигляді середніх значень ($\bar{x}$) та їх стандартних відхилень (SD). Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стюдента, результати вважали вірогідними за $p < 0,05$.

Результати дослідження. Встановлено, що в добових поросят ВП діафізарного (тіла) ООК і дужки 9-го грудного хребця не перевищує $68,7 \pm 0,83$ % (табл. 1). В основі дужки хребця та діафізарного ООК лежить дрібнокоміркова губчаста КТ, епіфізи хрящові. Комірковий рисунок губчастої КТ виражений чітко, особливо в центрі тіла, трабекули тонкі, мають радіальну спрямованість до епіфізів, розміщуються тісно один до одного, утворюючи дрібну сіточку. Компактна КТ у тілі хребця практично не виділяється. Смушка субхондральної кістки по периферії діафізарного ООК дуже тонка (0,1 мм) (рис. 1). ВП ООК (епі-, діа- і апофізарного) стегнової кістки в новонароджених поросят становить $67,8 \pm 1,08$ % (табл. 1). ООК проксимального епіфіза стегнової кістки овально-втягнутої форми (2×6 мм), вічкова структура згладжена, тоді як ООК дистального епіфіза округло-овальної форми (5×10 мм) має чіткішу структуру. В проксимальній і дистальній ділянках діафіза поздовжньо-втягнуті і рентгенконтрастні трабекули утворюють чітку дрібнокоміркову сітку губчастої КТ. У середній, кістковомозковій ділянці діафіза ($3,5 \times 9$ мм), трабекули потовщуються, набуваючи не лише поздовжню, а й поперечну орієнтацію, розміщуються рідше, зумовлюючи розрідження дрібнокоміркової сітки губчастої КТ.

Таблиця 1 – Динаміка ВП ООК деяких кісткових органів поросят ($s \pm SD$; $n = 5$)

Вік, діб	ВП ООК, %	
	9-ий грудний хребець	стегнова кістка
Добові	$68,7 \pm 0,83$	$67,8 \pm 1,08$
5	$70,6 \pm 1,15$	$73,3 \pm 1,14^*$
10	$73,0 \pm 1,25$	$75,7 \pm 1,04$
15	$73,3 \pm 1,79$	$76,4 \pm 1,07$
20	$73,7 \pm 1,82$	$78,4 \pm 1,93$

Примітка: * – $p < 0,05$, порівняно з попередньою віковою групою.

Компактна КТ виділяється в середній ділянці діафіза, товщина її складає 1–1,5 мм, зменшуючись у напрямку до епіфізів. Периостальна поверхня рівна, а ендостальна – дещо звивиста. Суглобові хрящі проксимального і дистального епіфізів однорідної рентгенщільності, їх субхондральні кістки на рентгенограмах не виділяються. Епіметафізарна субхондральна кістка нечітка, її товщина не перевищує 0,1–0,2 мм. Метафізарний хрящ обох епіфізів нерівномірної товщини, лінія його просвітлення звивиста. Діаметафізарна субхондральна кістка епіфізів однакової структури, товщиною близько 0,2 мм (рис. 2).

Із віком, у 5-добових поросят поряд зі збільшенням розмірів кісткових органів відбувається помірний їх остеогенез, особливо в стегновій кістці. ВП ООК 9-го грудного хребця збільшується на 1,9 %. Дрібнокоміркова губчаста КТ спостерігається в тілі і дужці, сітчастий рисунок чіткий, епіфізи, як і раніше, хрящові. Компактна КТ не виявляється. На краніальному і каудальному кінцях діафіза виділяється тонка, однорідна смужка субхондральної кістки. Сумарна ВП

ООК у стегновій кістці зростає на 5,5 % ($p < 0,05$). Розмір ООК проксимального епіфіза досягає 4×8 мм, дистального – $7,5 \times 1,5$ мм, апофізарного – 3×4 мм. Вони утворені дрібнокомірковою губчастою КТ, сітчастий рисунок якої дещо згладжений у діафізарному ООК. Кістковомозкова ділянка досягає $3,5 \times 12$ мм. Компактна КТ товщиною 1–2 мм у середній ділянці, шаруватість структури не чітка. Субхондральні кістки суглобового хряща епіфізів практично не виділяються. Епі- та діаметафізарні субхондральні кістки епіфізів мають вигляд смужок товщиною 0,2 мм. Проксимальний і дистальний метафізарний хрящі у вигляді звивистих смужок, нерівномірної товщини.

У 10-добовому віці поросят рентгенанатомічні особливості кісткових органів характеризуються ростом уже сформованих ООК. ВП ООК 9-го грудного хребця збільшується на 2,4 %, вони утворені дрібнокомірковою губчастою КТ, трабекули якої потовщуються. На дорсальній і вентральній поверхнях тіла вперше з'являються смужки (0,1–0,2 мм) компактної КТ. Товщина субхондральної кістки тіла не перевищує 0,1–0,2 мм. ВП ООК стегнової кістки зростає на 2,4 %. Відмічається збільшення розмірів проксимального ($3,5 \times 9$ мм) і дистального (8×13 мм) епіфізарних, апофізарного (3×5 мм) ООК, які, здебільшого, округло-овальної форми, утворені дрібнокомірковою губчастою КТ, трабекули її подовжуються і потовщуються, в результаті сітчастий рисунок чіткий. В діафізі також дрібнокоміркова губчаста КТ, а в середній третині – кістковомозкова ділянка (4×12 мм). Товщина компактної КТ у середній ділянці не змінюється, периостальна її поверхня рівна, ендостальна – звивиста. Епі- (0,2–0,4 мм) і ді-



Рис. 1. Рентгенограма 9-го грудного хребця новонародженого поросяти: 1 – ООК діафіза; 2 – краніальний епіфізарний хрящ (голівки); 3 – каудальний епіфізарний хрящ (ямки).

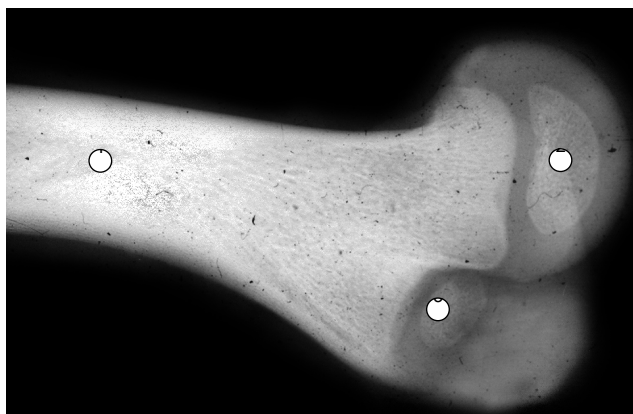


Рис. 2. Рентгенограма стегнової кістки новонародженого поросяти: 1 – ООК діафіза; 2 – ООК проксимального епіфіза; 3 – ООК апофіза (більшого вертлюга).

аметафізарні (0,5–0,6 мм) субхондральні кістки проглядаються у вигляді чітких смуг високої рентгенщільності. Проксимальний та дистальний метафізарні хрящі виділяються у вигляді звивистих смужок майже рівномірної товщини.

У 15-добових поросят у 9-му грудному хребці ВП ООК тіла і дужки має тенденцію до збільшення на 0,4 %, голівка і ямка, як і раніше, хрящові. Сітчастий рисунок дрібнокоміркової губчастої КТ чіткий, а компактна КТ виділяється лише на дорсальній і вентральній поверхнях тіла. Структура субхондральної кістки діафізарного ООК без суттєвих змін. ВП ООК стегнової кістки також має тенденцію до збільшення на 0,7 %, що супроводжується майже незмінними розмірами проксимального (3,5×8 мм) і дистального (7×12 мм) епіфізарних, а також апофізарного (3×5 мм) ООК. В діафізі переважає дрібнокоміркова губчаста КТ, розміри кісткомозкової ділянки практично без змін (3,5×12 мм). Товщина компактної КТ у середній ділянці зростає до 3 мм.

У 20-добових поросят у 9-му грудному хребці, окрім ООК тіла і дужки, вперше з'являються епіфізарні (голівки та ямки) ООК (рис. 3), сумарна ВП яких має тенденцію до збільшення на 0,4 %. В ООК переважає дрібнокоміркова губчаста КТ, сітчастий рисунок її чіткий. Окрім діафіза, компактна КТ з'являється в дужці. В стегновій кістці ВП раніше сформованих ООК зростає на 1,8 %. Проксимальний епіфізарний ООК досягає розмірів 4,5×10 мм, дистальний – 7,5×16 мм, а апофізарний – 4×5 мм. Їх КТ, а також проксимальної і дистальної ділянок діафіза дрібнокоміркова губчаста, сітчастий рисунок її чіткий внаслідок потовщення кісткових трабекул. Розміри кісткомозкової ділянки діафіза збільшуються до 5×15 мм. Товщина компактної КТ практично не змінюється (2,5–3 мм).



Рис. 3. Рентгенограма 9-го грудного хребця 20-добового поросяти: 1 – ООК діафіза; 2 – ООК краніального епіфіза (голівки); 3 – ООК каудального епіфіза (ямки).

Обговорення. Аналіз результатів власних досліджень і даних інших авторів із питань структурних перетворень органів кровотворення та імунного захисту в поросят у ранньому постнатальному періоді онтогенезу вказує на його залежність від морфофункціонального становлення в пренатальному онтогенезі і особливостей адаптивних змін, зумовлених заміщенням їх ембріональних структур на функціональні [10, 19–21].

Як показують результати досліджень різних авторів, найбільш зрілими на момент народження поросят є кісткові органи з їх невід'ємним компонентом – кістковим мозком [20–23].

Морфофункціональні особливості органів гемоімунотопозу поросят зумовлені їхнім організаційним статусом – матурантністю (зрілість народження) [19].

Характерно, що в зрілонароджуючих тварин (телята, ягнята, лоша, поросята) кісткові органи, особливо периферійного скелета, відрізняються високим ступенем пренатального остеогенезу, що підтверджується наявністю у них на момент народження усіх основних і додаткових ООК [4, 10, 19–21]. Апофізарний ООК більшого вертлюга вказує на особливість пренатального остеогенезу і може бути одним з критеріїв морфофункціональної оцінки кісткової системи, що визначає життєздатність неонатальних тварин [24]. У незрілонароджуючих ссавців (цуценята, кошенята, щурята) протягом ембріогенезу в кістках формуються лише великі основні (діафізарні) ООК, тоді як епі- та апофізарні з'являються після народження [3].

Рентгенологічними дослідженнями кісткових органів осового скелета у новонароджених поросят встановлено наявність лише діафізарного ООК та дужки, а кінцівок – добре розвинутих діа- та епіфізарних, а також апофізарного, що співпадає з даними інших дослідників [10, 21].

Результати досліджень показують, що ВП ООК у кісткових органах поросят складає більш ніж 60 %. У них переважає дрібнокоміркова губчаста КТ, а компактна – виявляється лише в діафізі стегнової кістки. Розподіл і кількісне співвідношення компактної та губчастої КТ визначається функцією кістки.

Осифікація скелету, тобто ступінь розвитку діа-, епі і апофізарних осередків окостеніння, визначає особливості формування кровотворної ділянки, зумовлює гемопоетичну функцію кісткового мозку. Тому масштаби окостеніння безпосередньо визначають кісткоутворювальний потенціал і кровотворну активність остеобластичного та гемопоетичного кісткового

мозку в скелеті загалом і в кожній окремій кістці [25–30].

Висновки. У новонароджених поросят у кістках осового скелету (9-ий грудний хребець) виявляються лише діафізарний (тіла) ООК та дужки, тоді як у кістках периферійного (стегнова кістка) – діа- та епіфізарні, а також апофізарний (більшого вертлюга). Із віком, у кістках кінцівок кількість їх не змінюється, а осового скелету – окрім раніше сформованих діафізарного і дужки, з'являються епіфізарні (голівки та ямки), починаючи з 20-добового віку. В усіх кістках спостерігається збільшення розмірів та ВП раніше сформованих ООК. У кісткових органах всіх вікових груп превалює дрібнокоміркова губчаста КТ, тоді як компактна на момент народження є лише в периферійному скелеті, а в осовому – вперше з'являється у тілі хребця 10-добових, а також у дужці – 20-добових поросят. Товщина метафізарних хрящів, субхондральних кісток суглобових хрящів, а також епі- та діаметафізарної субхондральних кісток з віком помірно збільшується.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Експериментальні дослідження проведені із дотриманням вимог статті 26 Закону України №5456-VI від 16.10.2012 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Директиви ЄС 86/609/ЄЕС від 24.11.1986 р., узгоджуються з основними принципами Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18.03.1986 р.), декларації «Про гуманне ставлення до тварин» (Гельсінкі, 2000 р.) і Першого Національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (Київ, 20.09.2001 р.).

Відомості про конфлікт інтересів. Відсутній конфлікт інтересів щодо вкладу авторів та результатів дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бабаева А. Г. Кроветворные и лимфоидные органы. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. Москва, 1987. 215 с.
2. Донцов В. И. Иммунобиология постнатального развития. Москва: Наука, 1990. 152 с.
3. Снеткова П. О. Морфофункціональні особливості кісткової системи собак неонатального та молочного періодів: автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.02. Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2010. 23 с.
4. Сосонний С. В. Закономірності морфогенезу кровотворних компонентів скелета плодів великої рогатої худоби: автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.02. Харківська державна зооветеринарна академія. Харків, 2012. 23 с.
5. Гаврилін П. М., Перетятко О. В. Особливості постнатального морфогенезу та структурно-функціональної спеціалізації паренхіми лімфатичних вузлів птиці. Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. 2012. Т.1. №1. С. 16–22. URL: http://base.dnsgb.com.ua/files/journal/Bulet-en-boobezpeky/Bulet-biobezpeky-2012-%D0%A21-%E2%84%961/Bulet-biobezpeky-2012-%D0%A21%E2%84%961_%D1%81%D1%82%D0%BE%D1%80.%2016-22.pdf
6. New patterns of the growing L3 vertebra and its 3 ossification centers in human fetuses – a CT, digital, and statistical study / Szpinda M. et al. Med Sci Monit Basic Res. 2013. Vol. 19. P. 169–180. Doi: <https://doi.org/10.12659/MSMBR.883956>
7. Барсукова В.В. Особливості імунних структур тонкої кишки мускусних качок в ранньому постнатальному онтогенезі. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва». 2013. Вип. 188(1). С. 43–49. URL: <https://dspace.dsau.dp.ua/jspui/handle/123456789/1877>
8. Cross-sectional study of the ossification center of the C1–S5 vertebral bodies / Szpinda M. et al. Surg Radiol Anat. 2013. Vol. 35. P. 395–402. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00276-012-1045-5>
9. Ossification of the vertebral column in human foetuses: histological and computed tomography studies / Skórzewska A. et al. Folia Morphol. 2013. Vol. 72. No. 3. P. 230–238. Doi: <https://doi.org/10.5603/FM.2013.0038>
10. Мирний О. М. Особливості динаміки росту та розвитку осередків енхондрального остеогенезу та універсального гемопоезу в скелеті плодів свині свійської. Наукові праці Південного філіалу Національного університету біоресурсів і природокористування України "Кримський агротехнологічний університет". Серія: Ветеринарні науки. 2013. Вип. 151. С. 294–298. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Npkaui_2013_151_52
11. Рахмун Д. Е. Закономірності структурно-функціональної організації і зональної спеціалізації паренхіми лімфатичних вузлів верблюда свійського (Camelus Dromedarius): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: 16.00.02. Харківська державна зооветеринарна академія. Харків, 2016. 26 с.
12. Сапин М. Р., Этинген Л. Е. Иммунная система человека. Москва: Медицина, 1996. 304 с. URL: <https://www.libex.ru/detail/book41612.html>
13. Рабсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. Москва: Мир, 2006. 320 с. URL: <https://www.twirpx.com/file/1498199/>
14. Чертков И. Л. Стволовая кроветворная клетка и её дифференцировка в миелоидном и лимфоидном направлении. Иммуногенез и клеточная дифференцировка. Москва, 1978. С. 102–127.
15. Еверт В.В., Гаврилін П.М., Лещова М.О. Морфометрична характеристика органів універсального гемопоезу поросят у період постнатальної адаптації. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки. 2018. 20(83). С. 13–18. Doi: <https://doi.org/10.15421/nvlvet8303>
16. Фриденштейн А. Я. Стромальные клетки костного мозга и кроветворное микроокружение. Архив патологии. 1982. Т. 44. № 10. С. 3–11.

17. Торубарова Н. А., Кошель И. В., Яцык Г. В. Кроветворение плода и новорожденного. Москва: Медицина, 1993. 208 с. URL:<http://patrick-book.ru/torubarova-n.-a.,-koshel-i.-v.,-yacyk>

18. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Москва: Медицина, 1990. 384 с. URL:<https://www.twirpx.com/file/662076/>

19. Биологические основы ветеринарной неонатологии / Х. Б. Баймишев и др. Самара: РИЦ СГСХА, 2013. 452 с. URL:<https://rucont.ru/efd/231941>

20. Мирний О. М., Оліяр А. В. Закономірності морфогенезу кровотворних компонентів органів універсального кровотворення та імунного захисту в плодів свині свійської. Науково-технічний бюлетень Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. 2014. Т. 2. №1. С. 37–43. URL:http://nbuv.gov.ua/UJRN/ndbnnndc_2014_2_1_7

21. Оліяр А. В., Лещова М. О. Структурно-функціональна організація центральних органів кровотворення та імунного захисту поросят протягом раннього постнатального періоду онтогенезу. Theoretical and Applied Veterinary Medicine. 2019. 7(1). С. 8–13. Doi: <https://doi.org/10.32819/2019.71002>

22. Gavrilin P., Oliyars A., Myrnyi O. Peculiarities of morphogenesis of universal hematopoiesis and immune protection in fetuses of domestic pig. The Animal Biology. 2016. Т. 18. №4. С. 30–34. Doi:<http://dx.doi.org/10.15407/animbiol18.04.030>

23. Структурно-функціональна організація кістково-го мозку поросят / Гаврилін П. М. та ін. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. 2017. Т. 19. № 77. С. 32–37. Doi:<https://doi.org/10.15421/nvlvet7708>

24. Грабчак Ж. Г. Морфофункціональні особливості бедренних кісток неонатальних телят. Ветеринарна медицина: міжвідомчий тематичний науковий збірник. 2000. Вип. 77. С. 106–111.

25. Travlos G. S. Normal Structure, Function, and Histology of the Bone Marrow. Toxicologic Pathology. 2006. Vol. 34(5). P. 548–565. Doi:<https://doi.org/10.1080/01926230600939856>

26. Baumgart M., Szpinda M., Szpinda A. New anatomical data on the growing C4 vertebra and its three ossification centers in human fetuses. Surgical and Radiologic Anatomy. 2012. Vol. 35(3). P. 191–203. URL:<https://link.springer.com/article/10.1007/s00276-012-1022-z>

27. Morphometric study of the T6 vertebra and its three ossification centers in the human fetus / Szpinda M. et al. Surgical and Radiologic Anatomy. 2013. Vol. 35(10). P. 901–916. URL:<https://cyberleninka.org/article/n/303435/viewer>

28. Extracellular vesicles released from mesenchymal stromal cells stimulate bone growth in osteogenesis imperfecta / Otsuru S. et al. Cytotherapy. 2017. P. 1–12. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.09.012>

29. Hematopoietic derived cells do not contribute to osteogenesis as osteoblasts / Otsuru S. et al. Bone. 2017. Т. 94. P. 1–9. Doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2016.10.003>

30. Morphogenesis of the sternum in quail embryos / Araby N. et al. SVU-International Journal of Veterinary Sciences. 2018. Vol. 1(1). P. 16–24. URL:<https://www.semanticscholar.org/paper/Morphogenesis-of-the-Sternum-in-Quail-Embryos.-Araby-Soliman/ed35104e3650f22e8290cf550c429ade5e667517>

REFERENCES

1. Babaeva, A. H. (1987). Krovetvornie i lymfoidnye orhani. Strukturnie osnovi adaptatsyy i kompensatsyy narushennikh funktsiy [Haematopoietic and lymphoid organs. Structural bases of adaptation and compensation of impaired functions]. Moscow, 215 p.

2. Dontsov, V. Y. (1990). Immunobiologiya postnatalnogo razvitiya [Immunobiology of postnatal development]. Moscow, Science, 152 p.

3. Snetkova, P. O. (2010). Morfofunktsionalni osoblyvosti kistkovoï systemy sobak neonatalnoho ta molochnoho periodiv: avtoref. dys. ... dokt. vet. nauk: 16.00.02; Natsionalnyi universytet bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy [Morphological and functional features of the neonatal and milk period dogs system of dogs: abstract dis. ... cand. vet. sciences: 16.00.02; National university bioresource and environmental management of Ukraine]. Kyiv, 23 p.

4. Sosonniy, S. V. (2012). Zakonomirnosti morfohenezu krovotvornykh komponentiv skeleta plodiv velykoï rohatoi khudoby: avtoref. dys. ... kand. vet. nauk: 16.00.02; [The law of morphogenesis of the blood-creating components of the skeleton of the fetus of neat: abstract dis. ... cand. vet. sciences: 16.00.02]. Kharkivska derzhavna zooveterynarna akademiia [Kharkivska State Veterinary Academy]. Kharkiv, 23 p.

5. Gavrilin, P. M., Peretyatko, O. V. (2012). Osoblyvosti postnatalnoho morfohenezu ta strukturno-funktsionalnoi spetsializatsii parenkhimy limfatychnykh vuzliv pytysi [Peculiarities of postnatal morphogenesis and structurally functional special parenchyma of lymphatic nodes in birds]. Naukovo-tekhnichnyi biuleten NDTs biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK [Science and technology bulletin of NDC for environmental protection and environmental control of agricultural resources]. Vol. 1, no. 1, pp. 16–22. Available at:http://base.dnsgb.com.ua/files/journal/Bulet-boobezpeky/Bulet-biobezpeky-2012-%D0%A21-%E2%84%961/Bulet-biobezpeky-2012-%D0%A21%E2%84%961_%D1%81%D1%82%D0%BE%D1%80.%2016-22.pdf

6. Szpinda, M., Baumgart, M., Szpinda, A., Woźniak, A., Miła-Kierzenkowska, C. (2013). New patterns of the growing L3 vertebra and its 3 ossification centers in human fetuses – a CT, digital, and statistical study. Med Sci Monit Basic Res. Vol. 19, pp. 169–180. Available at:<https://doi.org/10.12659/MSMBR.883956>

7. Barsukova, V. V. (2013). Osoblyvosti imunnykh struktur tonkoi kyshky muskusnykh kachok v rannomu postnatalnomu ontogenezi [Features of immune structures of the small intestine of musky ducks in early postnatal ontogeny]. Naukovyi visnyk Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy. [Scientific Bulletin of the National university bioresource and environmental management of Ukraine]. Seriya: «Veterynarna medytsyna, yakist i bezpeka produktsii tvarynyntstva» [Series: «Veterinary medicine, quality and safety of animal husbandry products»]. Vol. 188 (1), pp. 43–49. Available at:<https://dspace.dsau.dp.ua/jspui/handle/123456789/1877>

8. Szpinda, M., Baumgart, M., Szpinda, A., Woźniak, A., Małkowski, B., Wisniewski, M., Miła-Kierzenkowska, C., Kroliczewski, D. (2013). Cross-sectional study of the ossification center of the C1–S5 vertebral bodies. Surg Radiol Anat. Vol. 35, pp. 395–402. Available at:<https://doi.org/10.1007/s00276-012-1045-5>

9. Skórzewska, A., Grzymisławska, M., Bruska, M., Łupicka, J., Woźniak, W. (2013). Ossification of the vertebral column in human foetuses: histological and computed tomog-

raphy studies. *Folia Morphol.* 72(3), pp. 230–238 Available at: <https://doi.org/10.5603/FM.2013.0038>

10. Mirnyi, O. M. (2013). Osoblyvosti dynamiky rostu ta rozvytku osередkiv enkhondralnoho osteohistohenezu ta universalnoho hemopoezu v skeleti plodiv svyni sviiskoi [Peculiarities of the dynamics of growth and development of centers of endochondral osteogenesis and universal hematopoiesis in the skeleton of fetus pig domestic]. *Naukovi pratsi Pivdennoho filialu Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy «Krymskyi ahrotekhnolohichnyi universytet»*. [Scientific works of the Southern filiation of the National university bioresource and environmental management of Ukraine «Crimean Agrotechnological University»]. Seria: Vetrynarni nauky [Series: Veterinary sciences]. Issue 151, pp. 294–298. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Npkau_2013_151_52

11. Rahmoune, D.E. (2016). Zakonomirnosti strukturno-funktsionalnoi orhanizatsii i zonalnoi spetsializatsii parenkhimy limfatychnykh vuzliv verbluuda sviiskoho (Camelus Dromedarius): avtoref. dys. ... kand. vet. nauk: 16.00.02 [Regularity of structural and functional organization and zonal specialization of the camel domestic lymph node parenchyma (Camelus Dromedarius): abstract dis. ... cand. vet. sciences: 16.00.02]. *Kharkivska derzhavna zoovetrynarna akademiia* [Kharkivska State Veterinary Academy]. Kharkiv, 26 p.

12. Sapin, M.R., Etingen, L. E. (1996). Immunnaya sistema cheloveka [Human immune system]. Moscow, Medicine, 304 p. Available at: <https://www.libex.ru/detail/book41612.html>

13. Rabson, A., Rojt, A., Delvz, P. (2006). Osnovy medicinskoj immunologii [Fundamentals of Medical Immunology]. Moscow: Peace, 320 p. Available at: <https://www.twirpx.com/file/1498199/>

14. Chertkov, I.L. (1978). Stvolovaya krovotvornaya kletka i eyo differencirovka v mieloidnom i limfoidnom napravlenii. Immunogenez i kletochnaya differencirovka [Hematopoietic stem cell and its differentiation in myeloid and lymphoid directions. Immunogenesis and cell differentiation]. Moscow, pp. 102–127.

15. Evert, V. V., Gavrilin, P.M., Lieshchova, M. O. (2018). Morfometrychna kharakterystyka orhaniv universalnoho hemopoezu porosiat u period postnatalnoi adaptatsii [Morphometric characterization of universal hematopoietic organs in piglets during postnatal adaptation]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu vetrynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Gzhytskoho*. Seria: Vetrynarni nauky [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Series: Veterinary sciences. 20(83), pp. 13–18. Available at: <https://doi.org/10.15421/nvlvet8303>

16. Friedensteyn, A. Ya. (1982). Stromalnye kletki kostnogo mozga i krovotvornoe mikrookruzhenie [Bone marrow stromal cells and hematopoietic microenvironment]. *Arhiv patologii* [Pathology Archive]. Vol. 44. no.10, pp. 3–11.

17. Torubarova, N. A., Koshel, I. V., Yatsyk, G. V. (1993). Krovotvorenie ploda i novorozhdennogo [Hematopoiesis of the fetus and newborn]. Moscow, Medicine, 208 p. Available at: <http://patrick-book.ru/torubarova-n.-a.,-koshel-i.-v.,-yac>

18. Avtandilov, G.G. (1990). Medicinskaya morfometriya [Medical morphometry]. Moscow, Medicine, 384 p. Available at: <https://www.twirpx.com/file/662076/>

19. Bajmishchev, H. B., Krishtoforova, B. V., Lemeschenko, V. V., Stegnej, Zh. G., Hrustaleva, I. V. (2013). Bio-

logicheskie osnovy vetrynarnoi neonatologii [Biological bases of veterinary neonatology]. Samara, RIC SGSZA, 452 p. Available at: <https://rucont.ru/efd/231941>

20. Mirnyi, O. M., Oliyar, A. V. (2014). Zakonomirnosti morfohenezu krovotvornykh komponentiv orhaniv universalnoho krovotvorennia ta imunnoho zakhystu v plodiv svyni sviiskoi [The law of morphogenesis hematopoietic components haematogenesis universal and immune protection organs of the domestic fetuses pig]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten Naukovo-doslidnoho tsentru biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK* [Science and technology bulletin of NDC for environmental protection and environmental control of agricultural resources]. Vol. 2, no.1, pp. 37–43. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ndbnndc_2014_2_1_7

21. Oliyar, A.V., Lieshchova, M.O. (2019). Strukturno-funktsionalna orhanizatsiia tsentralnykh orhaniv krovotvorennia ta imunnoho zakhystu porosiat protiahom rannoho postnatalnoho periodu ontogenezu [Structural and functional organization of central organs of hematopoiesis and immune protection of piglets during the early postnatal period of ontogenesis]. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. Vol. 7. no.1, pp. 8–13. Available at: <https://doi.org/10.32819/2019.71002>

22. Gavrilin, P., Oliyar, A., Myrnyi, O. (2016). Peculiarities of morphogenesis of universal hematopoiesis and immune protection in fetuses of domestic pig. *The Animal Biology*. Vol. 18, no. 4, pp. 30–34. Available at: <http://doi.org/10.15407/animbiol18.04.030>

23. Gavrilin, P. M., Lieshchova, M. O., Evert, V. V., Myrnyi, O. M. (2017). Strukturno-funktsionalna orhanizatsiia kistkovoho mozku porosiat [The structural and functional organization of piglets' bone marrow]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu vetrynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Gzhytskoho* [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv] Vol.19, no. 77, pp. 32–37. Available at: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7708>

24. Grabchak, Zh. G. (2000). Morfofunktsionalnye osobennosti bedrennykh kostey neonatalnykh telyat [Morphofunctional features of the femurs of neonatal calves]. *Vetrynarna medytsyna: Mizhvidomchyi tematychnyi naukovyi zbirnyk* [Veterinary medicine: Interdepartmental themed science compilation]. Issue 77, pp. 106–111.

25. Travlos, G. S. (2006). Normal Structure, Function, and Histology of the Bone Marrow. *Toxicologic Pathology*. 34(5), pp. 548–565. Available at: <https://doi.org/10.1080/01926230600939856>

26. Baumgart, M., Szpinda, M., Szpinda, A. (2012). New anatomical data on the growing C4 vertebra and its three ossification centers in human fetuses. *Surgical and Radiologic Anatomy*. Vol. 35(3), pp. 191–203. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00276-012-1022-z>

27. Szpinda, M., Baumgart, M., Szpinda, A., Woźniak, A., Miła-Kierzenkowska, C., Dombek, M., Kosiński, A., Grzybiak, M. (2013). Morphometric study of the T6 vertebra and its three ossification centers in the human fetus. *Surgical and Radiologic Anatomy*. Vol.35(10), pp. 901–916. Available at: <https://cyberleninka.org/article/n/303435/viewer>

28. Otsuru, S., Desbordes, L., J. Guess, A., J. Hofmann, T., Relation, T., Kaito, T., Dominici, M., Iwamoto, M., M. Horwitz, E. (2017). Extracellular vesicles released from mesenchymal stromal cells stimulate bone growth in osteogen-

esis imperfecta. *Cytherapy*. pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.09.012>

29. Otsuru, S., M. Overholt, K., S. Olson, T., J. Hofmann, T., J. Guess, A., M. Velazquez, V., Kaito, T., Dominici, M., M. Horwitz, E. (2017). Hematopoietic derived cells do not contribute to osteogenesis as osteoblasts. *Bone*. Vol. 94, pp. 1–9. Available at: <http://doi.org/10.1016/j.bone.2016.10.003>

30. Araby, N., Soliman, S., Raheem, E.A., Ahmed, Y. (2018). Morphogenesis of the sternum in quail embryos. *SVU-International Journal of Veterinary Sciences*. Vol. 1(1), pp. 16–24. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/Morphogenesis-of-the-Sternum-in-Quail-Embryos.-Araby-Soliman/ed35104e3650f22e8290cf550c429ade5e667517>

Морфогенез очагов окостенения костных органов поросят в раннем постнатальном периоде онтогенеза

Оліяр А. В., Лещёва М. А., Логвинова В. В.

Динамика роста и развития основных и дополнительных очагов окостенения костных органов даёт возможность выяснения закономерностей изменения их тканевых компонентов и последующую возрастную ремоделяцию при выполнении биомеханической и кроветворной функций. Особенности морфогенеза кроветворных компонентов скелета у продуктивных животных необходимо учитывать при определении этиопатогенеза и разработке методов лечения и профилактики инфекционных заболеваний, иммунодефицитных и анемических состояний у молодняка. Исследовали костные органы (9-ый грудной позвонок, бедренная кость) от клинически здоровых новорожденных, 5-, 10-, 15- и 20-суточных поросят (n=5) белой украинской породы, выращенных по традиционным технологиям. Рентгенологическими исследованиями в органах универсального гемопоза определяли наличие и степень развития диа-, эпи- и апофизарных очагов окостенения, а также особенности структуры губчатой и компактной костной тканей. Определение относительной площади очагов окостенения на рентгенограммах проводили методом «точечного подсчета» с использованием окулярных тестовых систем по методике Г.Г. Автандилова. У новорожденных поросят в костях осевого скелета обнаруживаются только диафизарный (тела) очаг окостенения и дужки, тогда как в костях периферического – диа- и эпифизарные, а также апофизарный (большого вертела). С возрастом в костях конечностей количество их не изменяется, а осевого скелета – помимо раньше сформированных диафизарного и дужки, появляются эпифизарные (головки и ямки), начиная с 20-суточного возраста. Во всех костях наблюдается увеличение размеров и относительной площади раньше сформированных очагов окостенения. В костных органах всех возрастных групп преобладает мелкоячеистая губчатая костная ткань, тогда как компактная к моменту рождения имеется только в периферическом ске-

лете, а в осевом – впервые появляется в теле 10-суточных, а также в дужке – 20-суточных поросят. Толщина метафизарных хрящей, субхондральных костей суставных хрящей, а также эпи- и диаметафизарной субхондральных костей с возрастом умеренно возрастает.

Ключевые слова: органы кроветворения и иммунной защиты, скелет, костные органы, основные и дополнительные очаги окостенения, костная ткань, поросята.

Morphogenesis of the centers of ossification of bone organs of piglets in the early postnatal period of ontogenesis

Oliyar A., Lieshchova M., Logvinova V.

The dynamics of growth and development of the basic and additional centers of ossification of bone organs gives an opportunity to find out the patterns of change of their tissue components and subsequent age-related remodeling when performing biomechanical and hematopoietic functions. Features of morphogenesis of hematopoietic components of the skeleton in productive animals should be taken into account in determining the etiopathogenesis and development of methods of treatment and prevention of infectious diseases, immunodeficiency and anemic conditions in young animals. Were studied bone organs (9th thoracic vertebra, femur) from clinically healthy newborns, 5-, 10-, 15- and 20-day-old pigs (n = 5) of white Ukrainian breed grown using traditional technologies. Radiological research in the organs of universal hematopoiesis determined the availability and degree of development of the dia-, epi- and apophysar centers of ossification, as well as features of the structure of spongy and compact bone tissue. Determination of the relative area of the centers of ossification on radiograph was performed by the method of “point counting” using the eyepiece test systems according to the method of G.G. Avtandilova. In newborn piglets, the bones of the axial skeleton show only the diaphysar (body) centers of ossification and brackets, whereas in the bones of the peripheral bone, the diaphysar and epiphysar ones, as well as the apophysar (larger swivel). With age, the number of limb bones does not change, and the axial skeleton, except for previously formed diaphysar and brackets, appear epiphysar (heads and fossae), starting at the age of 20 days. In all bones there is an increase in the size and relative area of previously formed centers of ossification. In bone organs of all age groups, small-cell spongy bone prevails, whereas compact at the moment of birth, it is present only in the peripheral skeleton, and in axial - it first appears in the body of a vertebra of 10-day piglets and also in the brackets - 20-day piglets. The thickness of metaphysar cartilages, subchondral bones of articular cartilages, as well as the epi- and diametaphysar subchondral bones increases with age.

Key words: blood forming and immune protection organs, skeleton, bone organs, basic and additional centers of ossification, bone tissue, piglets.



Copyright: © Оліяр А.В., Лещова М.О., Логвинова В.В. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Оліяр А.В.
Лещова М.О.
Логвинова В.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-8918-2693>
ID <https://orcid.org/0000-0002-4251-4152>
ID <https://orcid.org/0000-0002-2084-6850>



ХІРУРГІЯ

УДК 636.2.09:617.57/.58-002

Цитокиновий профіль у корів з некробактеріозними ураженнями пальців

Рубленко М.В. , Мельніков В.В. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: hiryrhya@ukr.net

Рубленко М.В., Мельніков В.В. Цитокиновий профіль у корів з некробактеріозними ураженнями пальців. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 121–128.

Rublenko M.V., Mel'nikov V.V. Cytokinovyj profil' u koriv z nekrobakterioznyjmy urazhennjamy pal'civ. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 121–128.

Рукопис отримано: 13.05.2020р.

Прийнято: 18.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-121-128

Ортопедичні хвороби у корів суттєво знижують рентабельність молочного скотарства, наносячи значних збитків технологічного і економічного характеру. Метою дослідження було встановлення цитокинового профілю у корів з некробактеріозними ураженнями ділянки пальців. Робота виконана в умовах типових молочних ферм, на коровах з різними клінічними формами гнійно-некротичного ураження кінцівок некробактеріозного характеру. Діагностичні дослідження включали комплекс клінічних, бактеріологічних біопатів гнійно-некротичних вогнищ та визначення рівня цитокинів в крові за допомогою імуно-ферментного аналізу. За бактеріологічного дослідження були виявлені різні асоціації *F. necrophorum* із *E. coli*, *Clostridium spp.*, *Diplococcus lns.*, стафіло- і стрептококами, що верифікувало некробактеріозний характер уражень кінцівок у корів. Встановлено, що у корів з гострим перебігом гнійно-некротичного запального процесу в ділянці пальців різко зростають концентрації ФНП-α і ІЛ-10. Генералізована форма некробактеріозних уражень характеризується критичним зростанням рівня в крові ФНП-α у 16,8 раза, ІЛ-1β в 17,8 раза порівняно з його рівнем за гострої форми концентрації ІЛ-10. Цитокиновий індекс ІЛ-10: ФНП-α набув критичного значення – 0,4:1, а ІЛ-10 до ІЛ-1β – 1:1. Відмічається розвиток неконтрольованої флогогенної цитокінемії, що відображає синдром системної запальної відповіді. Рецидивуючий тип гнійно-некротичних уражень кінцівок характеризується досить низькими рівнями ІЛ-1β та ІЛ-10. Вміст ІЛ-1β був більшим у 2,4 раза ($p < 0,05$). Проте концентрація ФНП залишалася досить великою і переважала показник норми в 12,6 раза ($p < 0,001$), що відобразилося на надзвичайно низькому відповідному індексі 0,3:1. Тобто в даному випадку за хронічного перебігу некробактеріозних уражень кінцівок у корів формується некомпенсована перманентна цитокінемія за рахунок ФНП-α, що зумовлює рецидивуючий характер гнійно-некротичного процесу. Отже, механізм розвитку цитокинового профілю у великої рогатої худоби потребує подальших досліджень.

Ключові слова: флогогенні та проти запальні гнійно-некротичні ураження, цитокіни, корови, запалення, пальці.

Постановка проблеми. Захворювання великої рогатої худоби, що супроводжуються ураженням кінцівок, особливо копитець, до сьогодні залишаються актуальною проблемою ветеринарної ортопедії [1]. Основними чинниками, які сприяють розвитку ортопедичної патології у корів, часто є порушення умов годівлі, спадкові аномалії будови кінцівок, несприятливі умови утримання і зниження резистентності

організму [2, 3]. За даними [4–6] ортопедичні хвороби у корів суттєво знижують рентабельність молочного скотарства, наносячи значних збитків технологічного і економічного характеру. При цьому рівень захворюваності копитець у корів може охоплювати близько 40–50 % поголів'я молочного стада. В окремих господарствах вона становить на рівні 30–87 % [7]. У зв'язку з цим до 27 % поголів'я корів підля-

гають вибраковці, що в свою чергу спричинює негативний вплив на галузь у цілому, оскільки економічні збитки становлять 4–5 % від усього прибутку ферми за рік [8]. Слід відмітити і той факт, що за розвитку ортопедичної патології основним її патогенетичним ланцюгом є запальна реакція, яка здебільшого зумовлена метаболічними порушеннями та циркуляцією ендотоксинів у крові корів з акушерською чи гінекологічною патологією [9,10]. Водночас найбільш ризикованим щодо розвитку ортопедичної патології у корів вважається післяродовий період. Саме [11] в цей період у корів здебільшого метаболічні порушення проявляються через різні форми ацидозу рубця і кетозу, різко збільшується частота маститів і ендометритів, наростає вірулентність умовно-патогенної мікрофлори, що супроводжується збільшенням активності різних груп медіаторів запального процесу, особливо цитокінів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Виявленню причин поширення, розвитку та динаміці перебігу ортопедичних хвороб у корів приділена значна увага, деякі аспекти якої відображені в ряді наукових робіт [8; 12–17]. Встановлені причини порушень обмінних процесів [12,13,18,19], травм [8, 20], імунопатологічних реакцій та інфекційних чинників [21–23], окремо висвітлюється патогенетична роль зниженої реактивності та неспецифічної резистентності організму великої рогатої худоби [20, 24]. Останнім часом певна увага приділяється детальному аналізу механізмів запальної реакції за ортопедичної патології через вивчення динаміки гострофазних білків [25]. Доведено [26], що зростання концентрації позитивних білків гострої фази (гаптоглобіну, фібриногену) у корів вказує на ранні строки перебігу запального процесу за наявності гнійно-некротичних уражень кінцівок, а це зумовлено формуванням прозапальної цитокінемії після родів. Ідентифікація та співвідношення між собою різних видів гострофазних білків вважаються досить інформативними в прогнозуванні та ефективності лікування хвороб кінцівок [27]. В ряді робіт встановлена чітка залежність рівня гострофазних білків і цитокінів (α -амілоїдного білка гаптоглобіну, ІЛ- β , ІЛ-8, ІЛ-10) від клінічної маніфестації різних нозологічних форм (міжпальцева флегмона, пальцевий дерматит, ламініт) ортопедичної патології [28–31].

Цитокіни належать до групи поліпептидних медіаторів, які беруть участь у формуванні механізмів реактивності організму і задіяні майже в кожній ланці імунітету [32]. Для них характерний складний мережевий прояв функ-

ціонування, за якого продукція одного із них впливає на утворення і прояв активності низки інших [33].

У роботі [34] розкриті окремо виділені закономірності розвитку гострофазної запальної реакції у корів з ортопедичною патологією та встановлено роль цитокінів як біохімічних маркерів запалення. Згідно з даними авторів [35, 36] роль ІЛ-1 і ФНП у запальній реакції пов'язана із їх високою тропністю до нейтрофілів, базофілів, ендотеліоцитів, гепатоцитів, синовіоцитів, міоцитів, Т-лімфоцитів, що зумовлює посилення синтезу та експресії молекул адгезії, продукування NO, білків гострої фази та простагландинів.

У роботі (Gadek-Michalska A. et al., 2008) описується роль прозапального цитокіну ІЛ-1 β як такого, що запускає каскад секреції інших цитокінів і є одним із медіаторів гострої фази стресорної реакції. При виділенні цього цитокіну активується його вплив на гіпоталамо-гіпофізарно-наднирниковий комплекс [36]. ФНП- α синтезується клітинами, які локалізуються в значній кількості між панусом та суглобовим хрящем. Він є одним із індикаторів синтезу прозапального цитокіну ІЛ-6, який призводить до гіперпродукції гострофазних білків – С-реактивного протеїну і фібриногену [37]. Слід відмітити і те, що за рановому процесу ФНП- α сприяє проліферації фібробластів ендотелію. Під його впливом відмічається стимуляція резорбції кісткової та хрящової тканин в організмі [38]. ІЛ-10 має антизапальну та антицитокінову дію [39], є інгібітором запалення і цитокінового каскаду [40]. Він відновлює активність синтази оксиду азоту, пригніченої індукторами ендотеліальної дисфункції [41]. У дослідженнях [41] описана головна функція ІЛ-10, яка полягає в обмеженні і головуванні запального процесу. Водночас продукція медіаторів запалення нерідко є неконтрольованою, спричиняючи розвиток протеолітичного дисбалансу, який чинить негативний вплив на тканини та органи організму тварини. Отже, встановлення патогенетичних і діагностично-прогностичних критеріїв цитокінового профілю за різних нозологічних форм ортопедичної патології у корів може бути ефективним для оптимізації її лікування.

Мета дослідження – встановлення цитокінового профілю у корів з некробактеріозними ураженнями ділянки пальців.

Матеріал та методи досліджень. Дослідження проводили на коровах у період 1–1,5 міс. після отелення в господарствах СТГ «Шевченківське» Тетіївського району та СТОВ ім. Щорса Білоцерківського райо-

ну Київської області. Досліджували тварин з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок (n=26), яких залежно від стадії розвитку запального процесу розділили на три групи: I – корови з гострою формою перебігу гнійно-некротичного запального процесу в ділянці вінчика і м'якуша (n=8); II – тварини з генералізованою формою (n=8); III – тварини з рецидивуючими гнійно-некротичними процесами (n=10). У контрольну групу (n=12) увійшли клінічно здорові тварини. Тварин утримували на прив'язі в корівниках з примусовою вентиляцією, комбінованим освітленням і щоденним прибиранням. Годівля складалася із сіна різнотрав'я, силосу, сінажу, дерті, комбікорму, напування здійснювалося автоматизованим способом. Дослідження проводили відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р. У тварин протягом досліджень проводили загальний клінічний і хірургічний огляд, відбирали кров із яремної вени, яку стабілізували 3,8 % розчином цитрату натрію у співвідношенні 9:1.

Лабораторні дослідження виконували в умовах науково-дослідної лабораторії з проблем ветеринарної хірургії Білоцерківського НАУ. Концентрацію в сироватці крові цитокінів ФНП- α , ІЛ-1 β та ІЛ-10 визначали наборами фірми «Вектор бест» (м. Новосибірськ, РФ). Також у корів проводили бактеріологічне дослідження патоло-

гічного матеріалу (біоптати гнійно-некротичних вогнищ, ексудат з порожнини бурс і нориць) в лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН України.

Результати дослідження. У групі клінічно здорових корів (n=12) встановлено значно високий рівень протизапального цитокіну ІЛ-10 (табл. 1), в зв'язку з чим у них великі цитокінові індекси, тобто співвідношення концентрації протизапального до флогогенних цитокінів: ФНП- α – 3,3:1; ІЛ-1 β – 9,5:1, за індексу між останніми 2,9:1. Отже, показник ІЛ-10 за фізіологічної норми домінує над прозапальними цитокінами в організмі великої рогатої худоби.

Гострий перебіг гнійно-некротичних процесів характеризувався виразками шкіри міжпальцевого склепіння і м'якуша, а також гнійними пододерматитами. За генералізованого перебігу гнійно-некротичних уражень у корів додатково діагностували абсцеси та гнійно-некротичні нориці у ділянках стегна і заплеснового суглоба. Хронічний перебіг гнійно-некротичних процесів характеризувався періодичним виповненням їх вогнищ грануляціями з наступним рецидивуванням.

За бактеріологічного дослідження були виявлені різні асоціації *F. necrophorum* із *E. coli*, *Clostridium spp.*, *Diplococcus lans.*, стафіло- і стрептококами, що верифікувало некробактеріозний прояв уражень кінцівок у корів.

У тварин з гострим перебігом гнійно-некротичного запального процесу в ділянці пальців (n=8) різко збільшуються концентрації ФНП- α і ІЛ-1 β , при чому цитокінові індекси між ними становлять лише 1,1:1.

Таблиця 1 – Цитокіновий профіль сироватки крові корів через 1–1,5 міс. після отелення

Статистичний показник	ФНП- α , пг/мл	ІЛ-1 β , пг/мл	ІЛ-10, пг/мл	Цитокінові індекси		
				ІЛ-10: ФНП- α	ІЛ-10: ІЛ-1 β	ФНП- α : ІЛ-1 β
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення) n=12						
M $\pm$ m	1,9–4,87 2,8 $\pm$ 0,27	0,52–1,4 0,97 $\pm$ 0,09	7,11–11,75 9,2 $\pm$ 0,51	3,3:1	9,5:1	2,9:1
Корови з ураженнями кінцівок (1–1,5 міс. після отелення)						
1 група (гостра) n=8						
M $\pm$ m	12,8–19,7 15,7 $\pm$ 0,82***	1,5–5,68 3,2 $\pm$ 0,51 ***	7,9–27,9 16,6 $\pm$ 2,78*	1,1:1	5,2:1	4,9:1
2 група (генералізована) n=8						
M $\pm$ m	21,04–64,8 47,1 $\pm$ 5,10***	13,6–22,7 17,3 $\pm$ 1,18***	8,4–21,64 16,8 $\pm$ 1,85***	0,4:1	1:1	2,7:1
3 група (рецидивуючі) n=1						
M $\pm$ m	11,09–54,28 35,3 $\pm$ 5,42***	0,52–6,22 2,3 $\pm$ 0,60*	2,7–13,6 9,05 $\pm$ 1,19	0,3:1	4:1	15,6:1

Примітка: p<0,05*; p<0,01**; p<0,001***, порівняно з клінічно здоровими коровами.

Розвиток генералізованої форми некробактеріозних уражень у тварин 2-ї групи ($n=8$) характеризувався критичним збільшенням рівня в крові ФНП- α у 16,8 раза, та в 17,8 раза ІЛ-1 β без зміни, порівняно з його рівнем за гострої форми концентрації ІЛ-10. При цьому цитокіновий індекс ІЛ-10: ФНП- α набув критичного значення – 0,4:1, а ІЛ-10 до ІЛ-1 β – 1:1. Таким чином, за генералізованої форми некробактеріозного процесу розвивається неконтрольована флогогенна цитокінемія, що патогенетично відображає синдром системної запальної відповіді.

Рецидивуючий тип гнійно-некротичних уражень кінцівок у корів 3-ї групи ($n=10$) характеризувався досить низькими рівнями ІЛ-1 β та ІЛ-10. Якщо останній фактично не відрізняється від показника клінічно здорових корів, то вміст ІЛ-1 β був більшим у 2,4 раза ($p<0,05$). Проте концентрація ФНП залишалася досить великою і переважала показник норми в 12,6 раза ($p<0,001$), що відобразилося на надзвичайно низькому відповідному індексі 0,3:1. Тобто в даному випадку за хронічного перебігу некробактеріозних уражень кінцівок у корів формується некомпенсована перманентна цитокінемія за рахунок ФНП- α , що зумовлює рецидивуючий прояв гнійно-некротичного процесу.

Обговорення. З метою обґрунтованого застосування медикаментозного лікування хірургічної патології, дедалі частіше приділяється увага детальному вивченню механізмів запальної реакції [42, 43]. Зокрема у великої рогатої худоби, зважаючи на значне поширення хірургічної абдомінальної та ортопедичної патології, останнім часом висвітлюються питання ініціації запально-деструктивних процесів у ділянці пальців цитокінами, їх експресії клітинами основи шкіри копитець та індукції реактантів гострої фази. Так в роботі [34] висвітлено закономірності розвитку гострофазної запальної реакції у корів з ортопедичною патологією та встановлено значимість цитокінів як біохімічних маркерів запалення. Згідно з [35–36], ІЛ-1 і ФНП володіють високою тропністю до нейтрофілів, базофілів, ендотеліоцитів, гепатоцитів, сіновіоцитів, міоцитів, Т-лімфоцитів, що зумовлює посилення синтезу та експресії молекул адгезії, продукування NO, білків гострої фази та простагландинів. Gadek-Michalska A. et al., 2008 повідомляють про ІЛ-1 β як ключовий чинник запуску каскаду секреції інших цитокінів, який одночасно виконує роль одного із медіаторів гострої фази стресорної реакції. При виділенні цього цитокіну активується його вплив на гіпоталамо-гі-

пофізарно-наднирниковий комплекс [36]. ФНП є одним із індикаторів синтезу прозапального цитокіну ІЛ-6, який призводить до гіперпродукції гострофазних білків – С-реактивного протеїну і фібриногену [37]. За ранового процесу ФНП- α сприяє проліферації фібробластів ендотелію. Під його впливом відмічається стимуляція резорбції кісткової та хрящової тканин в організмі [38]. ІЛ-10 володіє антизапальною і антицитокіновою дією [39], є інгібітором запалення і цитокінового каскаду [40]. Він відновлює активність синтази оксиду азоту, пригніченої індукторами ендотеліальної дисфункції [41]. У дослідженнях [41] описана головна функція ІЛ-10, яка полягає в обмеженні і гальмуванні запального процесу. Встановлений у представленому дослідженні цитокіновий профіль.

Описана попередніми авторами [25, 26] динаміка гострофазних білків, зокрема гаптоглобіну і фібриногену за розвитку ортопедичної патології у корів, відповідно до патофізіології запалення, безумовно індукована цитокінами. Водночас за гострої форми некробактеріозних уражень кінцівок масована цитокінемія зумовлена переважно продукцією ФНП- α та має компенсаторний характер, незважаючи на зменшення в 2–3 рази проти-запального цитокінового індексу. Проте за їх генералізованої форми подальше збільшення цитокінемії як за рахунок ФНП- α , так і ІЛ-1 β , цей компенсаторний механізм не реалізується внаслідок неадекватної продукції ІЛ-10, що зумовлює неповноцінність біологічних бар'єрів і поширення некробактеріозних уражень на проксимальні ділянки кінцівок. Подібною є ситуація і за їх рецидивів, яка пов'язана, головним чином, з персистуючою цитокінемією за рахунок ФНП- α .

Отже, різні клінічні форми некробактеріозних уражень кінцівок у корів мають компенсаторний чи не компенсаторний характер цитокінемії, що відображає патогномонічність і діагностично-прогностичне значення цитокінового профілю за даної патології.

Висновки.

1. Гнійно-некротичні ураження некробактеріозного характеру характеризуються різного ступеня цитокінемією, що відображається неконтрольованою цитокінемією протизапальним цитокіном ІЛ-10. Патогенетичні механізми запальної реакції зумовлені асоціаціями *E. necrophorum* з мікроорганізмами різних груп.

2. Рівень цитокінемії та співвідношення протизапальних цитокінів з флогогенними мають різне значення за гострої, генералізованої та хронічної форм некробактеріозного уражен-

ня кінцівок у корів та можуть мати діагностично-прогностичне значення.

Перспективою подальших досліджень вважаємо вивчення динаміки цитокінів за різних принципів фармакологічної корекції патогенетичних ланцюгів некробактеріозного ураження кінцівок у корів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Стекольников А.А. Заболевания конечностей у крупного рогатого скота при интенсивном ведении животноводства, пути профилактики и лечения: материалы Международной конференции «Актуальные проблемы ветеринарной хирургии». Ульяновск, 2011. С. 3–7.
2. Ермолаев В. А., Марьин Е. М., Ляшенко П. М. Динамика показателей клинического анализа крови у ортопедически больных коров. Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2016. № 10 (144). С. 116–122.
3. Hadžić I., Pavlovic I., Vojin H., Gordana A.B., Bojkovski J. Dermatitis interdigitalis and Dermatitis digitalis the Great Problem on Cattle Production. Bulletin UASVM. Veterinary Medicine. 2013. 70. С. 242–248.
4. Болезни рога – хлопот много / Э. Веремей и др. Белорусское сельское хозяйство. 2011. № 11. С. 54–56.
5. Веремей Э.И., Журба В.А. Распространение и профилактика заболеваний пальцев и копытцев у крупного рогатого скота. Ветеринарная медицина Беларуси. 2003. № 2. С. 33–35.
6. Веремей Э. И. Уход за копытами высокопродуктивного молочного крупного рогатого скота: практическое руководство. Витебск: УО ВГАВМ, 2006. 107 с.
7. Марьин Е.М., Ермолаев В.А., Идогов В.В., Сапожников А.В. Природные дренирующие сорбенты при гнойных пододерматитах у коров. Международный вестник ветеринарии. СПб, 2009. С.13–16.
8. Козій В.І. Ламініт у високопродуктивних корів (етіологія, патогенез, лікування і профілактика): автореф. дис. д-ра вет. наук: спец 16.00.05. Біла Церква, 2007. 36 с.
9. Характеристика коагуляційних процесів у корів протягом вагітності, післяродового періоду та за акушерської й гінекологічної патології / С.А. Власенко та ін. Біологія тварин: наук.-теорет. журнал. Львів, 2016. Т. 18. № 4. С. 14–22.
10. Власенко С.А., Рубленко М.В. Продукція оксиду азоту та білків гострої фази за гестаційного процесу, метриту і ортопедичної патології у корів. Біологія тварин: наук.-теорет. журнал. Львів, 2012. Т. 14. № 1–2. С. 361–369.
11. Власенко С.А., Рубленко М.В. Вміст окремих цитокінів у крові корів з акушерськими, гінекологічними та гнійно-некротичними ураженнями в ділянці пальця. Наук. вісник НУБіП України. Київ, 2009. Вип. 136. С. 289–294.
12. Поширення захворювань в ділянці пальців у високопродуктивних корів залежно від рівня молочної продуктивності / В. М. Власенко та ін. Вісник Білоцерківського ДАУ. 2003. Вип. 25, ч. 1. С. 45–51.
13. Іздепський В.Й., Кулинич С.М. Етіологія гнійно-запальних процесів в ділянці пальця у корів у зимово-стійловий період та їх лікування. Вісник Білоцерківського ДАУ. 2006. Вип. 4. С. 47–55.
14. Лопатин С.В. Оптимизация системы контроля эпизоотического процесса некробактериоза крупного рогатого скота: дис. ... докт. вет. наук: 16.00.03, 16.00.04. Новосибирск, 2006. 325 с.
15. Борисевич В., Борисевич Б., Борисевич В. Унгильоз – дистрофія копитця великої рогатої худоби. Ветеринарна медицина України. 2007. № 12. С. 20–22.
16. Higuchi H., Nagahata H. Relationship between serum biotin concentration and moisture content of the sole horn in cows with clinical laminitis of sound hooves. Veter. Rec. 2001. Vol. 148. № 7. P. 209–210.
17. Webster A.J.F. Effects of housing practices on the development of foot lesions in dairy heifers in early lactation. Veter. Rec. 2002. Vol. 151. N 1. P. 9–12.
18. Хомин Н.М. Асептичні пододерматити у великої рогатої худоби (етіологія, профілактика та лікування): автореф. дис. доктора вет. наук: спец. 16.00.05. Біла Церква, 2006. 36 с.
19. Карпенко Л. Ю., Карпенко А.Н. Биохимические аспекты развития костно-суставной патологии у коров. Вісник Білоцерківського ДАУ. 2008. Вип. 56. С. 71–75.
20. Кутлукаев И.И. Эффективность ткани ВИОН КН-1 в сочетании с антимикробными препаратами при лечении гнойно-некротических заболеваний пальцев у коров: дис.... канд. вет. наук: 16.00.05. Казань, 2003. 150 с.
21. Панасюк С. Д. Значение ассоциаций микроорганизмов в этиологии и профилактике инфекционных болезней конечностей крупного и мелкого рогатого скота: некробактериоз, копытная гниль: дис. ... д-ра вет. наук. Москва, 2007. 470 с.
22. Молоканов В.А., Малов Д.В. Стимуляция иммунного ответа при некробактериозе крупного рогатого скота. Ветеринария. 2009. № 2. С. 22–23.
23. Борисевич В.Б., Борисевич Б.В., Сытюк В.Г. Иммунокомплексный пододерматит у коров. Ветеринария. 2009. № 4. С. 40–42.
24. Стельмухов М. В. Этиопатогенетическая терапия гнойно-некротических язв копытцев у коров: дис. ... канд. вет. наук: 16.00.05. Санкт-Петербург, 2009. 153 с.
25. Tothova C., Nagy O., Seidel H., Paulikova I. The influence of hoof diseases on the concentrations of some acute phase proteins and other variables of the protein profile in heifers. Acta Veter. 2011. Vol. 61. № 2–3. P. 141–150.
26. Determination of selected acute proteins during the treatment of limb diseases in dairy cows / P. Jawori et al. J. Vet. Med. 2008. Vol. 53. P. 173–183.
27. Cray C., Zaias J., Altman N.H. Acute Phase Response in Animals. J. Comp. Med. 2009. Vol. 59. № 6. P. 517–526.
28. Lameness and foot lesions in Swiss dairy cows: I. Prevalence / J. Becker et al. Schweiz. Arch. Tierheilkd. 2014. 156. P. 71–78.
29. Infectious diseases causing lameness in cattle with a main emphasis on digital dermatitis (Mortellaro disease) / W. Refaai et al. Livest. Sci. 2013. 156. P. 53–63.
30. Age, segment, and horn disease affect expression of cytokines, growth factors, and receptors in the epidermis and dermis of the bovine claw / Mills J.A. et al. 2009. J Dairy Sci. 92. P. 5977–5987.
31. Pro-inflammatory cytokine profile in dairy cows: consequences for new lactation / E. Trevisi et al. Italian Journal of Animal Science. 2015. 14. pp. 285–292.

32. Нагоев Б.С., Нагоева М.Х., Камбачокова Э.А. О роли цитокинов в регуляции иммунной системы при инфекционных заболеваниях: материалы III Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням (Москва, 28-30 марта 2011 года). Инфекционные болезни. 2011. Том 9. Приложение № 1. 260 с.

33. Одегов Е. С., Петрова О. Г. Анализ цитокинового статуса при ОРВИ крупного рогатого скота. Молодой ученый. 2016. № 6.5. С. 89–91.

34. Власенко С.А. Патогенетичні механізми порушень репродуктивної функції у високопродуктивних корів за гнійно-некротичних уражень в ділянці пальців: дис... д-ра. вет. наук: 16.00.05, 16.00.07. Біла Церква, 2017. 429 с.

35. Кузнецов А.П., Грязных А.В., Сажина Н.В. Физиология иммунной системы: монография. Курган: Изд-во Курганского гос. ун-та, 2015. 150 с.

36. Gadek-Michalska A., Bugajski A.J., Bugajski J.J. Prostaglandins and interleukin-1beta in the hypothalamic-pituitary-adrenal response to systemic phenylephrine under basal and stress conditions. *Physiol Pharmacol.* 2008. 59(3). P. 563–575.

37. Schroecksnadel K., Kaser S., Ledochowski M. et al. (2003). Increased degradation of tryptophan in blood of patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 30(9). P. 1935–1939.

38. Taylor R.W. Sepsis, sepsis syndrome and septic shock – Philadelphia Lippincott. 1992. 537 p.

39. Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular/ S.P. Didion et. al. *Hypertension.* 2009. Vol. 54. № 3. P. 619–624.

40. Asadullah K., Sterry W., Volk H.D. Interleukin-10 therapy: review of new approach. *Pharmacological reviews.* 2003. Vol. 55. № 2. P. 241–269.

41. Interleukin-10 reduces inflammation, endothelial dysfunction, and blood pressure in hypertensive pregnant rats / J.H. Tinsley et al. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2010. Vol. 298. № 3. P. 713–719.

42. Цитокиновий статус, реакція гострої фази та її корекція за акушерської та хірургічної патології у продуктивних та дрібних домашніх тварин / М.В. Рубленко та ін. Біла Церква, 2012. 21с.

43. NOD1 and NOD2: signaling, host defence, and inflammatory disease/ R. Caruso et al. *Immunity.* 2014. Vol. 41. P. 898–908.

REFERENCES

1. Stekolnykov, A.A. (2011). Zaboлевaniya konechnostej u krupnogo rohatogo skota pri intensivnom vedenii zhivotnovodstva, puti profilaktiki i lecheniya: materialy Mezhdunarodnoj konferencii «Aktual'nye problemy veterinarnoj hirurgii» [Diseases of the extremities of cattle with intensive livestock, ways of prevention and treatment: proceedings of the International Conference "Actual Problems of Veterinary Surgery"]. Ulyanovsk, pp. 3–7.

2. Ermolaev, V. A., Maryn, E.M., Liashenko, P. M. (2016). Dynamika pokazatelei klinicheskogo analiza krovy u ortopedicheskij bolnuh korov [Dynamics of indicators of a clinical blood test in orthopedic sick cows]. *Vestnyk Altaiskogo gosudarstvennogo ahranogo unyversyteta* [Bulletin of Altai State Agrarian University]. no. 10 (144), pp. 116–122.

3. Hadžić, I., Pavlovic, I., Vojin, H., Gordana, A.B., Bojkovski, J. (2013). Dermatitis interdigitalis and Dermatitis digitalis the Great Problem on Cattle Production. *Bulletn UASVM. Veterinary Medicine.* 70, pp. 242–248.

4. Veremej, Je. (2011). Bolezni roha - khlopot mnoho [Horn diseases - a lot of trouble]. *Belorusskoe selskoe khoziaistvo* [Belarusian agriculture]. no. 11, pp. 54–56.

5. Veremej, Je. Y., Zhurba, V.A. (2003). Rasprostraneniye y profylaktyka zabolevaniy paltsev y koputtsjev u krupnogo rohatogo skota [Distribution and prevention of diseases of fingers and hooves in cattle]. *Veterynarnaia medytyna Belarusy* [Veterinary medicine of Belarus]. no. 2, pp. 33–35.

6. Veremej, Je. Y. (2006). Ukhod za kopyttsamy vysokoproduktyvnogo molochnoho krupnogo rohatogo skota: prakticheskoe rukovodstvo [Hoof care of highly productive dairy cattle: a practical guide]. Vitebsk: UO VGAVM, 107 p.

7. Maryn, E.M., Ermolaev, V.A., Ydohov, V.V., Sapozhnikov, A.V. (2009). Prirodnye drenirujushhie sorbenty pri gnojnyh pododermatitah u korov [Natural draining sorbents for purulent pododermatitis in cows]. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii*. [International Journal of Veterinary Medicine]. SPB, pp.13–16.

8. Kozij V.I. Laminit u vysokoproduktyvnyh koriv (etiologija, patogeneza, likuvannya i profilaktyka): avtoref. dys. d-ra vet. nauk: spec 16.00.05. Bila Cerkva, 2007. 36 s.

9. Vlasenko, S.A., Rublenko, M.V., Chernyshenko, T.M., Hornytska, O.V., Platonova, T.M. (2016). Kharakterystyka koahuliatsiynykh protsesiv u koriv protiahom vahitnosti, pisliarodovoho periodu ta za akusherskoi y hinekolohichnoi patolohii [Characteristics of coagulation processes in cows during pregnancy, postpartum and obstetric and gynecological pathology]. *Bioloheia tvaryn: nauk.-teoret. zhurnal* [Animal biology: scientific theory. magazine]. Lviv, Vol. 18, no. 4, pp. 14–22.

10. Vlasenko, S.A., Rublenko, M.V. (2012). Produktsiia oksydu azotu ta bilkiv hostroi fazy za hestatsiinoho protsesu, metrytu i ortopedichnoi patolohii u koriv [Production of nitric oxide and acute phase proteins during gestation, metritis and orthopedic pathology in cows]. *Bioloheia tvaryn: nauk.-teoret. zhurnal* [Animal biology: scientific theory. magazine]. Lviv, Vol. 14, no. 1–2, pp. 361–369.

11. Vlasenko, S.A., Rublenko, M.V. (2009). Vmist okremykh tsytokiniv u krovi koriv z akusherskymy, hinekolohichnymy ta hniino-nekrotychnymy urazhenniamy v diliansi paltsia [The content of certain cytokines in the blood of cows with obstetric, gynecological and purulent-necrotic lesions in the finger area. Science]. *Nauk. visnyk NUBiP Ukrainy* [Bulletin of NULES of Ukraine]. Kyiv, Issue 136, pp. 289–294.

12. Vlasenko, V.M., Rublenko, M.V., Ilnitskyi, M.H. (2003). Poshyrennia zakhvoriuvan v diliansi paltsiv u vysokoproduktyvnykh koriv zalezho vid rivnia molochnoi produktyvnosti [The spread of diseases in the fingers in highly productive cows depending on the level of milk productivity]. *Visnyk Bilotserkivskoho DAU* [Bulletin of Bila Tserkva State Agrarian University]. Issue. 25, Part 1, pp. 45–51.

13. Izdepskyi, V.I., Kulynych, S.M. (2006). Etioloheia hniino-zapalnykh protsesiv v diliansi paltsia u koriv u zymovo-stiilovyi period ta yikh likuvannya [Etiology of purulent-inflammatory processes in the finger area in cows in the winter-stall period and their treatment]. *Visnyk Bilotserkivskoho DAU* [Bulletin of Bila Tserkva State Agrarian University]. Issue 4, pp. 47–55.

14. Lopatyn, S.V. (2006). Optymyzatsiia systemy kontroliia zpyzootycheskoho protsesa nekrobakteryozu krupnogo rohatogo skota: dys. ... dok. vet nauk: 16.00.03, 16.00.04. [Opti-

mization of the control system for the epizootic process of necrobacteriosis in cattle: a dissertation of the Doctor of Veterinary Sciences: 16.00.03, 16.00.04.]. Novosibirsk, 325 p.

15. Borysevych, V., Borysevych, B., Borysevych, V. (2007). Unhuloz – dystrofiia kopytets velykoi rohatoi khudoby [Ungulosis is a dystrophy of the hooves of cattle]. *Veternarna medytsyna Ukrainy* [Veterinary medicine of Ukraine]. no. 12, pp. 20–22.

16. Higuchi, H., Nagahata, H. (2001). Relationship between serum biotin concentration and moisture content of the sole horn in cows with clinical laminitis of sound hooves. *Veter. Rec.* Vol. 148, no. 7, pp. 209–210.

17. Webster, A.J.F. (2002). Effects of housing practices on the development of foot lesions in dairy heifers in early lactation. *Veter. Rec.* Vol. 151, no. 1, pp. 9–12.

18. Khomyn, N.M. (2006). Aseptychni pododermatyty u velykoi rohatoi khudoby (etiologiya, profilaktyka ta likuvannya: avtoref. dys. na zdobuttia nauk. stupenia doktora vet nauk: spets. 16.00.05. [Aseptic subdermatitis in cattle (etiology, prevention and treatment: author's dissertation for the degree of Doctor of Veterinary Sciences: special 16.00.05.]. Bila Tserkva, 36 p.

19. Karpenko, L. Yu., Karpenko, A.N. (2008). Byokhymicheskye aspekty razvytiya kostno-sustavnoi patolohyy u korov [Biochemical aspects of the development of bone and joint pathology in cows]. *Visnyk Bilotserkivskoho DAU* [Bulletin of Bila Tserkva State Agrarian University]. Issue 56, pp. 71–75.

20. Kutlukaev, Y.Y. (2003). Effektivnost tkany VYON KN-1 v sochetany s antymykrobnymy preparatamy pry lecheny hnoino-nekrotycheskykh zabolevaniy paltsev u korov: dys.... kand. vet. nauk: 16.00.05. [Efficiency of fabric VION KN-1 in a combination to antimicrobial preparations at treatment of purulent-necrotic diseases of fingers at cows: the dissertation of the candidate of veterinary sciences: 16.00.05.]. Kazan, 150 p.

21. Panasjuk S. D. Znachenie asociacij mikroorganizmov v jetiologii i profilaktike infekcionnykh boleznej konechnostej krupnogo i melkogo rohatogo skota: nekrobakterioz, kopytnaja gnii': dis. ... d-ra vet. nauk. Moskva, 2007. 470 s.

22. Molokanov, V.A., Malov, D.V. (2009). Stymulatsiya ymnnoho otveta pry nekrobakterioze krupnogo rohatogo skota [Stimulation of the immune response in necrobacillosis of cattle]. *Veternaryia* [Veterinary science]. no. 2, pp. 22–23.

23. Borysevych, V.B., Sytiuk, V.H., Borysevych, B.V. (2009). Ymmunokompleksnyi pododermatyt u korov [Immunocomplex pododermatitis in cows]. *Veternaryia* [Veterinary Medicine]. no. 4, pp. 40–42.

24. Stelmukhov, M.V. (2009). Jetiopatogeneticheskaja terapija gnojno-nekroticheskikh jazv kopytec u korov: dis. ... kand. vet. nauk: 16.00.05. [Etiopathogenetic therapy of purulent-necrotic ulcers of hooves in cows: the dissertation of the candidate of veterinary sciences: 16.00.05.]. St. Petersburg, 153 p.

25. Tothova, C., Nagy, O., Seidel, H., Paulikova, I. (2011). The influence of hoof diseases on the concentrations of some acute phase proteins and other variables of the protein profile in heifers. *Acta Veter.* Vol. 61, no. 2–3, pp. 141–150.

26. Jawori, P., Steinerz, S., Stefaniaki, T. (2008). Determination of selected acute proteins during the treatment of limb diseases in dairy cows. *J. Vet. Med.* Vol. 53, pp. 173–183.

27. Cray, C., Zaias, J., Altman, N.H. (2009). Acute Phase Response in Animal. *J. Comp. Med.* Vol. 59, no. 6, pp. 517–526.

28. Becker, J., Steiner, A., Kohler, S., Koller-Bahler, A., Wuthrich, M., Reist, M. (2014). Lameness and foot lesions in

Swiss dairy cows: I. Prevalence. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 156, pp. 71–78.

29. Refaai, W., van Aert, M., Abd El-Aal, A.M., Behery, A.E., Opsomer, G. (2013). Infectious diseases causing lameness in cattle with a main emphasis on digital dermatitis (Mortellaro disease). *Livest. Sci.* 156, pp. 53–63.

30. Mills, J.A., Zarlenga, D.S. (2009) Age, segment, and horn disease affect expression of cytokines, growth factors, and receptors in the epidermis and dermis of the bovine claw. *J. Dairy Sci.* 92, pp. 5977–5987.

31. Trevisi, E., Jahan, N., Bertoni, G., Ferrari, A., Minuti, A. (2015). Pro-inflammatory cytokine profile in dairy cows: consequences for new lactation. *Italian Journal of Animal Science.* 14, pp. 285–292.

32. Nagoev, B.S., Nagoeva, M.H., Kambachokova, Je.A. (2011). O roli citokinov v regulacii immunoj sistemy pri infekcionnykh zabolevaniyah: materialy III Ezhegodnogo Vserossijskogo Kongressa po infekcionnym boleznyam (Moskva, 28-30 marta 2011 goda) [On the role of cytokines in the regulation of the immune system in infectious diseases: proceedings of the III Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases (Moscow, March 28-30, 2011)]. *Infekcionnye bolezni* [Infectious diseases]. Vol. 9, application no. 1, 260 p.

33. Odehov, E.S., Petrova, O. H. (2016). Analiz tsytokynovoho statusa pry ORVY krupnogo rohatoho skota [Analysis of cytokine status in acute respiratory viral infections in cattle]. *Molodoi uchenui* [Young scientist]. no. 6.5, pp. 89–91.

34. Vlasenko, S.A. (2017). Patohenetychni mekhanizmy porushen reproduktyvnoi funktsii u vysokoproduktyvnykh koriv za hniino-nekrotychnykh urazhen v diliansi paltsiv Dys... d-ra. vet. nauk : spets. 16.00.05. 16.00.07 [Pathogenetic mechanisms of reproductive dysfunction in highly productive cows with purulent-necrotic lesions in the fingers: doctor's dissertation. of veterinary sciences: 16.00.05. 16.00.07.]. Bila Tserkva, 429 p.

35. Kuznetsov, A.P., Hriaznykh, A.V., Sazhyna, N.V. (2015). Fyzyolohiya ymmunnoi systemy: monohrafiya [Physiology of the immune system: monograph]. Kurhan: Yzd-vo Kurhanskoho hos. un-ta [Kurgan: Publishing house of the Kurgan state. University]. 150 p.

36. Gadek-Michalska, A., Bugajski, A.J., Bugajski, J.J. (2008). Prostaglandins and interleukin-1beta in the hypothalamic-pituitary-adrenal response to systemic phenylephrine under basal and stress conditions. *Physiol Pharmacol.* Vol. 59(3), pp. 563–575.

37. Schroeksnadel, K., Kaser, S., Ledochowski, M. (2003). Increased degradation of tryptophan in blood of patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* Vol. 30(9), pp. 1935–1939.

38. Taylor, R.W. (1992). Sepsis, sepsis syndrome and septic shock. Philadelphia Lippincott. 537 p.

39. Didion, S.P., Kinzenbaw, D.A., Schrader, L.I. (2009). Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II- induced vascular. *Hypertension.* Vol. 54, no. 3, pp. 619–624.

40. Asadullah, K., Sterry, W., Volk, H.D. (2003). Interleukin-10 therapyreview of new approach. *Pharmacological reviews.* Vol. 55, no. 2, pp. 241–269.

41. Tinsley, J.H., South, S., Chiasson, V.I. (2010). Interleukin-10 reduces inflammation, endothelial dysfunction, and blood pressure in hypertensive pregnant rats // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* Vol. 298, no. 3, pp. 713–719.

42. Rublenko, M.V. (2012). Tsytokinovyi status, reaktsiia hostroi fazy ta yii korektsiia za akusherskoi ta khirurhichnoi patolohii u produktyvnykh ta dribnykh domashnikh tvaryn [Cytokine status, acute phase reaction and its correction in obstetric and surgical pathology in productive and small domestic animals]. Bila Tserkva, 21p.

43. Caruso, R. (2014). NOD1 and NOD2: signaling, host defence, and inflammatory disease. *Immunity*. Vol. 41, pp. 898–908.

Цитокиновый профиль у коров с некробактериозными поражениями пальцев

Рубленко М.В., Мельников В.В.

Ортопедические болезни у коров существенно снижают рентабельность молочного скотоводства, нанося значительный ущерб технологического и экономического характера. Целью исследования было установление цитокинового профиля у коров с некробактериозными поражениями участков пальцев. Работа выполнена в условиях типичных молочных ферм, на коровах с различными клиническими формами гнойно-некротического поражения конечностей некробактериозного характера. Диагностические исследования включали комплекс клинических, бактериологических биоптатов гнойно-некротических очагов и определения уровня цитокинов в крови с помощью иммуно-ферментного анализа. При бактериологическом исследовании были выявлены различные ассоциации *F. necrophorum* с *E. coli*, *Clostridium spp.*, *Diplococcus lans.*, стафило- и стрептококками, что верифицировали некробактериозный характер поражений конечностей у коров. Установлено, что у коров с острым течением гнойно-некротического воспалительного процесса в области пальцев резко возрастают концентрации ФНО- α и ИЛ-10. Генерализованная форма некробактериозных поражений характеризуется критическим ростом уровня в крови ФНО- α в 16,8 раза, ИЛ-1 β в 17,8 раза по сравнению с его уровнем при острой форме концентрации ИЛ-10. Цитокиновый индекс ИЛ-10: ФНО- α приобрел критического значения – 0,4:1, а ИЛ-10 к ИЛ-1 β – 1:1. Отмечается развитие неконтролируемой флогогенной цитокинемии, что отражает синдром системного воспалительного ответа. Рецидивирующий тип гнойно-некротических поражений конечностей характеризуется достаточно низкими уровнями ИЛ-1 β и ИЛ-10. Содержание ИЛ-1 β было большим в 2,4 раза ($p < 0,05$). Однако концентрация ФНО оставалась достаточно большой и преобладала над показателем нормы в 12,6 раза ($p < 0,001$), что отразилось на чрезвычайно низком соответствующем индексе 0,3:1. То есть в данном случае при хроническом течении некробак-

териозных поражений конечностей у коров формируется некомпенсированная перманентная цитокинемия за счет ФНО- α , что приводит к рецидивирующему характеру гнойно-некротического процесса. Итак, механизм развития цитокинового профиля у крупного рогатого скота требует дальнейших исследований.

Ключевые слова: флогогенные и противовоспалительные гнойно-некротические поражения, цитокины, коровы, воспаление, пальцы.

Cytokine profile in cows with necrobacterial fingers Rublenko M., Melnikov V.

Orthopedic diseases in cows significantly reduce the profitability of dairy cattle breeding, causing significant technological and economic damage. The aim of the study was to establish a cytokine profile in cows with necrobacterioses of finger lesions. The work was performed in typical dairy farms, on cows with various clinical forms of purulent-necrotic lesions of the extremities of a necrobacterial nature. Diagnostic studies included a complex of clinical, bacteriological biopsy samples of purulent-necrotic foci and determination of the level of cytokines in the blood using enzyme-linked immunosorbent assay. A bacteriological study revealed various associations of *F. necrophorum* with *E. coli*, *Clostridium spp.*, *Diplococcus lans.*, *Staphylococcus aureus* and streptococci, which verified the necrobacterial nature of limb lesions in cows. It was established that in cows with an acute course of purulent-necrotic inflammatory process in the finger area, the concentrations of TNF- α and IL-10 sharply increase. The generalized form of necrobacillary lesions is characterized by a critical increase in the level of TNF- α in the blood by 16.8 times, IL-1 β by 17.8 times compared with its level in the acute form of the concentration of IL-10. The cytokine index IL-10: TNF- α acquired a critical value of 0.4: 1, and IL-10 to IL-1 β - 1: 1. The development of uncontrolled phlogogenic cytokinemia is noted, which reflects a systemic inflammatory response syndrome. A recurrent type of purulent-necrotic lesion of the extremities is characterized by rather low levels of IL-1 β and IL-10. The content of IL-1 β was 2.4 times greater ($p < 0.05$). However, the concentration of TNF remained quite large and prevailed over the norm by 12.6 times ($p < 0.001$), which was reflected in the extremely low corresponding index of 0.3: 1. That is, in this case, in a chronic course of necrobacteriosis of the extremities of cows, uncompensated permanent cytokinemia due to TNF- α is formed, which leads to the recurrent nature of the purulent-necrotic process. So, the mechanism of development of the cytokine profile in cattle requires further research.

Key words: phlogogenic and anti-inflammatory purulent-necrotic lesions, cytokines, cows, inflammation, fingers.



Copyright: © Рубленко М.В., Мельников В.В. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Рубленко М.В.
Мельников В.В.

ID <https://orcid.org/0000-0001-9690-9531>
ID <https://orcid.org/0000-0003-2556-9001>



ХІРУРГІЯ

УДК 616.5-006:636.7

Клініко-експериментальне обґрунтування використання височастотного електрокоагулятора ЕК-300М1 за хірургічного лікування новоутворень молочної залози у сук

Рубленко С.В. , Яремчук А.В., Власенко В.М.

Білоцерківський національний аграрний університет



E-mail: Рубленко С.В. Rubs@ukr.net; Яремчук А.В. A.Yaremchuk@ukr.net



Рубленко С.В., Яремчук А.В., Власенко В.М.
Клініко-експериментальне обґрунтування використання височастотного електрокоагулятора ЕК-300М1 за хірургічного лікування новоутворень молочної залози у сук. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 129–139.

Rublenko S. V., Yaremchuk A. V., Vlasenko V. M.
Kliniko-eksperymental'ne obgruntuvannya vykorystannja vysokochastotnogo elektrokoagulyatora EK-300M1 za hirurghichnogo likuvannja novoutvoren' molochnoi' zalozy u suk. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 129–139.

Рукопис отримано: 06.05.2020р.

Прийнято: 19.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-129-139

Сучасна лікувальна практика показує, що допоки єдиним ефективним лікувальним прийомом за онкопатології молочної залози у собак залишається оперативне втручання. Існуючі нині розробки хіміо- та променевої терапії є малоефективними та надто дорогими. Для ідентифікації типів пухлин молочної залози та їх анатомічного поширення необхідно мати надійну гістологічну діагностику. У більшості випадків вона застосовується тому, що основним для лікування пухлин молочної залози собак залишається хірургічне їх видалення.

Беззаперечно визначальними за такого методу лікування виступають явища ендотоксикозу. Ендотоксикоз у ранній післяопераційний період складається із ятрогенної, пухлинної з пухлинами поодинокі і базуються на невеликій кількості спостережень. Проте результати інтоксикації та наслідків масивного хірургічного пошкодження тканин часто є визначальним чинником для результату лікування. Нажаль повідомлення про дослідження МСМ у тварин отримані нами свідчать, що практично у всіх тварин з пухлинами молочної залози присутня ендогенна інтоксикація, яка виявлена по рівню МСМ та МДА у плазмі крові.

На нашу думку, визначення рівня цих маркерів ендотоксикозу до операції та у післяопераційний період може бути об'єктивним критерієм ризику хірургічного лікування. Моніторинг рівня МСМ у віддалений післяопераційний період, у комплексі з іншими біохімічними дослідженнями може бути критерієм оцінки загального клінічного стану тварини щодо розвитку метастазів. Вірогідно нижчі рівні ендогенної інтоксикації та клінічно підтверджене зменшення тривалості лікування є яскравим підтвердженням ефективності застосування височастотного електрокоагулятора ЕК-300М1. У собак за пухлин молочної залози були високими рівні МСМ та МДА, що є відображенням рівня ендогенної інтоксикації і може слугувати об'єктивним критерієм ризику хірургічного лікування та післяопераційного відновлення. Прогресивне зниження цих показників у тварин дослідної групи доводить ефективність запропонованої тактики лікування.

Ключові слова: пухлини, електрокоагулятор ЕК-300М1, мастектомія, суки, онкологія, ендогенна інтоксикація, загоєння ран.

Постановка проблеми. За даними дослідників із різних країн [1], неоплазії найбільш поширені серед собак, водночас у структурі онкологічних захворювань провідне місце займають пухлини молочної залози (25–43 %), з них більше половини це злоякісні процеси. Незважаючи на сучасні наукові досягнення у галузі медичної та ветеринарної онкології, в клінічній практи-

ці лікування пухлинної патології, окрім гемобластозів та окремих форм неоплазій, хірургічний метод не втратив своєї актуальності. Однак, за хірургічного лікування дискусійними на сьогодні залишаються питання щодо радикалізму операції у випадках місцево-поширених форм захворювання. За локалізації пухлин в ділянках життєво важливих органів об'єми оператив-

ного втручання часто обмежені анатомічними особливостями ділянки (зокрема за пухлин в сечостатевої системі). Ще однією істотною проблемою є схильність пухлин до рецидивів по місцю екстирпації. Максимальне видалення тканин для профілактики метастазування не завжди є виправданим. Водночас засоби профілактики у формі променевої чи хіміотерапії малодоступні через їх вартість чи складність і часто виникає проблема їх доцільності через малу тривалість подовження життя пацієнта після проведеної терапії [2, 3].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Нині хірургічне лікування пухлин у ветеринарії є пріоритетним, на перший план виступають завдання проведення комбінованих оперативних і реконструктивних втручань. Доведено, що комбіновані і розширені операції як за місцево поширених процесів, так і за наявності віддалених метастазів істотно поліпшують безпосередні, віддалені та функціональні результати лікування [4]. Однак частота таких операцій невелика. Відсутні чітко визначені показання до комбінованих операцій у випадках залучення в пухлинний процес сечостатевих шляхів, великих артеріальних і венозних судин. Недостатньо встановлена послідовність мобілізації органно-комплексу за різних варіантів ураження. Не уточнені показання до тих чи інших реконструктивних і відновних операцій. Потребує також розробки технічна сторона оперативних втручань [5–7].

На сьогодні найбільш перспективним вважається використання у ветеринарній хірургічній практиці видалення пухлин як монотерапії із застосуванням високотехнологічних методів хірургії, які на тваринах практично не вивчені.

Таким чином, слід відмітити, що відсутність досконалих підходів вирішення нагальних питань стосовно діагностики та розробки адекватних методів лікування тварин із пухлинними ураженнями молочної залози, спонукало нас до вивчення можливостей використання сучасних технологій гемостазу та безкровного роз'єднання тканин.

Мета дослідження – клінічно та лабораторно обґрунтувати ефективність застосування високочастотного електрокоагулятора ЕК-300М1 за оперативних втручань в ділянці молочної залози у сук за онкопатології.

Матеріал і методи дослідження. Клініко-експериментальне обґрунтування можливості застосування високочастотного електрокоагулятора ЕК-300М1 проводили за оперативного лікування неоплазій молочної залози у сук. Робота виконана на собаках віком від 5 до 13 років (10 гол.) Для цього сформува-

ли дві групи тварин по 5 голів у кожній. Відбирали собак із пухлинами молочної залози і показаннями до оперативного їх видалення. В усіх тварин до операції та анестезії, після операції на 10-ту добу та через 2 місяці відбирали проби крові.

У першій групі тварин виконували оперативне видалення пухлин молочної залози традиційним методом із застосуванням електроножа (МАВР 220).

У другій (дослідній) групі тварин оперативне видалення пухлин молочної залози виконували за допомогою високочастотного електрокоагулятора ЕК-300М1.

Враховуючи дані літератури щодо етіопатогенезу пухлин молочної залози у сук, поряд із оперативним видаленням пухлини в обох групах виконували овариогістеректомію.

Анестезіологічне забезпечення за оперативних втручань проводили згідно з розробленою нами методикою [8], в обох групах було однаково: за 20 хвилин до ін'єкції основного анестетика внутрішньом'язово ін'єктували 2 % розчин ацепромазину у дозі 0,5 мг/кг маси тіла, та бутомідор у дозі 0,2 мл на 10 кг маси тіла, перед операцією внутрішньовенно ін'єктували 10 % розчин тіопенталу натрію в дозі 10 мг/кг. Місцево за потреби застосовували інфільтраційну анестезію 1 % розчином лідокаїну.

Для гістологічного дослідження відбирали свіжий матеріал без посмертних змін. Біоптат з патолого-анатомічними змінами (пухлини, виразки) вирізали на межі з нормальною тканиною. За розповсюдженого патологічного процесу відбирали декілька біоптатів, один в центрі ураження, а інші на межі з здоровими тканинами.

Закріплення тканинних структур в тому стані, в якому вони знаходилися проводили шляхом занурення біоптатів у фіксуючу рідину (шляхом осадження – коагуляції білків). Зневоднення у спирті робили з метою підготовки тканини для просочування парафіном.

Фіксовані біоптати після зневоднення переносили спочатку в суміш спирту з хлороформом на 8–12 годин, а потім в чистий хлороформ на такий же час. Для поступового та кращого просочування біоптати тканини переносили у розплавлену суміш хлороформу та парафіну за температури 35–40 °C на 2–3 години. З цієї суміші перекладали біоптати в розплавлений парафін на 2–3 °C вище точки плавлення парафіну (54–55 °C) на 1–4 години. Після цього їх перекладали у формочки з чистим парафіном, швидко охолоджували, після чого вирізали і наклеювали на дерев'яні блоки гарячим шпателем.

Зрізи на мікромомі робили товщиною 3–5–15 мкм, клали в теплу дистильовану воду та переносили на предметне скло, просушували фільтрувальним папером і досушували в термостаті за 37–40 °С.

Перед фарбуванням зрізи звільняли від парафіну, використовуючи ксилол або толуол.

На зрізи наносили гематоксилін 1–2 хвилини, промивали дистильованою водою, еозин наносили на 1–3 хвилини, промивали водою, а потім 96 % етиловим спиртом впродовж 5 хвилин. Після чого покривали бальзамом і покривним скельцем.

Об'єктивними маркерами стану ендогенної інтоксикації виступають речовини пептидної природи із середньою молекулярною масою (МСМ) та окисна вільнорадикальна перекисна деструкція ліпідів. Їх рівень визначали за стандартизованими методиками.

Результати дослідження. Клінічне дослідження новоутворень виконували методом огляду та пальпації. При цьому виявляли новоутворення в області молочної залози в ділянках 5-ї, 4-ї, та 1-ї пар сосків. Шкіра уражених пухлинами ділянок помірно волога, напружена від рожевого до червонуватого кольору. Температура у ділянці пухлин тактильно не відрізняється від температури тіла (рис. 1).

Залежно від розмірів та природи виявляли пухлини інтегровані зі шкірою і такі, що вільно рухаються під нею. Пухлини, які видаляли, були різного розміру від квасолини до новоутворення вагою 2,8 кг. Форма пухлин була також різною. Доброякісні фіброаденоми були чітко

окреслені, рухливі туго еластичної консистенції, великих розмірів.

У разі злоякісних форм виявляли пухлини значних розмірів, щільної консистенції, з ділянками розм'якшення. Шкіра на деяких із цих пухлин була некротизована, спостерігалися гнійно-гнильні нориці. Поверхня таких пухлин була бугриста, з щільним приляганням шкіри. Нерідко за пальпації виявляли метастазування у регіонарні лімфатичні вузли.

В обох групах тварин перед операцією визначали анестезіологічний ризик, що було пов'язано із станом тварин. Більшість тварин надходила в клініку із пухлинами великих розмірів, що було пов'язано із страхом господарів звернутися вчасно та почути діагноз “пухлина”.

Як у контрольній, так і дослідній групах собак, мастектомію виконували з використанням приладів для зменшення кровотечі. Тварин фіксували у спинному лежачому положенні. Після загальної анестезії у тварин з чітко окресленими контурами пухлин виконували місцеву інфільтраційну анестезію. У тварин з пухлинами, які не мали чітких контурів, намагалися уникнути місцевої анестезії, щоб запобігти травмуванню пухлини ін'єкційною голкою та розповсюдженню її клітин.

Розріз проводили як з медіальної, так із латеральної сторін, намагаючись видалити з пухлиною повністю уражену шкіру (рис. 2).

Потім за допомогою електроножа (контрольна група) чи височастотного електрокоагулятора ЕК-300М1 (дослідна група



Рис1. Пухлина молочної залози.

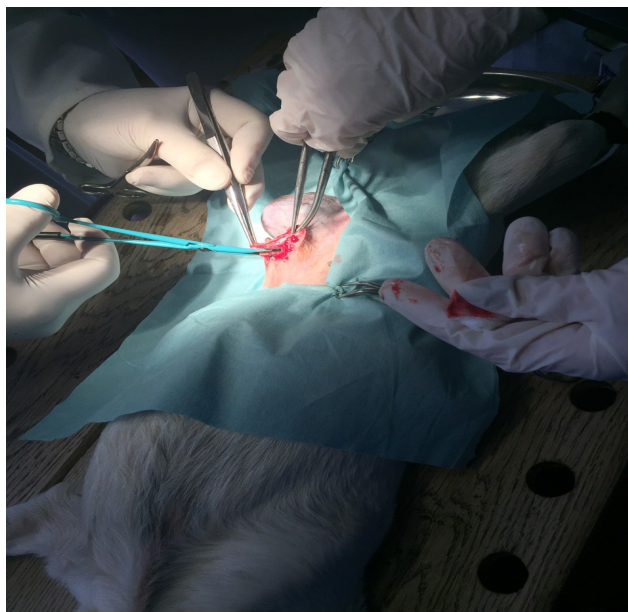


Рис. 2. Розріз шкіри та гемостаз у дослідній групі.

відділяли не лише видозмінену тканину пухлини, а й повністю тканину молочної залози ураженого пакету, а у деяких випадках і сусіднього пакету. На судини (контрольна група) попередньо накладати лігатури, щоб попередити кровотечу в оточуючі тканини. Водночас у собак дослідної групи прилад дозволяв заварювати судини, тим самим попереджувати кровотечу та уникати лігування судин (рис. 3).

Після проведення оперативного втручання у тварин дослідної групи ранова поверхня була без виражених опіків та ушкоджених тканин, що виступало підґрунтям для швидкого подальшого загоєння (рис. 4).

Під час операції дотримувалися принципів абластики. Операційні рани в обох групах закривали ситуаційними вузловими швами (рис. 5).

У контрольній та дослідній групах тварин після мастектомії проводили оваріогістерек-



Рис. 3. Зварювання судин у контрольній групі при видаленні пухлин.



Рис. 4. Ранова поверхня після видалення пухлини у дослідній групі.



Рис. 5. Після операційна рана.

томію. Операцію проводили традиційним методом з оперативним доступом по білій лінії. Слід відмітити, що у даному випадку застосовували більш жорсткіші вимоги щодо асептики операційного поля.

Протягом п'яти післяопераційних діб тваринам застосовували антибіотикотерапію цефазоліном двічі на день. Шви протягом 8 діб раз на добу обробляли йоддицирином. Знімали шви у контрольній групі собак на $12 \pm 0,09$ добу після хірургічного втручання. У тварин дослідної групи, де застосовували високо-частотний електрокоагулятор ЕК-300М1, рани загоювалися швидше, а шви знімали на $9,5 \pm 0,03$ добу. Загоєння операційних ран відбувалося по первинному натягу без значних ускладнень. Тоді як у тварин контрольної групи більш сильні опіки тканин нанесені електроножем «МАНВР 120» загоювалися з утворенням інтенсивного запального набряку, а у трьох собак відмічали вихід гнійного екссудату протягом 4–5 доби після операції. Таким

тваринам в порожнину післяопераційних ран вводили мазь «Мірамістин» і забезпечували вільний відтік екссудату.

Слід зазначити, що у тих випадках коли видаляли 5-й пакет молочної залози післяопераційний набряк на 2–3-тю добу був значним і поширювався на пахвинну ділянку, що ми пов'язуємо з лімфостазом. У таких випадках проводили інфільтрацію оточуючих тканин 0,5 % розчином новокаїну.

Через 2 місяці після оперативного втручання за клінічного огляду тварин першої групи у 2-х були виявлені ущільнення розміром 5–10 мм, рухливі твердої консистенції не болючі. У тварин дослідної групи таких ускладнень не виявили.

Об'єктивним маркером ендогенної інтоксикації є речовини пептидної природи із середньою молекулярною масою (МСМ). Хоча в нормі вони є природними метаболітами життєдіяльності організму тварини, однак за умов накопичення їх в крові у великих концентраціях, вони набувають високої біологічної активності, змінюють тонус судин, проникність клітинних мембран, впливають на біоелектричну активність серця.

Поряд з цим характерною особливістю порушення метаболізму в органах та тканинах організму за критичних станів, є окисна вільнорадикальна переокисна деструкція ліпідів. Про інтенсивність переокисних процесів у організмі тварини свідчить рівень концентрації у крові малонового діальдегіду (МДА), одного із кінцевих продуктів переокисного окислення ліпідів (ПОЛ).

Дослідження плазми крові дослідних собак до анестезії показали, що концентрація кінцевого метаболіту пероксидації ліпідів – МДА, знаходилася на рівні $30,2 \pm 0,6$ мкмоль/л у першій групі і практично не відрізнялася від концентрації у другій групі (табл. 1). Проте, слід відмітити, що рівень МДА в обох групах був відповідно у 2,4 та 2,7 рази вищим ніж у здорових тварин, що може бути свідченням порушення метаболізму у цих тварин, яке ми пов'язуємо з патологією молочної залози.

Підтвердженням цьому є високий рівень МСМ як у першій так і другій групах відповідно $12,3 \pm 0,05$ та $13,1 \pm 0,04$ г/л.

Таблиця 1 – Динаміка рівня МДА та МСМ у сук із пухлинами молочної залози

Етапи досліджень	І група		ІІ група	
	МДА, мкмоль/л	МСМ, г/л	МДА, мкмоль/л	МСМ, г/л
Здорові	$12,4 \pm 0,13$	$3,1 \pm 0,03$	$12,4 \pm 0,13$	$3,1 \pm 0,03$
До анестезії	$30,2 \pm 0,6^*$	$12,3 \pm 0,05$	$34,2 \pm 0,7$	$13,1 \pm 0,04$
Через 10 днів	$21,3 \pm 0,29^*$	$9,4 \pm 0,05^{**}$	$22,1 \pm 0,7$	$11,2 \pm 0,03$
Через 2 міс	$18,3 \pm 0,23$	$8,7 \pm 0,04^*$	$17,1 \pm 0,6$	$10,1 \pm 0,03$

Примітка: значення р: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$, порівняно з дослідною групою.

Через 10 діб після операції рівень МДА знизився у першій групі в 1,4, а у другій – у 1,5 рази. Подібна динаміка була і щодо рівня МСМ.

За проведення дослідження рівня МДА через 2 місяці видалення пухлин у першій групі виявили, що його рівень продовжував знижуватися, проте не так стрімко як після операції. У другій групі собак, порівняно з першою, зниження МДА було більш суттєвим у 1,3 рази.

Тенденція до зниження рівня МСМ спостерігалася в обох групах, проте вираженого зниження не відмічали.

У тварин відмічали підвищення рівня МДА у плазмі крові собак до $23,3 \pm 0,3$ мкмоль/л. Прослідковувалася тенденція і до зростання рівня МСМ – $9,7 \pm 0,03$ мкмоль/л.

Таким чином дослідження рівня ендотоксикозу у собак свідчать про те, що рівні МДА та МСМ у тварин з пухлинами молочної залози більш ніж удвічі перевищували їх рівні у здорових собак. Водночас у післяопераційний період відмічали їх зниження, проте до рівня у здорових тварин все ж таки не доходило.

Обговорення. Метод використаний нами у роботі – височастотного зварювання м'яких живих тканин (ВЧ ЗМЖТ), розроблений в Інституті електрозварювання ім. Є.О. Патона в тісній співпраці з Міжнародною асоціацією «Зварювання», а також компанією CSMG, США, показав свою ефективність і успішно використовується в медичній практиці. Даний процес забезпечує надійний гемостаз, можливість формування плівок коагульованої крові на поверхні тканини, відсутність термічного ураження паренхіми органу, можливість безпечної роботи в області великих судин і порожнистих органів. За використання височастотного зварювання виключається ураження тканини в місці роз'єднання тканин, що сприяє більш швидкому і легкому загоєнню прооперованого органу, відновленню його морфологічної структури і функцій.

Принципова відмінність впливу на живу тканину процесу зварювання від електрокоагуляції (метод використаний нами у тварин контрольної групи) в тому, що остання зумовлює опік і змертвіння тканини в місці нагріву, в той час як за використання зварювальної технології досягається значно менше травмування тканин, що підтверджується морфологічними дослідженнями, а також відсутністю в процесі зварювання виділення диму і неприємного запаху. «Бездимна» технологія позитивно позначається на здоров'ї не тільки хворого, але і хірурга.

Таким чином отримані результати досліджень свідчать про те, що проведення одномо-

ментно мастектомії з використанням височастотного електрокоагулятора ЕК-300М1 та оваріогістероектомії у сук попереджує крововтрату під час операції, значно знижує вірогідність розвитку післяопераційних ускладнень та розвиток новоутворень протягом перших 2-х місяців після операції.

На жаль, мало констатувати той факт, що кількість онкологічних захворювань у собак різко збільшується. Причинами є незадовільний екологічний стан, незбалансована годівля, а як наслідок – порушення обмінних процесів, зниження захисних сил організму і виникнення багатьох захворювань, в тому числі і онкологічних [9].

Аналіз опрацьованої інформації свідчить, що в лікуванні пухлин собак існує дві тенденції: оперативне втручання; лікування шляхом мобілізації власних сил організму. Наприклад, західна медицина ветеринарії пішла шляхом лікування пухлин за допомогою хірургічних методів, лікувальних препаратів, фізико- і хіміотерапії [10]. Східна (Тібецька) медицина і ветеринарія пішли по шляху мобілізації власних захисних сил організму за рахунок повноцінної годівлі. Основою східної медицини є тезис Гіппократа „Пусть Вашим лекарством будет пища, а лекарство – пищей”. Східні медики і ветеринарні лікарі давно вже зрозуміли, що людині і тварині потрібне збалансоване і якісне харчування, яке б задовольняло всі потреби клітин. А якщо таких речовин не вистачає, то розвиваються хвороби.

Під впливом ендогенних і обмінних зрушень в організмі порушуються процеси фізіологічної еволюції в молочних залозах, внаслідок чого з'являються “вогнища” патологічної проліферації епітелію на фоні колагенозу і гіалінозу стромы і утворення кіст. Накопичуючись роками ці зміни призводять до розвитку різних дисплазій і доброякісних пухлин, які в багатьох випадках схильні до онкологічної трансформації. Розвитку пухлин молочної залози сприяє відсутність або недостатність родів, зменшення лактації, несправжня вагітність пов'язана з овуляцією, яка не супроводжується заплідненням, кістозні переродження яєчників, захворювання щитоподібної залози тощо [11].

Для ідентифікації типів пухлин молочної залози та їх анатомічного поширення необхідно мати надійну гістологічну діагностику. У більшості випадків вона застосовується тому, що основним лікуванням пухлин молочної залози залишається хірургічне їх видалення.

Слід враховувати, що зовні доброякісні вузликові утворення, які досить часто важко з достатньою впевненістю відрізнити від зло-

якісного процесу, підлягають хірургічному лікуванню. Саме таке лікування найбільш доступне вітчизняним фахівцям ветмедицини.

Нажаль, застосування інших методів лікування пухлин вітчизняному фахівцю недоступне по ряду добре відомих причин. Тому сьогодні гостро стоїть питання удосконалення саме хірургічних підходів до лікування такої патології.

Доброякісні пухлини не мають жодного загального впливу на організм. Вони впливають місцево, якщо виникають в зоні життєво важливих органів і збільшуються, можуть здавлювати тканини органа і порушувати його функцію [12]. Зокрема, доброякісні пухлини часто спричиняють ускладнення (строгніляція кишечника, кровотеча, обтурація сечостатевого каналу).

Злоякісні пухлини, особливо за довготривалого існування мають різко виражений вплив на організм, зумовлюючи загальне виснаження – кахексію. Це виникає тому, що такі пухлини, маючи інфільтративний ріст, порушують цілісність тканин навколо себе і в зоні розвитку вторинних метастатичних вузлів, внаслідок чого виникає некробіоз і некроз тканин, а також крововиливи. Продукти розпаду пухлини всмокчуються, спричиняючи інтоксикацію організму. Виразки і розпад злоякісних пухлин являють собою сприятливе середовище для розвитку вторинної інфекції, яка в свою чергу посилює явище інтоксикації, порушує функції життєвоважливих органів [10, 13]. Пухлини, які швидко ростуть, потребують великої кількості поживних речовин, необхідних для життєдіяльності організму. Змінюється склад і хімізм крові, обмін речовин. Все це призводить до загального пригнічення організму, зниження апетиту і виснаження.

Можливості консервативного лікування пухлин молочної залози у тварин сучасними препаратами активно вивчаються. Однак, поки ці дослідження не дали втішних результатів. Тому, на сьогодні хірургічне видалення пухлин в межах здорових тканин і з регіональними лімфовузлами залишається єдиним ефективним методом. Не допустимим вважається використання лікувальних мазей, примочок чи присипок, тому що такі дії можуть стимулювати ріст пухлин [9, 11, 14].

У ветеринарній практиці хірургічний метод лікування є основним. Але ефективність хірургічного лікування, навіть за дотримання необхідного онкологічно-обумовленого радикалізму, не завжди має високу ефективність. Це пояснюється тим, що оперативне лікування проводиться з великим запізненням. В лікар-

ню надходять тварини з пухлинами на пізніх стадіях розвитку пухлинного процесу. Використання променевої терапії тварин обмежене по зрозумілим причинам.

Цікавим моментом щодо надання хірургічної допомоги є спосіб розсікання тканин за допомогою явища їх зварювання. Щоб відновлення фізіологічної функції пошкодженого органу проходило швидко і без ускладнень, теплова дія має бути мінімальна, але достатньою для утворення спайки. У зв'язку з цим вимоги до управління процесом зварювання істотно підвищуються. Водночас важливо, щоб процес управління був простим для хірурга, який не має відчувати дискомфорт і витрачати час на налаштування пристроїв. З цією метою створена і успішно застосовується система автоматичного управління процесом зварки. Саме цей метод ми використовували у роботі. Втілити його вдалося завдяки приладу – високочастотний електрокоагулятор ЕК-300М1. Даний спосіб дозволив провести безкровне видалення пухлин молочної залози без значних опіків оточуючих тканин, що позитивно вплинуло на процес післяопераційного відновлення та відсутність рецидивів на ранніх етапах реабілітації.

За злоякісних пухлин порушуються обмінні процеси в організмі. Різке зростання катаболічних реакцій, глибокі зрушення у вуглеводному обміні, за якого використовуються амінокислоти для покриття енергетичних затрат, можуть призвести до накопичення в крові ендогенних токсинів [12–14].

Ендотоксикоз у ранній післяопераційний період складається із ятрогенної, пухлинної інтоксикації та наслідків масивного хірургічного пошкодження тканин.

Нажаль, повідомлення про дослідження МСМ у тварин з пухлинами поодинокі і базуються на невеликій кількості спостережень. Проте результати отримані нами свідчать, що практично у всіх тварин з пухлинами молочної залози наявна ендогенна інтоксикація, яка виявлена нами по рівню МСМ та МДА у плазмі крові. На нашу думку, визначення рівня цих маркерів ендотоксикозу до операції та у післяопераційний період може бути об'єктивним критерієм ризику хірургічного лікування. Моніторинг рівня МСМ у віддалений післяопераційний період, у комплексі з іншими біохімічними дослідженнями може бути критерієм оцінки загального клінічного стану тварини щодо розвитку метастазів [15–17].

Висновки. 1. За матеріалами наших досліджень пухлини молочної залози у сук становлять 8,8 % від загальної кількості захворювань

тварин та 55 % від загальної кількості онкохворих собак, що були обстежені в клініці.

2. Комплексний підхід у хірургічному лікуванні пухлин молочної залози у сук – мастектомія високочастотним електрокоагулятором ЕК-300М1 у поєднанні з оваріогістеректомією, дає можливість скоротити термін загоєння ран, попередити повторний розвиток пухлинного процесу в перші 2 місяців після оперативного втручання.

3. У собак з пухлинами молочної залози був високий рівень МСМ та МДА, що свідчить про рівень ендогенної інтоксикації і може слугувати об'єктивним критерієм ризику хірургічного лікування та післяопераційного відновлення. Прогресивне зниження цих показників у тварин дослідної групи доводить ефективність запропонованої тактики лікування.

Перспектива подальших досліджень полягає у вивченні видових патогенетичних особливостей запально-регенеративної реакції у тварин різних видів за оперативного видалення пухлин різного генезу та різних тактик хірургічного лікування.

Дослідження виконані на собаках з онкопатологією ділянки молочної залози, що надходили на лікування до хірургічної клініки БНАУ. Лікування тварин та хірургічні маніпуляції проводили із дотриманням біоетичних вимог щодо ставлення до тварин і відповідають Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006) та Європейської конвенції «Про захист тварин» (1987).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Goldschmidt M., Peña L., Rasotto R. Classification and grading of canine mammary tumors. *Vet Pathol.* 2011. Vol. (48). P. 117–131. Doi: <https://doi.org/10.1177/0300985810393258> PMID: 21266722
2. Klopffleisch R., Lenze D., Hummel M., Gruber A. Metastatic canine mammary carcinomas can be identified by a gene expression profile that partly overlaps with human breast cancer profiles. *BMC Cancer.* 2010. Vol. (10). 618 p. Doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-618> PMID: 21062462
3. Білий Д.Д. Поширення спонтанних новоутворень молочної залози у собак в умовах м. Дніпропетровськ. Вісник Житомир. нац. агроек. ун-ту. Житомир: Полісся, 2012. Вип. 1 (32), т. 3. Ч. 2. С. 12–18.
4. Klopffleisch R., Lenze D., Hummel M., Gruber A. Metastatic canine mammary carcinomas can be identified by a gene expression profile that partly overlaps with human breast cancer profiles. *BMC Cancer.* 2010. Vol. (10). 618 p. Doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-618> PMID: 21062462
5. Halazonetis T.D., Gorgoulis V.G., Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science.* 2008. Vol. (319). P. 1352–1355. Doi: <https://doi.org/10.1126/science.1140735> PMID: 18323444
6. Bristow R.G., Hill R.P. Hypoxia and metabolism: hypoxia, DNA repair and genetic instability. *Nat Rev Cancer.* 2008. Vol. (8). P. 180–192. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrc2344> PMID: 18273037
7. Рубленко М.В., Білий Д.Д. Поширення спонтанних новоутворень молочної залози у собак в умовах м. Дніпропетровськ. Вісник ЖНАЕУ. Житомир: Полісся, 2012. Вип. 1 (32), т. 3. Ч. 2. С. 12–18.
8. Пухлини тварин: етіологія, патогенез, діагностика, комплексна терапія / А.А. Гамота, В.І. Завірюха, Я.Г. Крупник, А.Р. Мисак.
9. Рубленко С.В. Анестезія свійських тварин та методи її контролю : Метод. рекомендації. Біла Церква, 2009. 56 с.
10. Шестяєва Н.І. Морфологічна характеристика неінфільтраційної карциноми молочної залози собак. Наук. вісник Львів. нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. Серія «Ветеринарні науки» – ЛНУВМ та БТ ім. С.З.Гжицького. Львів, 2013. Т. 13. №2 (48). Ч. 1. С. 503–506.
11. Рубленко М., Білий Д.Д. Гемостазологічна реакція за неоплазій молочної залози у дрібних домашніх тварин. Науковий вісник ветеринарної медицини: Збірник наукових праць. Біла Церква, 2010. Вип. 4 (76). С. 159–164.
12. Estrogen Receptor Beta and CXCR4/CXCL12 Expression: Differences by Sex and Hormonal Status in Lung Adenocarcinoma / V. Rodriguez-Lara et al. *Archives of medical research.* 2014. Vol. 45(2). P. 158–169. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.01.001> PMID: 24486245
13. Самойлюк В.В., Білий Д.Д., Шевченко Є.Є. Особливості лікування новоутворень молочних залоз із ознаками вираженого запалення у собак. Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. 2014. Т. 2. № 3. С. 1–5.
14. Шестяєва Н.І. Патоморфологічні особливості меланоцитарних пухлин у собак. Наук. вісник Львів. нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. Серія «Ветеринарні науки». Львів, 2013. Т. 15. № 1 (55). Ч. 1. С. 252–257.
15. Рубленко М.В., Белый Д.Д. Уровень растворимого фибрина при неоплазиях молочной железы у собак. Вестник АПК Ставрополя. – Ставрополь. 2015. № 1 (17). С. 116–118.
16. Pencho Koshev., Tsvetan Sokolov. Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. *Immunopathology and Immunomodulation.* 2015. P. 173–195. Doi: <http://doi.org/10.5772/61326>
17. Mammary tumor development in dogs is associated with BRCA1 and BRCA2 / P. Rivera et al. *Cancer Res.* 2009. Vol. (69). P. 8770–8774. Doi: <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1725> PMID: 19887619
18. Рубленко М.В., Белый Д.Д. Влияние опухолевого процесса молочной железы у собак на плазминовую активность крови. Вестник Новосиб. гос. агр. ун-та. Новосибирск, 2015. № 1 (34). С. 111–114.
19. Bronden L.B., Nielsen S.S., Toft N., Kristensen A.T. Data from the Danish veterinary cancer registry on the occurrence and distribution of tumors in dogs in Denmark. *Vet Record.* 2010. Vol. (166). P. 586–590. Doi: <http://doi.org/10.1136/vr.b4808> PMID: 20453236
20. Белый Д.Д. Нарушение фибринолитической активности крови при опухолях молочной железы у собак. Вестник Ульянов. гос. с.-х. акад. Ульяновск, 2014. № 3 (27). С. 77–81.

21. Белый Д.Д., Рубленко М.В. Эффективность фармакологической коррекции после экстирпации опухолей молочной железы у собак. Уч. записки Казанск. гос. акад. вет. медицины им. Н.Э. Баумана. Казань, 2015. Т. 221 (1). С. 35–38.

22. Білий Д.Д., Рубленко М.В. Оптимізація хірургічного лікування неоплазій у дрібних домашніх тварин та попередження їх метастазування: науково-методичний посібник. Дніпро, 2017. 32 с.

23. Рубленко М.В., Белый Д.Д. Оценка нарушений механизмов коагуляционной способности крови у собак с опухолевыми поражениями молочной железы. Вестник Ульянов. гос. с.-х. акад. Ульяновск, 2015. № 1 (29). С. 81–84.

24. Andrade F., Figueroa F., Bersano P. Malignant mammary tumor in female dogs: environmental contaminants. Diagn Pathol. 2010. Vol. (5). 45 p. Doi: <http://doi.org/10.1186/1746-1596-5-45> PMID: 20587072

25. Білий Д.Д., Шаганенко В.С. Фібриноген у комплексній оцінці неоплазійного процесу за пухлин молочної залози у собак. Наук. вісник Львів. нац. акад. вет. медицини імені С.З. Гжицького. Львів, 2013. Т. 15. № 3 (57). Ч. 1. С. 40–44.

REFERENCES

1. Goldschmidt, M., Peña, L., Rasotto, R. (2011). Classification and grading of canine mammary tumors. Vet Pathol. Vol. (48), pp. 117–131. Available at: <https://doi.org/10.1177/0300985810393258> PMID: 21266722

2. Klopffleisch, R., Lenze, D., Hummel, M., Gruber, A. (2010). Metastatic canine mammary carcinomas can be identified by a gene expression profile that partly overlaps with human breast cancer profiles. BMC Cancer. Vol. (10), 618 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-618> PMID: 21062462

3. Bilyi, D.D. (2012). Poshyrennia spontannykh novoutvoren molochnoi zalozy u sobak v umovakh m. Dnipropetrovsk [Distribution of spontaneous neoplasms of the breast in dogs in the conditions of Dnepropetrovsk]. Visnyk Zhytomyr. nats. ahroekol. un-tu. [Bulletin of Zhytomyr National Agroecological University]. Zhytomyr: Polissya, Issue 1 (32), Vol. 3, Part 2, pp. 12–18.

4. Klopffleisch, R., Lenze, D., Hummel, M., Gruber, A. (2010). Metastatic canine mammary carcinomas can be identified by a gene expression profile that partly overlaps with human breast cancer profiles. BMC Cancer. Vol. (10), 618 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-10-618> PMID: 21062462

5. Halazonetis, T.D., Gorgoulis, V.G., Bartek, J. (2008). An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. Science. Vol. (319), pp. 1352–1355. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1140735> PMID: 18323444

6. Bristow, R.G., Hill, R.P. (2008). Hypoxia and metabolism: hypoxia, DNA repair and genetic instability. Nat Rev Cancer. Vol. (8), pp. 180–192. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrc2344> PMID: 18273037

7. Rublenko, M.V., Bilyi, D.D. (2012). Poshyrennia spontannykh novoutvoren molochnoi zalozy u sobak v umovakh m. Dnipropetrovsk [Distribution of spontaneous neoplasms of the breast in dogs in the conditions of Dnepropetrovsk]. Visnyk ZhNAEU [Bulletin of Zhytomyr National Agroecological University]. Zhytomyr: Polissya, Issue 1 (32), Vol. 3, Part 2, pp. 12–18.

8. Hamota, A.A., Zaviriukha, V.I., Krupnyk, Ya.H., Mysak, A.R. (2007). Pukhlyny tvaryn: etiologia, patohenez, diahnostyka, kompleksna terapiia [Tumors of animals: etiology, pathogenesis, diagnosis, complex therapy]. Lviv: Halytska vydavnycha spilka [Lviv: Galician Publishing Union]. 168 p.

9. Rublenko, S.V. (2009). Anesteziia sviiskykh tvaryn ta metody yii kontroliu: Metod. Rekomendatsii [Anesthesia of domestic animals and methods of its control: Method. recommendations]. Bila Tserkva, 56 p.

10. Shestiaieva, N.I. (2013). Morfolohichna kharakterystyka neinfiltratsivnoi kartsynomy molochnoi zalozy sobak [Morphological characteristics of non-infiltrative carcinoma of the mammary gland of dogs]. Nauk. visnyk Lviv. nats. un-tu vet. medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Gzhytskoho [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Seriiia „Veterynarni nauky“ – LNUVM ta BT im. S.Z. Hzhitskoho [Series "Veterinary Sciences" - Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Lviv, Vol. 13, no. 2 (48), Part 1, pp. 503–506.

11. Rublenko, M.V., Bilyi, D.D. (2010). Hemostazolohichna reaktsiia za neoplazii molochnoi zalozy u dribnykh domashnykh tvaryn [Hemostasis response to breast neoplasia in small pets]. Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny: Zbirnyk naukovykh prats [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine: Collection of scientific works]. Bila Tserkva, Issue 4 (76), pp. 159–164.

12. Rodriguez-Lara, V., Peña-Mirabal, E., Baez-Saldaña, R., Esparza-Silva, A.L., García-Zepeda, E., Carbon Cervantes, M.A. (2014). Estrogen Receptor Beta and CXCR4/CXCL12 Expression: Differences by Sex and Hormonal Status in Lung Adenocarcinoma. Archives of medical research. Vol. 45(2), pp. 158–169. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.01.001> PMID: 24486245

13. Samoiluk, V.V., Bilyi, D.D., Shevchenko, Ye.Ie. (2014). Osoblyvosti likuvannia novoutvoren molochnykh zaloz iz oznakamy vyrazhenoho zapalennia u sobak [Features of treatment of neoplasms of the mammary glands with signs of severe inflammation in dogs]. Naukovo-tekhnichnyi biuletyn NDTs biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK [Scientific and technical bulletin of the Research Center for Biosafety and Environmental Control of Agricultural Resources]. Vol. 2, no. 3, pp. 1–5.

14. Shestiaieva, N.I. (2013). Patomorfologichni osoblyvosti melanotsytarnykh pukhlyn u sobak [Pathomorphological features of melanocyte tumors in dogs]. Nauk. visnyk Lviv. nats. un-tu vet. medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Gzhytskoho [Scientific Bulletin Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Seriiia «Veterynarni nauky» [Series "Veterinary Sciences"]. Lviv, Vol. 15, no. 1 (55), Part 1, pp. 252–257.

15. Rublenko, M.V., Bilyi, D.D. (2015). Uroven rastvorymoho fybryna pry neoplaziyakh molochnoi zhelezy u sobak [The level of soluble fibrin in breast neoplasms in dogs]. Vestnyk APK Stavropolia [Bulletin of the agricultural industry of Stavropol]. Stavropol, no. 1 (17), pp. 116–118.

16. Kossev, P., Sokolov, T. (2015). Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. Immunopathology and Immunomodulation. pp. 173–195. Available at: <https://doi.org/10.5772/61326>

17. Rivera, P., Melin, M., Biagi, T., Fall, T., Häggström, J., Lindblad-Toh, K. (2009). Mammary tumor devel-

opment in dogs is associated with BRCA1 and BRCA2. *Cancer Res. Vol. (69)*, pp. 8770–8774. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1725> PMID: 19887619

18. Rublenko, M.V., Belyi, D.D. (2015). Vlyanye opukholevoho protsessa molochnoi zhelezy u sobak na plazmynovuiu aktivnost krovy [The influence of the tumor process of the mammary gland in dogs on the plasmin activity of the blood]. *Vestnyk Novosyb. hos. ahr. un-ta. [Bulletin of the Novosibirsk State Agrarian University]*. Novosibirsk, no. 1 (34), pp. 111–114.

19. Bronden, L.B., Nielsen, S.S., Toft, N., Kristensen, A.T. (2010). Data from the Danish veterinary cancer registry on the occurrence and distribution of tumors in dogs in Denmark. *Vet Record. Vol. (166)*, pp. 586–590. Available at: <https://doi.org/10.1136/vr.b4808> PMID: 20453236

20. Belyi, D.D. (2014). Narushenye fybrinolytycheskoi aktivnosti krovy pry opukholiakh molochnoi zhelezy u sobak [Violation of the fibrinolytic activity of blood in breast tumors in dogs]. *Vestnyk Ulian. hos. s.-kh. Akad [Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy]*. Ulyanovsk, no. 3 (27), pp. 77–81.

21. Belyi, D.D., Rublenko, M.V. (2015). Jefferektivnost' farmakologicheskoy korrektsii posle jekstirpacii opuholej molochnoj zhelezy u sobak [The effectiveness of pharmacological correction after extirpation of breast tumors in dogs]. *Uch. zapiski Kazansk. gos. akad. vet. medicyny im. N.Ie. Bauman [Uch. notes Kazan. state Acad. vet. medicine to them. N.E. Bauman]*. Kazan, Vol. 221 (1), pp. 35–38.

22. Belyi, D.D., Rublenko, M.V. (2017). Optyimizatsiia khirurhichnoho likuvannia neoplazii u dribnykh domashnykh tvaryn ta poperedzhennia yikh metastazuvannia: nauko-vo-metodychnyi posibnyk [Optimization of hirurgic treatment of neoplasia in other domestic creatures and progressive metastasis: a science-methodical guide]. Dnipro, 32 p.

23. Rublenko, M.V. Belyi, D.D. (2015). Otsenka narushenyi mekhanizmov koahulyatsyonnoi sposobnosti krovy u sobak s opukholevymu porazheniyamy molochnoi zhelezy [Assessment of disorders of blood coagulation ability in dogs with breast lesions]. *Vestnyk Ulian. hos. s.-kh. akad. [Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy]*. Ulyanovsk, no. 1 (29), pp. 81–84.

24. Andrade, F., Figueroa, F., Bersano, P. (2010). Malignant mammary tumor in female dogs: environmental contaminants. *Diagn Pathol. Vol. (5)*, 45 p. Available at: <https://doi.org/10.1186/1746-1596-5-45> PMID: 20587072

25. Bilyi, D.D., Shahanenko, V.S. (2013). Fybrinohen u kompleksnii otsyntsi neoplaziinoho protsesu za pukhlyn molochnoi zalozy u sobak [Fibrinogen in a comprehensive assessment of the neoplastic process in breast tumors in dogs]. *Nauk. visnyk Lviv. nats. akad. vet. medytsyny imeni S.Z. Hzhyskoho [Scientific Bulletin Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]*. Lviv, Vol. 15, no. 3 (57), Part 1, pp. 40–44.

Клинико-экспериментальное обоснование использования высокочастотного электрокоагулятора ЕК-300М1 для хирургического лечения новообразований молочной железы у сук.

Рубленко С.В., Яремчук А.В., Власенко В.М.

Современная лечебная практика показывает, что пока единственным эффективным лечебным приемом по онкопатологии молочной железы у собак остается опера-

тивное вмешательство; существующие ныне разработки химио- и лучевой терапии малоэффективны и слишком дорогие. Для идентификации типов опухолей молочной железы и их анатомического распространения необходимо иметь надежную гистологическую диагностику. В большинстве случаев она применяется потому, что основным лечением опухолей молочной железы собак остается хирургическое их удаление.

Безусловно определяющими при таком методе лечения выступают явления интоксикации организма и эндотоксикоза. Эндотоксикоз в ранний послеоперационный период состоит из ятрогенной, опухолевой с опухолями единичные и базируются на небольшом количестве наблюдений. Однако результаты интоксикации и последствий массивного хирургического повреждения тканей часто является определяющим фактором для исхода лечения. К сожалению сообщение об исследовании МСМ у животных полученные нами свидетельствуют, что практически у всех животных с опухолями молочной железы присутствует эндогенная интоксикация, которая обнаружена по уровню МСМ и МДА в плазме крови.

По нашему мнению, определение уровня этих маркеров эндотоксикоза к операции и в послеоперационный период может быть объективным критерием риска хирургического лечения. Мониторинг уровня МСМ в отдаленный послеоперационный период, в комплексе с другими биохимическими исследованиями может быть критерием оценки общего клинического состояния животного по развитию метастазов. Вероятно низкие уровни эндогенной интоксикации и клинически подтвержденное уменьшение продолжительности лечения является ярким подтверждением эффективности применения высокочастотного электрокоагулятора ЕК-300М1. У собак за опухолей молочной железы были высокими уровни МСМ и МДА, что является отражением уровня эндогенной интоксикации и может быть объективным критерием риска хирургического лечения и послеоперационного восстановления. Прогрессивное снижение этих показателей у животных опытной группы доказывает эффективность предложенной тактики лечения.

Ключевые слова: опухоли, электрокоагулятор ЕК-300М1, мастэктомия, суки, онкология, эндогенная интоксикация, заживления ран.

Clinical and experimental justification for the use of high-frequency electrocoagulator ЕК-300М1 for the surgical treatment of breast tumors in female dogs

Rublenko S., Yaremchuk A., Vlasenko V.

Modern medical practice shows that the only effective treatment for breast cancer in dogs is surgery; current developments in chemotherapy and radiation therapy are ineffective and too expensive. To identify the types of breast tumors and their anatomical distribution, it is necessary to have a reliable histological diagnosis. In most cases, it is used because the main treatment for breast cancer in dogs is their surgical removal.

Undoubtedly decisive for this method of treatment are the phenomena of intoxication and endotoxicosis. Endotoxicosis in the early postoperative period consists of iatrogenic, tumor with tumors isolated and based on a small number of observations. However, the results of intoxication and the consequences of massive surgical tissue damage

are often a determining factor for the outcome of treatment. Unfortunately, reports of studies of MSM in animals obtained by us indicate that almost all animals with breast tumors have endogenous intoxication, which we detected by the level of MSM and MDA in blood plasma.

In our opinion, determination of the level of these markers of endotoxemia before surgery and in the postoperative period can be an objective criterion for the risk of surgical treatment. Monitoring the level of MSM in the remote postoperative period, in combination with other biochemical studies can be a criterion for assessing the general clinical condition of the animal for the development of metastases. Probably lower levels

of endogenous intoxication and clinically confirmed reduction in the duration of treatment are a clear confirmation of the effectiveness of high-frequency electrocoagulator EK-300M1. Dogs with breast tumors had high levels of MSM and MDA, which is a reflection of the level of endogenous intoxication and may be an objective criterion for the risk of surgical treatment and postoperative recovery. Progressive reduction of these indicators in animals of the experimental group proves the effectiveness of the proposed treatment tactics.

Key words: tumors, electrocoagulator EK-300M1, mastectomy, female dogs, oncology, endogenous intoxication, wound healing.



Copyright: © Рубленко С.В., Яремчук А.В., Власенко В.М. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Рубленко С.В.

ID <https://orcid.org/0000-0003-0678-5497>

ХІРУРГІЯ

УДК 619:616-073.75:612.12:615.464-033.5:636.92

Рентгенографічна, макроморфологічна і гематологічна оцінка гідроксиапатитної кераміки з різними фізико-хімічними властивостями

Чемеровський В.О. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: Valerii.chemerovskyi@btsau.edu.ua



Чемеровський В.О. Рентгенографічна, макроморфологічна і гематологічна оцінка гідроксиапатитної кераміки з різними фізико-хімічними властивостями. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 140–152.

Chemerovs'kyj V.O. Rentgenografichna, makromorfologichna i gematologichna ocin-ka gidroksyapatitnoi' keramiky z riznymy fizyko-himichnymy vlastyvostjamy. Naukovyy visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 140–152.

Рукопис отримано: 13.05.2020р.

Прийнято: 18.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-140-152

За лікування складних осколкових переломів, внаслідок втрати регенеративного потенціалу кісткової тканини, виникає необхідність застосування різноманітних композитних матеріалів. Серед усього їх загалу перспективною вважається кераміка на основі синтетичного гідроксиапатиту та трикальційфосфатів.

Проведено дослідження репаративного остеогенезу у губчастій і компактній кістковій тканині кролів за використання 3-композитних матеріалів з різними фізико-хімічними властивостями. Контроль перебігу репаративного остеогенезу здійснювали клініко-рентгенологічно, макроморфологічно. Вплив композитних матеріалів на організм досліджували шляхом визначення динаміки гематологічних показників крові протягом усього терміну дослідження.

Сформували 3 дослідних і контрольну групи кролів. Сформовані дефекти першої дослідної заповнювали ГТ + α -ткф-500, другої – ГТЛКг-2 і третьої – ГТЛКг-700, останні композити були леговані кремнієм. У тварин контрольної групи кісткові дефекти залишали загоюватися під кров'яним згустком. Під час проведення досліджень усі тварини перебували в однакових умовах. Кров для гематологічного дослідження відбирали із зовнішньої яремної вени до анестезій та на 3-ю, 7-, 14-, 21-, 42-у добу. Рентгенологічний контроль здійснювали на 14-у, 21- та 42-у добу, виводили тварин з дослідів на 21-у та 42-у добу і зразки досліджували макроморфологічно.

Рентгенологічно усі композитні матеріали мають остеокондуктивні властивості, а леговані кремнієм набувають остеоіндуктивної. У компактній кістковій тканині на 42-у добу в 1-й і 3-й дослідних групах це характеризувалося утворенням точкового остеосклерозу з ущільненим контуром періосту, а у 2-й дослідній відмічали лише ущільнення контуру періосту. Проте у губчастій кістковій тканині рентгенологічно на 42-у добу в тварин 1-ї дослідної групи утворився точковий остеосклероз, в якому візуалізовувались окремі гранули композита, а у 2-й – в місці дефекту біле п'ятно, яке було окресленої форми і однорідної структури, і в 3-й – утворився чітко обмежений точковий остеосклероз, в структурі якого були помітні гранули кераміки.

Макроморфологічно при застосуванні ГТ + α -ТКФ-500 відмічали міцне з'єднання гранул із сформованою кістковою тканиною без будь-яких розростань періосту, під час застосування ГТЛКг-2 місця дефектів були ідентичні не травмованим ділянкам променевих кісток, а у 3-й – кістковий дефект виповнений до рівня площини поверхні кістки та вкритий періостом без видимих його розростань, гранули композита рівномірно розподілені у регенераті і зв'язані із кістковою тканиною.

За аналізу гематологічних показників принципів їх відмінностей не виявлено, однак використання гідроксиапатитних імплантів не супроводжується, на відміну від спонтанного репаративного остеогенезу, розвитком лейкоцитозу, що свідчить про помірний перебіг його запально-резорбтив-

ної стадії. Натомість остання супроводжується тромбоцитарною реакцією, найбільш вираженою за використання імплантів, що, ймовірно, зумовлено впливом тромбоцитарних факторів і є непрямим свідченням ранньої остеобластичної реакції.

Ключові слова: переломи, кролі, еритроцити, лейкоцити, тромбоцити, гемоглобін.

Постановка проблеми. Проблема патології кісткової системи як осьового, так і скелету вільних кінцівок, залишається досить складною у забезпеченні здоров'я тварин-компаньйонів. Зокрема, переломи кісток хоча і виникають під дією надмірного механічного навантаження, проте нерідко сприяючими чинниками їх виникнення можуть бути різноманітні метаболічні порушення кісткової тканини [1]. Травма скелетних і м'язових тканин супроводжується порушенням гемоциркуляції з подальшою активацією коагуляційного каскаду і формуванням фібриново-кров'яного згустка між кістковими фрагментами та виникненням гематоми в навколишніх тканинах. У подальшому активізуються тромбоцити в доповнення до факторів коагуляції [2].

Основною причиною переломів у тварин є травми нанесені автомобільним транспортом – 56–80 %, меншу частку становлять переломи в побуті – 19–21,5 %, і 3,7 % – з причин недостатньо верифікованих власниками [3, 4]. При цьому найбільш складними у лікуванні вважаються осколкові переломи довгих трубчастих кісток, які за даними зарубіжних і вітчизняних дослідників сягають 25–60 % від загальної кількості травм апарату руху [5, 6].

За осколкових переломів застосування тільки методів остеосинтезу не завжди забезпечує оптимальний перебіг репаративної регенерації кісткової тканини, оскільки за наявності кісткових дефектів втрачається її регенеративний потенціал. В зв'язку з цим виникає необхідність застосування остеозаміщувальних матеріалів, які мають проявляти остеокондуктивні, остеоіндуктивні, остеointegraційні та остеогенні властивості [7, 8].

На сьогодні розроблено низку як вітчизняних, так і зарубіжних композитних матеріалів на основі синтетично отриманих гідроксиапатиту, β -трикальційфосфату, α -трикальційфосфату, колагену, демінералізованого кісткового матриксу великої рогатої худоби, інших природних і синтетичних полімерів та їх поєднання [9–12].

В свою чергу репаративний остеогенез є досить складним і унікальним та представлений багатьма біологічними процесами, які розпочинаються запальною реакцією і закінчу-

ються ремоделюванням кісткової тканини аналогічній тій, що була до пошкодження [13, 14].

Незважаючи на великий вибір на ринку остеозаміщувальних матеріалів, більшість з них розроблена для гуманної медицини, тоді як у ветеринарній ортопедії їх застосуванню присвячено поодинокі дослідження, особливо механізмам впливу на консолидацію переломів кісток у тварин, що потребує більш детального патофізіологічного обґрунтування.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відомо, що кісткова тканина має унікальну здатність до ідентичного відновлення, без будь-яких гісто-морфологічних відмінностей. Репаративний остеогенез як за простих фрактур, так і за складних осколкових переломів після остеосинтезу включає складні постадійні процеси, які регулюються системними і локальними чинниками [15]. Зокрема доведено [16], що в першу стадію регенерації кісткової тканини фібриново-кров'яний згусток у ділянці перелому утворюється в проміжку 12–24 год після травми з паралельним розвитком запальної реакції, яка є неспецифічним біологічним інструментом, що забезпечує резорбцію кісткової тканини в ділянці пошкодження та звільнення її від мінерального компонента [17]. Лише після цього можливі наступні етапи репаративного остеогенезу, які відбуваються за рахунок проліферації і диференціювання елементів кісткового диферону з наступною трансформацією регенерату в кісткову тканину [18, 19]. Одним із загально прийнятих методів контролю перебігу репаративного остеогенезу є оцінка динаміки гематологічних показників на різних стадіях консолидації переломів разом із їх рентгенографічним контролем [20]. Водночас зміни гематологічних показників є відображенням реакції крові як ланцюга запалення і регенерації. Поряд з цим вона може бути свідченням реакції кісткової тканини чи організму на біологічний чи синтетичний імплант, призначений для заміщення кісткових дефектів [21].

На сьогодні у ветеринарній медицині дебільшого застосовують для заміщення композитні матеріали, які розроблені для імплантології в стоматологічній практиці чи ортопедії гуманної медицини. За своєю фізико-хімічною природою вони поділяються на матері-

али демінералізованого кісткового матриксу («Bio-Oss Collagen», «CeraBone», «Osteofil»), керамічні матеріали, до яких відносять біоінертну (оксид цирконію) та біоактивну кераміку (кальцій-фосфатну). Також на ринку представлена велика група композитних матеріалів на основі колагену, неколагенових білків та пористого колагену («Jason membrane Botiss», «Collascone», «Колапан», «Collprotect») [22, 23].

Водночас ідеальний матеріал для заміщення кісткових дефектів має володіти високою регенеративною активністю, мати достатню розвинуту мікро- і макропористість, простоту в моделюванні, оптимальні для заповнення відновлюваного обсягу показники в'язкості і пластичності, а на ранніх етапах репаративного остеосинтезу володіти механічною стабільністю із збереженням свого об'єму та після завершення остеогенезу повністю резорбуватися [24, 25].

Останнім часом розробляється окрема група біосумісних композитів на основі комбінації гідроксиапатита з β -трикальційфосфатом, α -трикальційфосфатом, легованих іонами кремнію, магнію, натрію, калію, міді та алюмінію, з метою надання їм перерахованих вище властивостей [26], що потребує клініко-експериментального обґрунтування.

Мета роботи – провести рентгенографічну, макроморфологічну і гематологічну оцінку гідроксиапатитної кераміки з різними фізико-хімічними властивостями за репаративного остеогенезу в кролів.

Матеріал і методи дослідження. Роботу виконували у Білоцерківському НАУ на кафедрі хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин. Дослідження проводили відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. № 27, ст. 230 і правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 18.03.1986 р. № 994_137. та Наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Проект цих досліджень був схвалений Етичним комітетом Білоцерківського НАУ з питань поводження з тваринами у наукових дослідженнях та освітньому процесі (висновок №3 від 31.05.18 р., протокол № 2).

Роботу виконували на клінічно здорових кролях каліфорнійської породи, віком 3 міс. та масою тіла близько 2,5 кг. Тварин утримували в умовах віварію університету в індивідуальних клітках, розміщених у кімнатах з примусовою вентиляцією та комбінованим освітленням і

щоденним прибиранням. Годівлю забезпечували спеціалізованим комбікормом для кролів із розрахунку 200 г на одну голову за добу. Тварини мали необмежений доступ до води.

Було сформовано 3 дослідних і контрольну групи кролів по 10 гол. у кожній, у яких відтворювали модельні кісткові дефекти губчастої – дистальна ділянка метафіза стегнової кістки, та компактної кісткової тканини – діафіз променевої кістки. Оперативний доступ проводили відповідно з латеральної та дорсо-латеральної поверхні з дотриманням правил асептики і антисептики.

За оперативного втручання анестезіологічне забезпечення включало внутрішньом'язове введення 2 % розчину ацепромазину (0,5–1,0 мг/кг), внутрішньовенне тіопенату (5–8 мг/кг) та місцеву інфільтраційну анестезію 0,5 % розчином лідокаїну (3–4 мг/кг). Після розтину окістя формували кістковий дефект свердлом ($d=3$ мм), який у кролів першої дослідної групи ($n=10$) заповнювали (ГТ + α -ткф -500 – складається з 70 % гідроксиапатиту і 30 % α -трикальційфосфату, витриманий при температурі 800 °С, з розміром гранул 500), другої ($n=10$) – (ГТлКг-2 – легований кремнієм у кількості 1,0 мас. %, двофазний композит з гідроксиапатиту 70 % та 30 % β -трикальційфосфату, витриманий за температури 800 °С з розміром гранул 2 мм) і третьої ($n=10$) (ГТлКг-700 – відмиті двофазні гранули, леговані кремнієм, складаються з 70 % гідроксиапатиту і 30 % β -трикальційфосфату, витримані при температурі 850 °С з розміром гранул 700). У тварин контрольної групи ($n=10$) кісткові дефекти залишали загоюватися під кров'яним згустком. Рани зашивали вузловими швами. У кролів щоденно проводили загальне клінічне дослідження з візуальною оцінкою ранового процесу. Оскільки операційні рани загоювались за первинним натягом, то шви знімали на 8-у добу в кролів усіх груп.

Для гематологічних досліджень кров у кролів відбирали із яремної вени до анестезії та на 3-ю, 7-, 14-, 21- і 42-у добу після експериментально сформованих модельних дефектів. Рентгенологічне дослідження проводили на 14-у, 21- та 42-у добу.

Тварин виводили з дослідів на 21-у та 42-у добу шляхом внутрішньовенного введення тіопенату в дозі 50 мг/кг (тіопентал натрію, ООО Бровафарма, Україна). Отримані зразки на 21-у та 42-у добу кісткової тканини досліджували макроморфологічно.

Результати дослідження. Клінічні дослідження. Після заміщення у дослідних групах різною за складом керамікою та у контрольній групі через 30–40 хв припинялась дія загаль-

них анестетиків. У кролів усіх груп відновлювалась рухова активність. Через 5–6 годин тварини приймали природне положення тіла у просторі, мали апетит та пили воду. На 1-у добу після операції у тварин усіх груп у ділянці травми запальна реакція проявлялась помірним набряком та підвищенням місцевої температури. Порушень функції травмованої кінцівки не відмічали. На 2-у добу підвищення температури в ділянці травми не відмічали, через край рани дещо просочувався серозний екссудат, який зникав до 3–4 доби після оперативного втручання. На 8-у добу післяопераційного періоду набряк та болючість були відсутні, край ран утримувалися сполучнотканинною спайкою. Також відмічали процеси їх епітелізації, що було підставою для зняття швів.

Поряд з цим, починаючи з 10-ї доби пальпаторно, у тварин всіх груп на діафізах променевих кісток у ділянці травми виявляли не болюче ущільнення тканин, яке у контрольній групі, з 14-ої до 21-ої доби репаративного остеогенезу інтенсивно збільшувалося. Водночас у 1-й дослідній групі сформоване ущільнення було дещо більшим, ніж у 2-й і 3-й. На 42-у добу в усіх дослідних групах пальпаторно ущільнення не виявляли, тоді як у контрольній групі воно спостерігалось. Дещо іншою була пальпаторна картина на дистальних метафізах стегнових кісток. Ущільнення виявляли у контрольних тварин на 10-у добу, і до завершення терміну спостережень, а у дослідних, починаючи з 14-ї до 21-ї доби репаративного остеогенезу.

Рентгенологічні дослідження. На 14-у добу репаративного остеогенезу кролі всіх груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку, ознаки місцевої запальної реакції були відсутні. У 1-й дослідній групі, де застосовували ГТ+ α -ТКФ-500 на рентгенограмах променевих кісток у сформованому модельному дефекті виявляли гранули кераміки. Вони заповнювали весь дефект, періостальна реакція була помірною і обмеженою навколо останнього (рис. 1. А). У 2-й групі, де застосовували кераміку, легovanу кремнієм, місце дефекта виявлялося ледь помітним, з помірною періостальною реакцією навколо сформованого дефекта (рис. 1. Б). На рентгенограмах 3-ї групи, де використовували ГТЛКг-700, у дефекті візуалізувався композитний матеріал і хмароподібна тінь (рис. 1. В). Натомість у контрольній групі на 14-у добу навколо дефекту відмічали ущільнення періосту по всій поверхні діафізу променевої кістки, що свідчить про потужну періостальну реакцію (рис. 1. Г).

На 21-у добу рентгенологічна картина суттєво відрізнялася від попереднього терміну дослідження: у 1-й дослідній групі спостерігали сформований кістковий мозоль з гранулами кераміки у ньому (рис. 2. А); у 2-й точкове біле п'ятно з ущільненим контуром періосту, як свідчення остеїдної тканини (рис. 2. Б); у 3-й візуальна картина була подібна з 2-ою групою, але з більш вираженою періостальною реакцією (рис. 2. В); у контрольній масивний кістковий мозоль і ущільнення періосту по всій довжині променевої кістки з поширенням на ліктьову, а ділянки точкового остеосклерозу чергувалися з остеопорозними (рис. 2. Г).

Рентгенологічна картина на 42-у добу репаративного остеогенезу в 1-й і 3-й дослідних групах характеризувалася утворенням точкового остеосклерозу з ущільненим контуром періосту (рис. 3. А, В), а у 2-й тільки останнім (рис. 3. Б). У контрольній групі дефект став більш щільним з надмірним об'ємом регенерата та періостальної реакції (рис. 3. Г).

За аналізу рентгенограм дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 14-у добу репаративного остеогенезу, у 1-й і 3-й дослідних групах місце дефекту не візуалізувалось, і мало хмароподібну тінь (рис. 4. А, В), яка у 2-й дослідній була більш вираженою (рис. 4. Б). У контрольній групі в цей період чітко візуалізовувався дефект з досить вираженим ущільненням періосту по периметру травми (рис. 4. Г).

На 21-у добу репаративного остеогенезу кролі усіх груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку. У 1-й дослідній групі виявляли точкове ущільнення у місці дефекту, що свідчило про формування кістково-керамічного регенерата, тобто проміжки між гранулами були заповнені кістковою тканиною. Також виявляли помірно виражену реакцію періоста навколо дефекта (рис. 5. А). У 2-й і 3-й дослідних групах дефекти були рівномірно заповнені композитами із помірно вираженою періостальною реакцією, яка локалізувалася навколо травмованої ділянки (рис. 4. Б, В). У контрольній групі відмічали виражене ущільнення періосту по всій поверхні кістки. Також площа дистальної ділянки діафіза мала плямистий вигляд, що відображало стан остеопорозу, тобто запальної резорбції кісткової тканини (рис. 4. Г).

На 42-у добу репаративного остеогенезу кролі усіх груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку, ознаки запальної реакції м'яких тканин у ділянці травми були відсутні. Рентгенологічно в тварин 1-ї дослідної групи утворився точковий остеосклероз, в якому візуалізовувались окремі гранули композита.

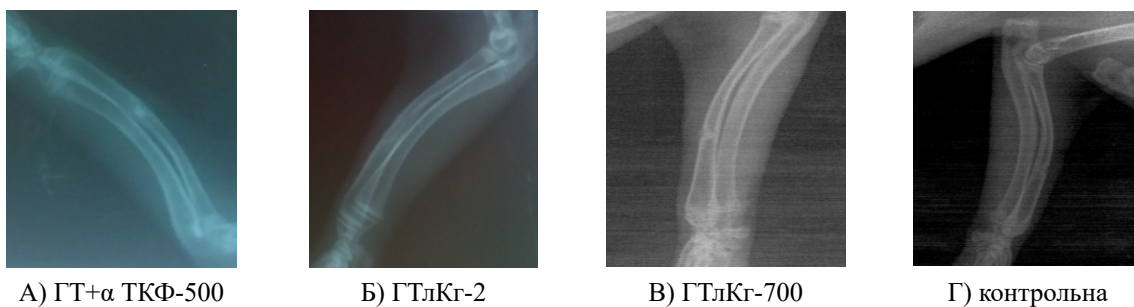


Рис. 1. Рентгенограми діяфіза променевих кісток кролів на 14-у добу:
А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

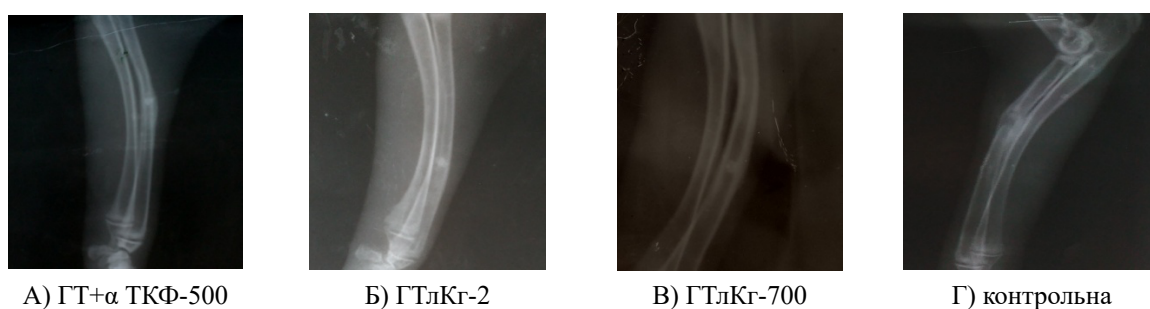


Рис. 2. Рентгенограми діяфіза променевих кісток кролів на 21-у добу:
А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

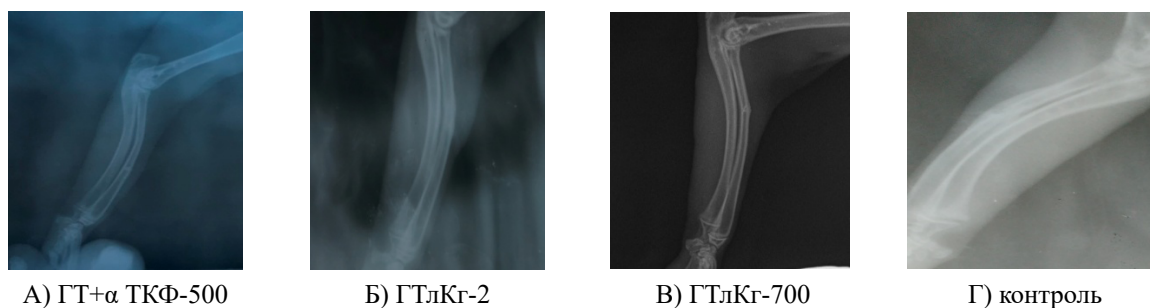


Рис. 3. Рентгенограми діяфіза променевих кісток кролів на 42-у добу:
А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

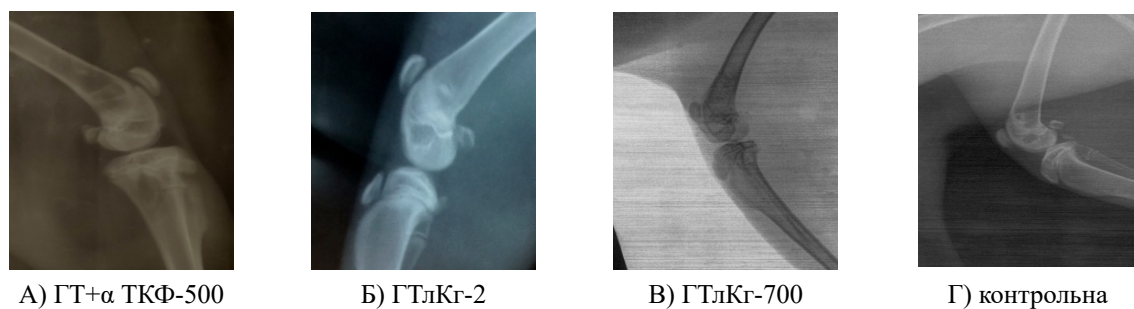


Рис. 4. Рентгенограми дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 14-у добу:
А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

Також був ущільнений періост (рис. 6. А) У 2-й дослідній групі біле п'ятно в місці дефекту було окресленої форми і однорідної структури з обмеженим і ущільненим контуром періосту (рис. 6. Б). У 3-й дослідній групі утворився чітко обмежений точковий остеосклероз, в структурі якого були помітні гранули кераміки (рис. 6. В). Водночас у контрольних тварин на рентгенограмах, поряд із чітко окресленим, але більш подовженим ущільненням періосту, виявили кістково-мозковий панус у місці травми з вираженим продовгуватим затемненням, що, напевно, є свідченням неоформленої грубоволокнистої кісткової тканини (рис. 6. Г).

Макроморфологічний аналіз. На 21-у добу репаративного остеогенезу в 1-й дослідній групі спостерігали велику кількість гранул кераміки у фрагментах променевих кісток, які міцно були з'єднані з кістковою тканиною і дещо виступали за її межі (рис. 7. А). У 2-й дослідній, у місці дефекту відмічали сформований кістковий мозоль (рис. 7. Б). Макроморфологічно у 3-й групі гранули кераміки були занурені у товщу кісткового регенерата, розростань періосту навколо дефекту не спостерігали (рис. 7. В). У контрольній групі на 21-у добу місце дефекта виявилось не повністю заміщеним фіброзно-хрящовою тканиною, про що свідчить його кратероподібний вигляд, і масивні з поширенням за межі ушкодженої ділянки кістки розростання періосту (рис. 7. Г).

На 42-у добу макроморфологічно у 1-й дослідній групі відмічали ще міцніше з'єднання гранул із сформованою кістковою тканиною без будь-яких розростань періосту (рис. 8. А), у 2-й – місця дефектів були ідентичні не травмованим ділянкам променевих кісток (рис. 8. Б), а у 3-й – кістковий дефект виповнений до рівня площини поверхні кістки та вкритий періостом без видимих його розростань, гранули композита рівномірно розподілені у регенераті і зв'язані із кістковою тканиною (рис. 8. В). У контрольній групі макроморфологічна картина значно покращилася, порівнюючи із 21-ю добою, але розростання періосту ще були досить масивними та центральна ділянка дефекту не мала щільної консистенції (рис. 8. Г).

За аналізу дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 21-у добу в 1-й дослідній групі відмічали наявність у місці дефекту гранул кераміки, фіксованих у хрящоподібній щільній тканині і дещо виступаючих за її межі (рис. 9. А). У 2-й дослідній воно було чітко обмежене помірно сформованим кістковим мозолем, у якому не було видно гранул кераміки (рис. 9. Б). У 3-й дослідній групі кістковий дефект був заповненим до рівня площини поверхні кістки

та вкритий періостом без видимих його розростань, у товщі кістки візуалізовувались поодинокі гранули композиту (рис. 9. В). Макроморфологічно у контрольній групі відмічали масивні, з поширенням за межі ушкодженої ділянки кістки, розростання періосту (рис. 9. Г).

На 42-у добу у 1-й дослідній групі відмічали міцніше з'єднання гранул із сформованою кістковою тканиною без будь-яких розростань періосту, деякі гранули виступали за межі сформованої кісткової тканини (рис. 10. А). Натомість у 2-й дослідній, де використовували ГТлКг-2, кістковий дефект був заповнений до рівня площини поверхні кістки та вкритий періостом без видимих його розростань (рис. 10. Б). У 3-й групі над місцем дефекта відмічали обмежену періостальну реакцію, під якою була сформована кісткова тканина, а гранули композиту знаходились у товщі кісткової тканини (рис. 10. В). У контрольній групі на 42-у добу репаративного остеогенезу спостерігали досить масивні розростання періосту та кратероподібний кістковий дефект з ознаками резорбції кісткової тканини в межах його стінок.

Гематологічні дослідження. В цілому динаміка гематологічних показників у контрольній і дослідних групах виявилась подібною. Так, спочатку кількість еритроцитів, порівняно з клінічно здоровими, на 3-ю добу в контрольній та 1-й дослідній групі зменшилась в 1,4 раза ($p < 0,001$), а у 2-й та 3-й – в 1,3 раза ($p < 0,001$) за відсутності вірогідної різниці між групами. Тобто у всіх випадках спостерігалася посттравматична еритроцитопенія, яка утримувалася до 7-ї доби, після чого вона поступово зникала до нормалізації кількості еритроцитів в усіх групах. Показники гемоглобіну на 3-ю добу дещо зменшились, але без виникнення анемії, при порівнянні показників до клінічно здорових тварин вірогідної різниці не відмічали. В подальшому спостерігали тенденцію до помірного збільшення показників гемоглобіну в усіх групах, які знаходились у межах фізіологічної норми (табл. 1).

Кількість у крові лейкоцитів коливалася в межах фізіологічної норми. Починаючи з 7-ї доби, спостерігали поступове збільшення у дослідних групах кількості лейкоцитів до 14-ї доби. Проте на 7-у добу репаративного остеогенезу кількість лейкоцитів у крові контрольних тварин збільшилась в 1,4 раза ($p < 0,001$) до $11,9 \pm 0,22$ г/л і залишалась підвищеною до 14-ї доби. Тобто тільки в контрольній групі протягом запально-резорбтивної стадії репаративного остеогенезу розвивався лейкоцитоз, який мав помірний прояв. На 42-у добу репаративного остеогенезу в усіх групах показники кількості лейкоцитів відновились до рівня клінічно здорових кролів.

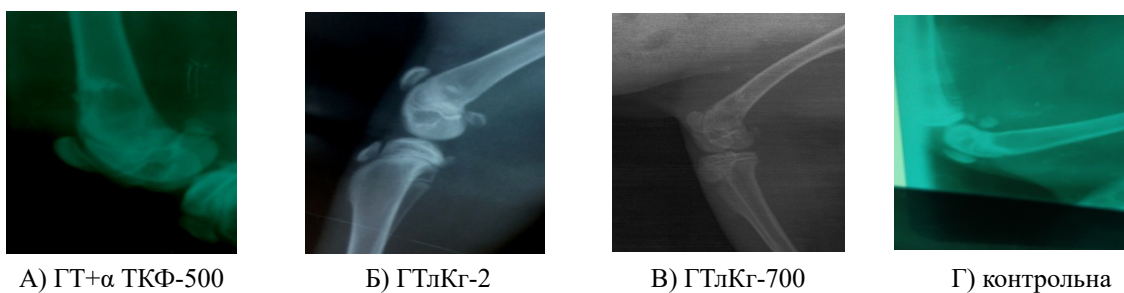


Рис. 5. Рентгенограми дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 21-у добу:
А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

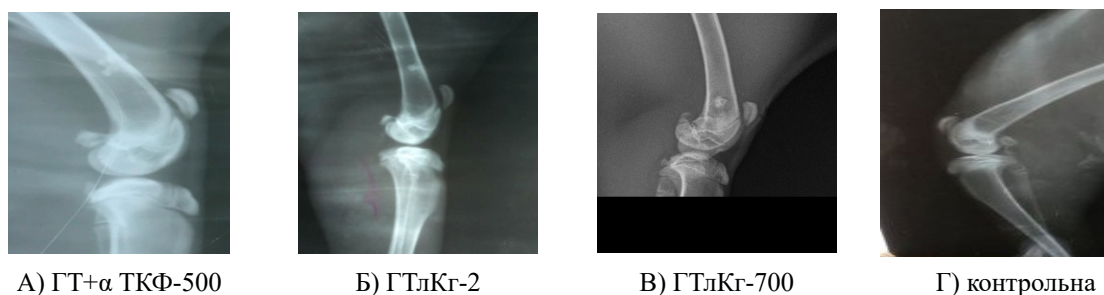


Рис. 6. Рентгенограми дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 42-у добу:
А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

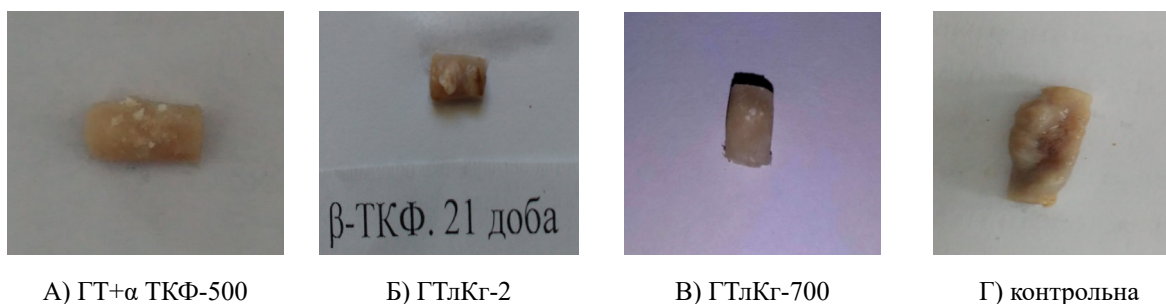


Рис. 7. Макрокартина фрагментів компактної кістки кролів на 21-у добу репаративного
остеогенезу: А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

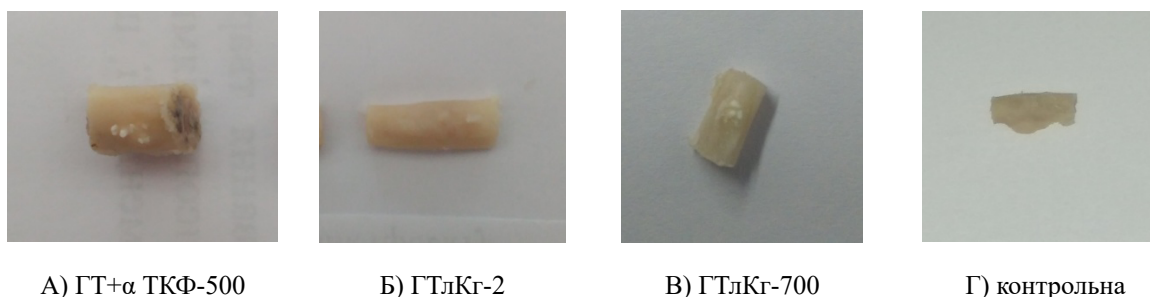


Рис. 8. Макрокартина фрагментів компактної кістки кролів на 42-у добу репаративного
остеогенезу: А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

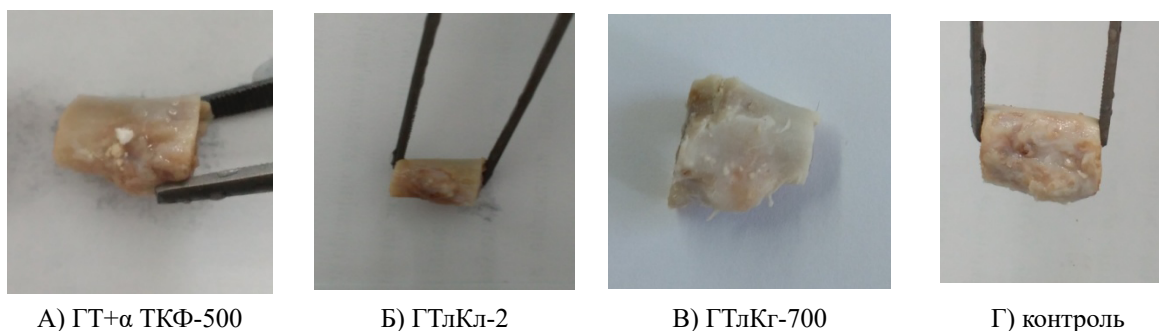


Рис. 9. Макрокартина фрагментів губчастої кістки кролів на 21-у добу репаративного остеогенезу: А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

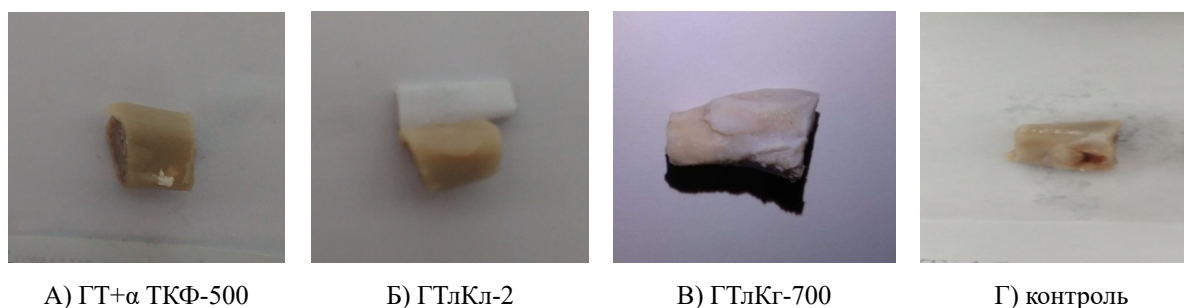


Рис. 10. Макрокартина фрагментів губчастої кістки кролів на 21-у добу репаративного остеогенезу: А – 1-а, Б – 2-а, В – 3-я дослідні групи; Г – контрольна група.

За аналізу кількості тромбоцитів встановлена загальна закономірність до розвитку тромбоцитозу в усіх групах, починаючи з 3-ї доби: а показники 3-х дослідних в 1,7 раза перевищували показник клінічно здорових тварин ($p < 0,001$), а контрольної – в 1,4 раза. У 1-й і 2-й дослідних групах максимальний тромбоцитоз розвивався на 7-у добу, а в 3-й дослідній і контрольній групах – на 14-у добу. В подальшому спостерігали тенденцію до зменшення кількості тромбоцитів у всіх групах.

Обговорення. Серед різноманітних імплантів для заміщення кісткових дефектів найбільш глибоке обґрунтування отримала гідроксиапатитна кераміка [22]. Проте виражені остеокондуктивні властивості композитних матеріалів залежать від їх фізико-хімічних характеристик, розміру гранул та відповідно величини їх мікро- і макропор, механічної стабільності та міцності і стійкості до біологічних рідин. Оскільки вони мають тільки остеокондуктивні властивості, на сьогодні є важливим надання їм остеоіндуктивних властивостей за рахунок легування їх активними мікроелементами. Одним із них є кремній, який пришвидшує процеси остеогенезу за рахунок індукування ангіогенезу, продукування колагену 1 типу та диференціювання остеобластів [24, 27].

Рентгенологічно усі композитні матеріали мають остеокондуктивні властивості, але все ж впливають на репаративний остеогенез по-різному. У компактній кістковій тканині на 42-у добу в 1-й і 3-й дослідних групах це характеризувалось утворенням точкового остеосклерозу з ущільненим контуром періосту, а у 2-й дослідній відмічали лише ущільнення контуру періосту. Проте у губчастій кістковій тканині рентгенологічно на 42-у добу в тварин 1-ї дослідної групи утворився точковий остеосклероз, в якому візуалізовувались окремі гранули композита, а у 2-й – в місці дефекту біле п'ятно, яке було окресленої форми і однорідної структури, і в 3-й – утворився чітко обмежений точковий остеосклероз, в структурі якого були помітні гранули кераміки.

Макроморфологічно при застосуванні GT+α-ТКФ-500 відмічали міцне з'єднання гранул із сформованою кістковою тканиною без будь-яких розростань періосту, під час застосування GTЛКл-2 місця дефектів були ідентичні не травмованим ділянкам променевих кісток, а у 3-й – кістковий дефект виповнений до рівня площини поверхні кістки та вкритий періостом без видимих його розростань, гранули композита рівномірно розподілені у регенераті і зв'язані із кістковою тканиною.

Таблиця 1 – Динаміка гематологічних показників за репаративного остеогенезу діафізарних і метафізарних дефектів кісток у кролів

Термін дослідження (доба)	Показник	Еритроцити, Т/л	Гемоглобін, г/л	Лейкоцити, Г/л	Тромбоцити, Г/л
	Клінічно здорові (n=20)	6,2±0,23	111,9±2,63	8,3±0,22	217±7,32
3-я	I	4,4±0,08	108,4±1,96	7,9±0,06 **	380±2,88 ***
	II	4,6±0,05 *	109±1,49	6,9±0,16 ***	375±4,97 ***
	III	4,5±0,14	118,1±2,29 **	7,9±0,17 *	363±4,4 ***
	IV	4,3±0,12	103,7±2,84	8,5±0,15	312±6,0
7-а	I	4,8±0,1	119,1±2,22	8,4±0,15 ***	425±2,8 ***
	II	5,1±0,13 *	117,7±1,74	8,7±0,16 ***	421±6,6 ***
	III	4,7±0,11	116±2,8	9,2±0,2 ***	400±5,77 **
	IV	4,6±0,14	119±1,86	11,9±0,22	373±3,33
14-а	I	5,3±0,08 **	130±2,39	9,5±0,1 ***	393±8,8 *
	II	5,7±0,08 ***	121,6±1,53	9,5±0,06 ***	380±5,7 **
	III	5,2±0,12	113±1,92 **	8,3±0,16 ***	436±3,3 *
	IV	4,9±0,08	124±1,54	11,1±0,2	418±4,4
21-а	I	5,4±0,12	130±1,21	9,0±0,16 **	265±5 ***
	II	5,5±0,12	123,7±2,49	9,3±0,19 *	310±5,77 *
	III	5,1±0,13	126,1±0,83	7,9±0,25 ***	336±3,3 *
	IV	5,4±0,12	127,7±1,96	9,9±0,09	325±2,8
42-а	I	5,7±0,08	129,2±2,15	8,4±0,12	212±6,0 **
	II	5,6±0,13	123,3±2,58	8,3±0,11	205±7,63 **
	III	6,2±0,08 **	128,2±2,8	7,1±0,11 ***	252±4,4
	IV	5,7±0,12	127,8±1,15	8,3±0,07	261±8,3

Примітки: 1) I – перша дослідна (n=5), II – друга дослідна (n=5), III – третя дослідна (n=5), IV – контрольна група (n=5);
2) значення p: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, решта – ≥ 0,05 порівняно з контрольною групою до всіх дослідних.

Під час аналізу гематологічних показників крові принципових їх відмінностей не виявлено, однак використання гідроксиапатитних імплантів не супроводжується, на відміну від репаративного остеогенезу, розвитком лейкоцитозу, що свідчить про помірний перебіг його запально-резорбтивної стадії. Натомість остання супроводжується тромбоцитарною реакцією, найбільш вираженою за використання імплантів, що, ймовірно, зумовлено впливом тромбоцитарних факторів і є непрямим свідченням ранньої остеобластичної реакції.

Таким чином встановлено, що леговані кремнієм композитні матеріали мають остеокондуктивні властивості.

Висновки.

1. За клініко-рентгенологічними ознаками апробовані на кролях композитні матеріали ГТлКг-2, ГТлКг-700 і ГТ +а ТКФ-500 мають виражені остеокондуктивні властивості.

2. Композитні матеріали ГТлКг-2 і ГТлКг-700 поряд з остеокондуктивними властивостями проявляють також виражені остеointegraційні властивості, що підтверджує утворення в місцях дефектів ідентичної кістки не травмованим ділянкам.

3. За аналізу гематологічних показників встановлено, що композитні матеріали діють місцево, не впливаючи на організм в цілому, отже дані композитні матеріали можуть бути перспективними за лікування складних осколкових переломів, та потребують подальших досліджень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Григоровский В.В., Гордий А.С., Лютко О.Б., Григоровская А.В. Патоморфологические особенности поражения костей и корреляция клинических, клинико-лабораторных и морфометрических показателей у больных склерозирующим гематогенным остеомиелитом с латентным течением (гарре). Травматология и ортопедия России. 2018. Том 24. № 1. С. 96–107. Doi:https://doi.org/10.21823/2311-2905-2018-24-1-96-107
2. Serum from the Human Fracture Hematoma Contains a Potent/ W. B. Okan et al. Inducer of Neutrophil Chemotaxis. 2018. Vol. 41. No. 3. P. 1084–1092. Doi:https://doi.org/10.1007/s10753-018-0760-4
3. Використання композитних матеріалів за переломів трубчастих кісток у тварин / М.В. Рубленко та ін. Біла Церква, 2015. 86 с.
4. Occurrence, classification, methods of fixation and outcome of long bone fractures in dogs: a review of 342 cases/ A.K. Mohammed et al. 2019. Vol. 9. No. 4. P. 284–291.
5. Initial Clinical Application and Results of the Advanced Locking Plate System (ALPS) in Small Animal Ortho-

pedics: Two Hundred Eighty Two Procedures/ A. Nojiria et al. Intern J Appl Res Vet Med. 2015. Vol. 13. No. 1. P. 64–79.

6. Haaland P. J., Sjuström L., Devorl M., Haug A. Ap- pendicular fracture repair in dogs using the locking com- pression plate system: 47 cases. Vet. Comp. Orthop Trau- matol. 2009. Vol. 4. P. 309–315. Doi:https://doi.org/10.3415/ VCOT08-05-0044

7. Reznik L.B., Erofeev S.A., Stasenko I.V., Bor- zunov D.Yu. Morphological assessment of osteointegration of various implants for management of long bone defects (experimental study). Genij Ortopedii. 2019. T. 25. № 3. P. 318–323. Doi:https://doi.org/10.18019/1028-4427-2019- 25-3-318-323.

8. Шастов А.Л., Кононович Н.А., Горбач Е.Н. Про- блема замещения посттравматических дефектов длинных костей в отечественной травматолого-ортопедической практике. Геней ортопедии. 2018. Т. 24. № 2. С. 252–257. Doi:https://doi.org/10.18019/1028-4427-2018-24-2-252-257

9. Biomaterials for Regenerative Medicine: Histori- cal Perspectives and Current/ M. Rahmati et al. Adv Exp Med Biol – Cell Biology and Translational Medicine. 2018. Doi:https://doi.org/10.1007/5584_2018_278

10. Талашова И.А., Силантьева Т.А., Кононович Н.А., Лунова С.Н. Оценка биосовместимости имплантацион- ных кальций-фосфатных материалов в зависимости от их минерального состава. Бюллетень сибирской медицины. 2012. № 3. С. 62–69.

11. Shumilovaa A.A., Shishatskayaa E.I. Materials for Restoration of Bone Tissue. Journal of Siberian Federal Uni- versity. Biology 2. 2014. № 7. P. 209–221.

12. Сравнительное исследование замещения дефек- тов костной ткани остеопластическими материалами на основе α - и β -трикальцийфосфата/ А.Н. Гурин и др. Сто- матология. 2012. № 6. С. 16–21.

13. Бруско А.Т., Гайко Г.В. Современные представле- ния о стадиях репаративной регенерации костной ткани при переломах. Вісник ортопедії, травматології та протезу- вання. 2014. № 2. С. 5–8.

14. Левченко О.О. Основні механізми ремоделюван- ня кісткової тканини. Дерматологія та венерологія. 2016 № 2. (72). С. 5–12.

15. Довгалевиц И.И. Нарушение репаративного осте- огенеза при инфицированных дефектах трубчатых ко- стей. Репозиторий БГМУ. 2016. С. 76–80.

16. Срошенко О.В. Білки гострої фази і маркери спо- лучної тканини за репаративного остеогенезу та його фармакологічна корекція в собак: автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.05. Біла Церква, 2013. 20 с.

17. Попсуйшапка О.К., Літвішко В.О., Ашукіна Н.О. Клініко-морфологічні стадії процесу зрощення відлам- ків кістки. Ортопедия, травматология и протезирование. 2015. № 1. С. 12–20.

18. Ирьянов Ю.М., Силантьева Т.А. Современные представления о гистологических аспектах репаративной регенерации костной ткани (обзор литературы). Клеточные источники репаративного остеогенеза. Гетерогенность кле- точной популяции в области травматического повреждения кости. Геней ортопедии. 2007. № 2. С. 111–116.

19. Ходжаев Р.Р., Шерматов Г.А. Влияние препара- та «Кальцемин» на регенерацию кости в эксперименте. Ортопедия, травматология и протезирование. 2012. № 4. С. 50–55.

20. Машейко И.В. Биохимические маркеры в оценке процессов ремоделирования костной ткани при остеопе- нии и остеопорозе. Журнал Гродненского государствен- ного медицинского университета. 2017. № 2. С. 149–153.

21. Костив Р.Е., Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Трофические факторы роста костной ткани, их морфо- генетическая характеристика и клиническое значение. ТМЖ. 2017. № 1. С. 10–16. Doi:https://doi.org/10.17238/ PmJ1609-1175.2017.1.10–16

22. In vivo response of porous hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate prepared by aqueous solution combustion method and comparison with bioglass scaffolds / S.K. Ghosh et al. J. Biomed Mater Res B. Appl Biomater. 2008. Vol. 86. P. 217–227.

23. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphate-containing biocomposites and hybrid biomaterials for biomedical applications. Journal of Functional Biomaterials. 2015. Vol. 6. P. 708–832.

24. The roles of ions on bone regeneration/ E. O'Neill et al. Drug discovery today. 2018. Vol. 23 (4). P. 879–890.

25. Берченко Г.Н. Синтетические кальций-фосфорные материалы в травматологии и ортопедии. Травматология ортопедия. 2010. №2. С. 53–57.

26. Nanocomposite based on SiC/Si: a nev biomor- phic material for acial surgery/ M. Kartel et al. 2015. 7(22). P. 311–316.

27. Marcela A.O., Qaisar N., Aldo R.B. Silicate-based nanoceramics in regenerative medicine. Nanostructured Biomaterials for Regenerative Medicine. 2020. P. 254–273. Doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102594-9.00009-7

REFERENCES

1. Hryhorovskiy, V.V., Hordyi, A.S., Liutko, O.B., Hryhorovskaia, A.V. (2018). Patomorfologicheskie osobennosti porazheniya kostej i korrelyatsiya klinicheskikh, kliniko-laboratornyh i morfometricheskikh pokazatelej u bol'nyh sklerozirujushhim gematogennym osteomielitom s latentnym techeniem (garre) [Pathomorphological features of bone damage and the correlation of clinical, clinical, laboratory, and morphometric parameters in patients with sclerosing hematogenous osteomyelitis with latent course (Garre)]. Travmatologija i ortopedija Rosii [Traumatology and orthopedics of Russia]. Vol. 24, no. 1, pp. 96–107. Available at:https://doi.org/ 10.21823/2311-2905-2018-24- 1-96-107

2. Okan, W. B., Mikolaj, H. M., Marco, R., Luke, P. L., Leo, K. (2018). Serum from the Human Fracture Hematoma Contains a Potent. Inducer of Neutrophil Chemotaxis. Vol. 41, no. 3, pp. 1084–1092. Available at:https://doi.org/10.1007/ s10753-018-0760-4

3. Rublenko, M.V., Andriiets, V.H., Semeniak, S.A., Ulianchych, N.V. (2015). Vykorystannia kompozytnykh materialiv za perelomiv trubchastykh kistok u tvaryn [The use of composite materials for tubular bone fractures in animals]. Bila Tserkva, 86 p.

4. Mohammed, A.K., Kiranjeet, S., Aswathy, G., Sarangom, S.B., Sowbharenaya, C., Swapna, C.R., Sasikala, R., Akshay, K., Naveen, K. (2019). Occurrence, classification, methods of fixation and outcome of long bone fractures in dogs: a review of 342 cases. Vol. 9, no. 4, pp. 284–291.

5. Nojiria, A., Nishidoo, T., Horinakaa, O., Akiyoshib, H., Ohashib, F., Yamaguchia, T. (2015). Initial Clinical

Application and Results of the Advanced Locking Plate System (ALPS) in Small Animal Orthopedics: Two Hundred Eighty Two Procedures. Intern J Appl Res Vet Med. Vol. 13, no. 1, pp. 64–79.

6. Haaland, P.J., Sjtström, L., Devorl, M., Haug, A. (2009). Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. Vet. Comp. Orthop Traumatol. Vol. 4, pp. 309–315. Available at: <https://doi.org/10.3415/VCOT08-05-0044>

7. Reznik, L.B., Erofeev, S.A., Stasenko, I.V., Borzunov, D.Yu. (2019). Morphological assessment of osteointegration of various implants for management of long bone defects (experimental study). Genij Ortopedii. Vol. 25, no. 3, pp. 318–323. Available at: <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2019-25-3-318-323>.

8. Shastov, A.L., Kononovych, N.A., Horbach, E.N. (2018). Problema zameshcheniya posttravmatycheskikh defektov dlinnykh kostei v otechestvennoi travmatologo-ortopedycheskoi praktike [The problem of replacing post-traumatic defects of long bones in domestic traumatology and orthopedic practice]. Henyi ortopedyy [The genius of orthopedics]. Vol. 24, no. 2, pp. 252–257. Available at: <https://doi.org/10.18019/1028-4427-2018-24-2-252-257>

9. Rahmati, M., Pennisi, C.P., Budd, E., Mobasher, A., Mozafari, M. (2018). Biomaterials for Regenerative Medicine: Historical Perspectives and Current. Adv Exp Med Biol – Cell Biology and Translational Medicine. Available at: https://doi.org/10.1007/5584_2018_278

10. Talashova, Y.A., Sylanteva, T.A., Kononovych, N.A., Luneva, S.N. (2012). Ocenka biosovmestimosti implantacionnykh kal'cij-fosfatnykh materialov v zavisimosti ot ih mineral'nogo sostava [Assessment of biocompatibility of implantation calcium phosphate materials depending on their mineral composition]. Bjulleten' sibirskoj mediciny [Siberian Medicine Bulletin]. no. 3, pp. 62–69.

11. Shumilovaa, A.A., Shishatskayaa, E.I. (2014). Materials for Restoration of Bone Tissue. Journal of Siberian Federal University. Biology 2. no. 7, pp. 209–221.

12. Huryn, A.N., Komlev, V.S., Fadeeva, Y.V., Petrakova, N.V., Varda, N.S. (2012). Sravnytelnoe issledovanye zameshcheniya defektov kostnoi tkany osteoplastycheskymy materialamy na osnove α - y β -trykaltsyifosfata [A comparative study of the replacement of bone defects with osteoplastic materials based on α - and β -tricalcium phosphate]. Stomatologiya [Dentistry]. no. 6, pp. 16–21.

13. Brusko, A.T., Haiko, H.V. (2014). Sovremennye predstavleniya o stadiyakh reparativnoi regeneratsyy kostnoi tkany pry perelomakh [Modern ideas about the stages of reparative regeneration of bone tissue in fractures]. Visnyk ortopedii, travmatologii ta protezuvannia [Bulletin of orthopedics, traumatology and prosthetics]. no. 2, pp. 5–8.

14. Levchenko, O.O. (2016). Osnovni mekhanizmy remodeliuvannia kistkovoï tkany [The main mechanisms of bone remodeling]. Dermatologiya ta venerologiya [Dermatology and venereology]. no. 2 (72), pp. 5–12.

15. Dovgalevich I.I. Narushenie reparativnogo osteogeneza pri inficirovannykh defektakh trubchatykh kostej. Repozitorij BGMU. 2016. S. 76–80.

16. Yeroshenko, O.V. (2013). Bilky hostroi fazy i markery spoluchnoi tkany za reparativnoho osteogeneza ta yoho farmakologichna korektsiia v sobak: avtoref. dys. kand. vet. nauk: 16.00.05. [Acute phase proteins and connective tissue

markers in reparative osteogenesis and its pharmacological correction in dogs: author's ref. dis. for science. degree of Cand. vet. Science: 16.00.05.]. Bila Tserkva, 20 p.

17. Popsuishapka, O.K., Litvishko, V.O., Ashukina, N.O. (2015). Kliniko-morfologichni stadii protsesu zroshchennia vidlamkiv kistky [Clinical and morphological stages of the process of fusion of bone fragments]. Ortopediya, travmatologiya y protezuvannia [Orthopedics, traumatology and prosthetics]. no. 1, pp. 12–20.

18. Yrianov, Yu.M., Sylanteva, T.A. (2007). Sovremennue predstavleniya o histologicheskikh aspektakh reparativnoi regeneratsyy kostnoi tkany (obzor lyteratury). Kletochnye ystochnyky reparativnoho osteogeneza [Current views on the histological aspects of reparative regeneration of bone tissue (literature review). Cellular sources of reparative osteogenesis]. Heterohennost kletochnoi populatsyy v oblasti travmatycheskogo povrezhdeniya kosty [Heterogeneity of the cell population in the area of traumatic bone damage]. Henyi ortopedyy [Orthopedic genius]. no. 2, pp. 111–116.

19. Khodzhaev, R.R., Shermatov, H.A. (2012). Vliyanye preparata «Kaltsemin» na regeneratsiyu kosty v eksperimente [The effect of Calcemin on bone regeneration in an experiment]. Ortopediya, travmatologiya y protezuvannia [Orthopedics, traumatology and prosthetics]. no. 4, pp. 50–55.

20. Mashejko I.V. Biohimicheskie markery v ocenke processov remodelirovaniya kostnoj tkani pri osteopenii i osteoporoze. Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. 2017. № 2. S.149–153.

21. Kostyov R.E., Kalynychenko S.H., Matveeva N.Iu. (2017). Troficheskiye faktory rosta kostnoi tkany, ykh morfohenetycheskaia kharakterystyka y klynicheskoe znachenye [Trophic bone growth factors, their morphogenetic characteristics and clinical significance]. TMZH. no. 1, pp. 10–16. Available at: <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2017.1.10-16>

22. Ghosh, S.K., Nandi, S.K., Kundu, B. (2008). In vivo response of porous hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate prepared by aqueous solution combustion method and comparison with bioglass scaffolds. J. Biomed Mater Res B. Appl Bio-mater. Vol. 86, pp. 217–227.

23. Dorozhkin, S.V. (2015). Calcium orthophosphate-containing biocomposites and hybrid biomaterials for biomedical applications. Journal of Functional Biomaterials. Vol. 6, pp. 708–832.

24. O'Neill, E., Awale, G., Daneshmandi, L., Umerah, O. (2018). The roles of ions on bone regeneration. Drug discovery today. Vol. 23 (4), pp. 879–890.

25. Berchenko, H.N. (2010). Synteticheskiye kaltsyifosfornye materialy v travmatologiyi y ortopedii [Synthetic calcium-phosphorus materials in traumatology and orthopedics]. Travmatologiya ortopediya [Traumatology orthopedics]. no. 2, pp. 53–57.

26. Kartel, M., Zhukovtseva, O., Malanchuk, V., Kiselov, V., Alekseyeva, T., Wang, B. (2015). Nanocomposite based on SiC/Si: a new biomorphic material for facial surgery. 7(22), pp. 311–316.

27. Marcela, A.O., Qaisar, N., Aldo, R.B. (2020). Silicate-based nanoceramics in regenerative medicine. Nanostructured Biomaterials for Regenerative Medicine. pp. 254–273. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102594-9.00009-7>

Рентгенографическая, макроморфологическая и гематологическая оценка гидроксиапатитной керамики с различными физико-химическими свойствами
Чемеровский В. А.

За лечения сложных осколочных переломов, вследствие потери регенеративного потенциала костной ткани, возникает необходимость применения различных композитных материалов. Среди них перспективной считается керамика на основе синтетического гидроксиапатита и трикальцийфосфата.

Проведено исследование репаративного остеогенеза в губчатой и компактной костной ткани кроликов за использования 3-компонентных материалов с различными физико-химическими свойствами. Контроль течения репаративного остеогенеза осуществляли клинико-рентгенологически и макроморфологически. Влияние композитных материалов на организм исследовали путем определения динамики гематологических показателей крови в течение всего срока исследования.

Сформировали 3 исследовательские и контрольную группу кроликов. Сформированные дефекты первой опытной заполняли ГТ + α -ТКФ-500, второй – ГТЛКг-2 и третьей – ГТЛКг-700, последние композитные материалы были легированные кремнием. У животных контрольной группы костные дефекты оставляли заживать под кровяным сгустком. При проведении исследований все животные находились в одинаковых условиях. Кровь для гематологического исследования отбирали с наружной яремной вены до анестезии и на 3-й, 7-й, 14-й, 21-й и 42-е сутки. Рентгенологический контроль осуществляли на 14-й, 21-й и 42-е сутки, выводили животных с опыта на 21-й и 42-е сутки и образцы исследовали макроморфологично.

Рентгенологически все композитные материалы обладают остеокондуктивными свойствами, а легированные кремнием приобретают остеоиндуктивные. В компактной костной ткани на 42-е сутки в 1-й и 3-й опытных группах это характеризовалось образованием точечного остеосклероза с уплотнённым контуром периоста, а во 2-й опытной отмечали только уплотнение контура периоста. Однако в губчатой костной ткани рентгенологически на 42-е сутки у животных 1-й опытной группы образовался точечный остеосклероз, в котором визуализировались отдельные гранулы композита, а во 2-й – в месте дефекта белое пятно, которое было очерченной формы и однородной структуры и в 3-й – образовался четко ограничен точечный остеосклероз, в структуре которого были заметны гранулы керамики.

Макроморфологично при применении ГТ + α -ТКФ-500 отмечали прочное соединение гранул из сформировавшейся костной тканью без каких-либо разрастаний периоста, во время применения ГТЛКг-2 места дефектов были идентичны не травмированным участкам лучевых костей, а в 3-й – костный дефект наполненный до уровня плоскости поверхности кости и покрыт периостом без видимых его разрастаний, гранулы композита равномерно распределены в регенерате и связанные с костной тканью.

За анализа гематологических показателей принципиальных их различий не выявлено, однако использование гидроксиапатитных имплантов не сопровождается, в отличие от спонтанного репаративного остеогенеза, раз-

витием лейкоцитоза, что свидетельствует об умеренном течение его воспалительно-резорбтивной стадии. Зато последняя сопровождается тромбоцитарной реакцией, наиболее выраженной при использовании имплантов, что, вероятно, обусловлено влиянием тромбоцитарных факторов и является косвенным свидетельством ранней остеобластической реакции.

Ключевые слова: переломы, кролики, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, гемоглобин.

Radiographic, macromorphological and hematological evaluation of hydroxyapatite ceramics with different physicochemical properties

Chemerovsky V.

Treatments of fragmentary fractures in case of loss regenerative potential of bone tissue require using different composite materials. Among all of them, ceramics based on synthetic hydroxyapatite and tricalcium phosphate are considered promising.

The reparative osteogenesis in spongy and compact rabbit's bone tissue using 3 composite materials with different physicochemical properties was studied. A reparative osteogenesis controlled by monitoring clinical, radiologic and macromorphologic parameters. Composite materials influence on the organism was studied by determining the dynamics of hematological parameters throughout the study period.

To realize this scheme was formed a 3 experimental groups and one control group of rabbits. The created defects of animals of first experimental group were filled out with GT + α -TKF-500, the defects of second one animals group filled out with GTIKI-2, and defects of third one animals group filled out with GTIKg-700. The GTIKI-700 materials were doped with silicon. In control animals, bone defects were allowed to heal under a blood clot.

During the studies, all animals were located in the same environment conditions. A blood samples for hematological investigation was taken from the external jugular vein before anesthesia and at the 3rd, 7th, 14th, 21st and 42nd day after surgery. X-ray examination was performed on 14th, 21st, and 42nd days. The animals were removed from the experiment on 21st and 42nd days. The samples were examined by macromorphologic method.

By radiologic examination was found that composite materials had osteoconductive properties except the silicon-doped example which had osteoinductive properties. The samples of compact bone tissue of 1st and 3rd experimental groups characterized by formation of punctate osteosclerosis with a compacted contour of the periosteum on the 42nd day. But the bone samples of 2nd experimental group had compacted contours of the periosteum only.

However, in the cancellous bone tissue on the 42nd day in the animals of the 1st experimental group developed point osteosclerosis, which visualized as individual granules of the composite. But in the animals of 2nd group the white spot which was outlined shape and homogeneous structure at the defect was found. The bone samples of 3rd animals group showed a clearly limited point osteosclerosis forming were was found ceramic granules.

In case using of GT + α -TKF-500, a strong connection of granules from the formed bone tissue and without any periosteal growth was noted. Using GTIKI-2 places of defects were identical to not injured sites of radial bones. Using GTIKg-700

shows that bone defect is filled to the level of the plane of the bone surface and covered with a periosteum without visible growths. The granules of the composite are evenly distributed in the regenerate and associated with bone tissue.

The analysis of hematological parameters did not reveal any fundamental differences, but the use of hydroxyapatite implants is not accompanied, in contrast to spontaneous reparative osteogenesis, the development

of leukocytosis, which indicates a moderate course of its inflammatory reaction. But the latter is accompanied by a platelet reaction, the most pronounced when using implants, which is probably due to the influence of platelet factors and is indirect evidence of early osteoblastic reaction.

Key words: fractures, rabbits, erythrocytes, leukocytes, platelets, hemoglobin.



Copyright: © Чемеровський В.О. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Чемеровський В.О. ID <https://orcid.org/0000-0001-5475-5642>

ХІРУРГІЯ

УДК 619:616.71-007.1:612.115:616-073.75:636.92

Динаміка гематологічних показників, макроморфологічна і рентгенологічна картини репаративного остеогенезу в кролів за використання тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної керамікиШевченко С.М. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: svitlana.shevchenko@btsau.edu.ua

Шевченко С.М. Динаміка гематологічних показників, макроморфологічна і рентгенологічна картини репаративного остеогенезу в кролів за використання тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної кераміки. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 153–164.

Shevchenko S.M. Dynamika gematologichnykh pokaznykiv, makromorfologichna i rentgenologichna kartyny reparatyvnogo osteogenezu v kroliv za vykorystannja trombocytarnykh koncentrativ ta gidroksyapatyt-noi' keramiky. Naukovyy visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 153–164.

Рукопис отримано: 15.05.2020р.

Прийнято: 19.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-153-164

Представлено результати динаміки морфологічних показників крові кролів з модельними дірчастими дефектами у губчастій та компактній кістковій тканині у різні терміни репаративного остеогенезу. Сформовано 4 групи кролів. Кісткові ушкодження у першій дослідній групі були заповнені ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами, у другій — фібрином, збагаченим тромбоцитами, у третій — комбінацією фібрину, збагаченого тромбоцитами, та гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом. У контрольній групі дефекти залишалися загоюватися під кров'яним згустком. Усі тварини перебували в однакових умовах годівлі та утримання, мали необмежений доступ до води. Протягом дослідження за кролями вели клінічні спостереження. Кров для морфологічного дослідження відбирали до оперативного втручання та на 3-ю, 7-, 14-, 21-, 42-у добу. Тварин виводили з досліді на 14-у, 21-у та 42-у добу, проводили рентгенологічне дослідження, відбирали зразки кісткової тканини.

Встановлено, що травма кісткової тканини спричиняє виникнення ряду реакцій організму, спрямованих на відновлення пошкодженої ділянки. На фоні загальної картини отриманих результатів морфологічного дослідження, порівняно з фізіологічною нормою суттєво змінюється рівень тромбоцитів, при цьому кількість еритроцитів та лейкоцитів не виходить за її межі. Спостерігається незначне підвищення рівня гемоглобіну, особливо у дослідних групах на 21-у та 42-у добу. Відмічали достовірні зміни кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів та концентрації гемоглобіну у дослідних групах порівняно з контрольною групою у різні терміни репаративного остеогенезу. Застосування різних типів тромбоцитарних концентратів справляє вплив на загальну реакцію організму.

На рентгенограмах променевих кісток (компактна кісткова тканина) на 21-у добу в другій та третій дослідних групах, де для заміщення дефектів кісткової тканини застосовували фібрин, збагачений тромбоцитами, та його комбінацію із гідроксиапатитними матеріалами з β -трикальційфосфатом, запальна реакція проявлялася меншою мірою. Не відбувалося значного формування кісткового мозоля порівняно з першою, у якій модельні дефекти заповнювали ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами, та контрольною групою.

Кожен з типів тромбоцитарних концентратів та їх комбінація з гідроксиапатитною керамікою по різному впливає на відновлення кісткових дефектів та супроводжується виникненням ряду реакцій, як місцевих так і загальних. За ступенем інтенсивності на цей процес їх можна розмістити в наступній послідовності: i-PRF < PRF < PRF + ГТ.

Макроморфологічно та рентгенологічно суттєвих відмінностей не виявлено для різних типів кісткової тканини у результаті застосування кожної із речовин, концентруючої тромбоцити.

Комбінація гранул гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом та фібрину, збагаченого тромбоцитами, виявилася найоптимальнішим варіантом для відновлення ушкодженої ділянки. Її застосування забезпечує значно менший прояв місцевої запальної реакції та зумовлює утворення оптимального кісткового мозоля.

Ключові слова: PRF, i-PRF, гранули, центрифуги, фактори росту, кістковий мозоль.

Постановка проблеми. Переломи кісток супроводжуються порушеннями локальної гемоциркуляції, які лімітують репаративний потенціал кісткової тканини. Це, в свою чергу, зумовлює збільшення об'єму деструктивних змін, розвиток інфекційно-запальних та імунопатологічних процесів у травмованих тканинах, ступінь яких залежить від складності травми і впливає на тип консолидації переломів та динаміку перебігу її стадій [1, 2]. У зв'язку з цим переломи зі значними дефектами кісткової тканини та великою кількістю уламків залишаються суттєвою проблемою і потребують комплексного забезпечення остеокондуктивних та остеоіндуктивних механізмів репаративного остеогенезу [3, 4].

Водночас порушення цілісності судин під час травмування слугує стартом для запуску каскаду плазмово-коагуляційних механізмів, а також активації і агрегації тромбоцитів [5, 6].

Гематома, утворена у місці перелому, формує тканинний каркас для репаративного процесу та є джерелом гематопоетичних клітин. За рахунок цитокінів та факторів росту вони забезпечують міграцію і проліферацію клітинних елементів, зумовлюючи початок репаративних процесів та утворення сполучно-тканинного мозоля [7]. Проте за проведення остеосинтезу, під час репозиції відбувається зрушення кісток та їх уламків. Порушується фіксація первинно сформованих кров'яних згустків, які забезпечують контакт країв уламків [8]. Гематому видаляють, а з нею і дрібні кісткові частинки, які неможливо зафіксувати. При цьому відбувається обмеження реалізації механізмів ендоостальної та інтрамембранної осифікації.

Отже, незважаючи на здатність кісткової тканини до утворення абсолютно ідентичної аутологічної структури у місці пошкодження, існує необхідність у створенні певних умов [9] для оптимізації репаративних процесів. З цією метою використовують різноманітні біологічні матеріали з остеоіндуктивними та остеокондуктивними властивостями [10].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Останнім часом у регенеративній медицині набуло широкого застосування різних типів тромбоцитарних концентратів – плазми та фі-

брину, збагачених тромбоцитами [11, 12]. Кількість кров'яних пластинок у цих біологічних субстратах збільшена приблизно у п'ять разів [13], порівняно з кількістю у нативній крові. Їх виготовляють шляхом центрифугування певного об'єму крові. Тромбоцитарні концентрати застосовують як альтернативний метод фіксації дрібних кісткових фрагментів чи заміщення значних кісткових дефектів у чистому вигляді або в комбінації з іншими матеріалами [14].

Ефективність впливу тромбоцитарних концентратів ґрунтується на дії значної кількості факторів росту, які містять гранули тромбоцитів [15]. Ці фактори здатні індукувати регенерацію тканин за рахунок інфільтрації, росту, диференціювання, міграції та апоптозу клітин [16–18].

Серед них вирішальна роль у регенерації кісткової тканини належить PDGF і TGF- β [19]. PDGF (-platelet-derived growth factor) – тромбоцитарний фактор росту, який секретується такими клітинами як тромбоцити, моноцити, макрофаги та ендотеліоцити. Для його транспортування необхідний $\alpha 2$ -макроглобулін. Мітогенний ефект цього фактору поширюється на пул клітин кісткової тканини та на фібробласти пухкої сполучної тканини. Також він здатний посилювати синтез колагену 1-го типу, стимулює резорбцію кісткової тканини за рахунок збільшення кількості остеокластів [20–22].

TGF- β transforming growth factor-beta) – трансформуючий фактор росту, секретується остеобластами та остеокластами, займає одне з ключових місць у метаболізмі кісткової тканини, індукуючи проліферацію остеогенних клітин та основної речовини кісткової тканини [23, 20].

Також у гранулах тромбоцитів містяться такі речовини як VEGF (-vascular endothelial growth factor) – судинний ендотеліальний фактор росту, який виконує важливу функцію під час ендохондральної осифікації, оскільки забезпечує процес васкуляризації кісткового мозоля. Він зберігає активність протягом усього періоду зрощення і ремоделювання кісткової тканини [25, 28].

Поряд з цим IGF I і II (-insulin-like growth factor) – інсуліноподібний фактор росту, стимулює синтез колагену, забезпечує активацію і

проліферацію остеобластів, бере участь в утворенні хрящової тканини [11, 24].

Фактор росту фібробластів (fibroblast growth factor – FGF), одним з перших розпочинає діяти за консолідації перелому, беручи участь у хондрогенезі [25].

Однак, відсутність визначеної класифікації та недостатній опис протоколів приготування, а отже, і характеристика кінцевого продукту призвела до виникнення дискусій стосовно впливу різних типів тромбоцитарних концентратів на стимуляцію регенеративних процесів у тканинах [26].

Тромбоцитарні концентрати застосовують у ветеринарії для регенерації різних тканин організму, починаючи зі шкіри як пускового механізму для диференціації клітин, утворення великої кількості кровоносних судин та стимуляції загоєння хронічних ран [27, 28] і для відновлення м'язової тканини [29]. Також ці концентрати використовують з метою проти-запальної дії та знеболення у суглобах [30], і відновлення травмованих сухожилків [29, 35], дефектів кісткової тканини [31] і пародонту [32, 33] як самостійні, індукуючі регенерацію компоненти, так і у комбінації з іншими остеокондуктивними матеріалами [34, 14].

Мета дослідження – клініко-експериментально обґрунтувати вплив на репаративний остеогенез у кролів різних типів тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної кераміки з фібрином, збагаченим тромбоцитами.

Матеріали і методи. Дослідження виконували на базі кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського НАУ в умовах навчально-наукової виробничої міжкафедральної клініки коней, жуйних, свиней, дрібних та екзотичних тварин, відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р., правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р., та Наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Схема проведення досліджень була затверджена Етичним комітетом БНАУ, протокол № 1 від 23 січня 2019.

В експерименті використовували клінічно здорових кролів ($n=40$) з масою тіла 2,5 кг, яких утримували в індивідуальних клітках віварію Білоцерківського національного аграрного університету. Вони мали необмежений доступ до води, годівлю забезпечували комбікормом для кролів із розрахунку 200 г на одну голову за добу. Для порівняння репаративних властивос-

тей різних типів тромбоцитарних концентратів та їх комбінації з гідроксиапатитними матеріалами було сформовано 4 групи кролів, у яких моделювали дірчасті дефекти у двох типах кісткової тканини однієї групи тварин: губчастій — гребінь великогомілкової кістки з медіального боку, та компактній кістковій тканині — середина діяфізу променевої кістки (доступ виконували на дорсо-латеральній поверхні передпліччя). Оперативне втручання виконували з дотриманням вимог асептики та антисептики. Анестезіологічне забезпечення включало: внутрішньом'язово 2 % розчин ацепромазину (0,5–1,0 мг/кг), внутрішньовенно тіопенат (5–8 мг/кг) та місцево інфільтраційну анестезію 0,5 % розчином лідокаїну (3–4 мг/кг). Розсікали окістя та свердлом ($d=3$ мм) формували дірчасті дефекти, які у тварин контрольної групи ($n=10$) залишали загоюватися під кров'яним згустком. У першій дослідній групі ($n=10$) заповнення дефектів проводили ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами (i-PRF), у другій ($n=10$) — дефекти заповнювали згустком фібрину, збагаченого тромбоцитами (PRF), виготовлено з аутологічної крові кроликів. Тваринам третьої дослідної групи (PRF+ГТ, $n=10$) дефекти заповнювали комбінацією гранул гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом та фібрином, збагаченого тромбоцитами. Рани м'яких тканин закривали вузловими швами. У післяопераційний період за тваринами вели клінічні спостереження. Шви знімали на 7 добу.

Ін'єкційний фібрин, збагачений тромбоцитами, отримували шляхом відбору крові без антикоагулянту в пластикову пробірку з негайним наступним центрифугуванням за 1000 об/хв (≈ 106 g) протягом 2 хв. У результаті отримували рідку форму фібрину, збагаченого тромбоцитами, стерильною піпеткою відбирали 0,5 мл і вносили безпосередньо в порожнину кісткового дефекту.

Для приготування PRF – фібрину, збагаченого тромбоцитами, з яремної вени за допомогою шприца відбирали 5 мл крові, яку перенесли в пластикову пробірку без антикоагулянту та негайно центрифугували за 3000 об/хв (≈ 956 g) протягом 10 хв. У результаті в нижній частині пробірки зосереджувалися еритроцити, в середній – згусток фібрину, збагачений тромбоцитами, у верхній – сироватка крові. За допомогою пінцета діставали згусток і відрізали ножицями еритроцитарну масу. Брали необхідний об'єм PRF для заповнення кісткового дефекту з нижньої частини згустку.

Усі процедури отримання тромбоцитарних концентратів проводили з дотриманням правил асептики і антисептики.

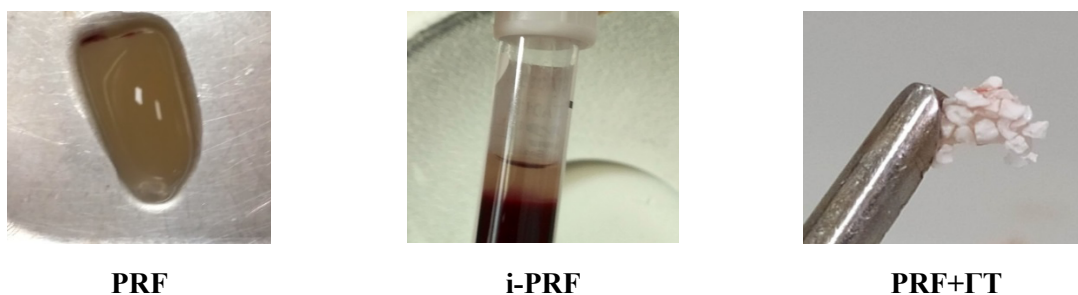


Рис. 1. Різні типи тромбоцитарних концентратів та їх комбінація з гідроксипатитними матеріалами.

Кров для гематологічного дослідження у кролів відбирали з яремної вени перед проведенням оперативного втручання та на 3-ю, 7-, 14-, 21-, 42-у добу після моделювання дефекту кісткової тканини. Рентгенологічне дослідження проводили на 7-у, 14-, 21- та 42-у добу.

Виведення тварин з дослідів відбувалося шляхом введення тіопенталу в дозі 50 мг/кг (тіопентал натрію, ООО Бровафарма, Україна). Далі відбирали зразки кісткової тканини для макроморфологічного і гістологічного дослідження.

Результати дослідження та їх обговорення. Клінічно, на наступну добу після оперативного втручання, відмічали незначний набряк тканин та підвищення місцевої температури. Функції кінцівок були не порушені. З рани виділявся серозний ексудат у невеликій кількості, який підсихаючи утворював кірочку. На сьому добу набряк та болючість були відсутні у тварин усіх груп, краї шкіри були щільно з'єднані. У цей період проводили зняття швів.

На 21-у добу репаративного остеогенезу кролі всіх груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку, ознаки запальної реакції були відсутні, у контрольній та дослідній групі, де дефект заповнювали ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами, пальпаторно відмічали виражене ущільнення періосту у ділянці

діафіза променевої та гребеня великогомілкової кістки.

За результатами рентгенологічного аналізу на 21-у добу у першій дослідній групі, у якій застосовували ін'єкційний фібрин, збагачений тромбоцитами, на рентгенограмах променевих кісток у ділянці дірчастого дефекту спостерігали хмароподібну тінь, як ознаку залишків запальної реакції, та деяке ущільнення кісткової тканини (рис. 2. В). У другій, де використали фібрин, збагачений тромбоцитами, — чітко окреслене незначне потовщення кістки, сформоване в межах періосту, проявлялося значно меншою мірою (рис. 2. Б). Рентгенограми третьої дослідної групи, у якій дефекти заповнювали гранулами гідроксипатиту з β -трикальційфосфатом та фібрином, збагаченим тромбоцитами, характеризувалися тим, що виповнений дефект мав помірне підвищення рентгенологічної щільності (рис. 2. Г).

На контрольних рентгенограмах променевих кісток кролів візуалізувалися кістковий дефект і хмароподібна тінь, яка суттєво поширювалася від місця травми, що свідчить про наявність запальної реакції з утворенням досить масивного хрящово-кісткового мозоля (рис. 2. А).

На 21-у добу після оперативного втручання на рентгенограмах гребенів великогомілкових кі-

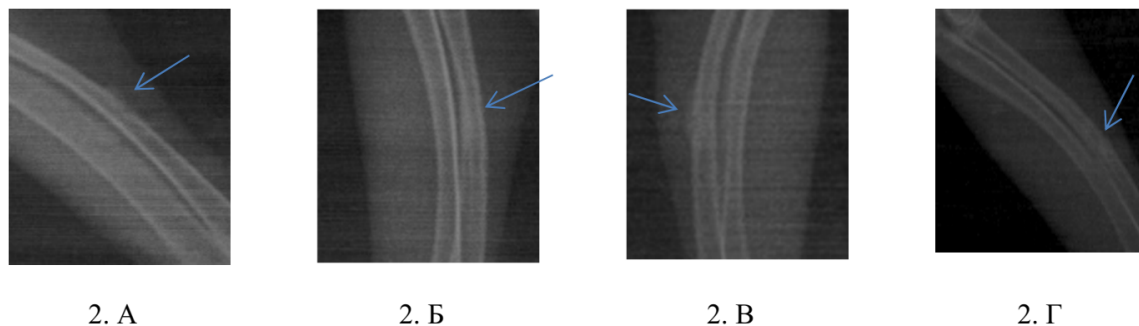


Рис. 2. Рентгенограми променевих кісток кролів на 21-у добу – компактна кісткова тканина: А – контрольна, Б – PRF, В – i-PRF, Г – PRF+ГТ.

сток у губчастій кістковій тканині кролів першої дослідної групи (i-PRF) та другої — (PRF) місце дефекту ще візуалізувалося та мало низьку рентгенологічну щільність, а по периметру кісткова тканина навколо місця травми характеризувалася підвищеною рентгенологічною щільністю. Це зумовлено реакцією періосту та формуванням кісткового мозоля (рис. 3. В, рис. 3. Б).

На контрольних рентгенограмах місце дефекту візуалізувалося досить добре, по периметру від нього кісткова тканина, як і у попередніх групах мала підвищену рентгенологічну щільність, яка поширювалася проксимальніше та дистальніше (рис. 3. А).

На рентгенограмах кролів дослідної групи, в якій застосовували комбінацію гранул гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом та фібрину, збагаченого тромбоцитами, по периметру травмованої ділянки періостальної реакції не відмічали, проте саме місце дефекту мало досить високу рентгенологічну щільність, чого не спостерігали в інших групах (рис. 3. Г).

Під час макроморфологічного аналізу фрагментів променевих кісток у період 21-ї доби у контрольній та дослідних групах з PRF чи i-PRF спостерігали утворення кісткового мозоля різного розміру та форми: кратероподібна (рис. 4. А), у вигляді незначного потовщення (рис. 4. Б) та випукла (рис. 4. В), що складалася з фіброзно-хрящового регенерату. На відміну від них у дослідній групі (PRF+ГТ)

новоутворена тканина з гранулами гідроксиапатиту рівномірно заповнювала лише ділянку дірчастого дефекту, не виходячи за поверхню кістки (рис. 4. Г).

На зразках губчастих кісток спостерігали аналогічну ситуацію. Найбільший кістковий мозоль утворився у групі з i-PRF, значно виступаючи над поверхнею (рис. 5. В). У зразках контрольної групи сформований регенерат також підвищувався над місцем дефекту (рис. 5. А). Зразки групи PRF характеризувалися дещо меншим утворенням над поверхнею травми (рис. 5 Б). Зовсім не підвищувалася або ледь виступала за межі поверхні новоутворена тканина лише у дослідній групі PRF+ГТ (рис. 5. Г).

Отже, з огляду на макроморфологічну та рентгенологічну картини, різні технологічні форми тромбоцитарних концентратів та їх комбінацій мають досить виражені остеоіндуктивні властивості і сприяють більш динамічній зміні стадій репаративного остеогенезу незалежно від типу травмованої кісткової тканини. За ступенем інтенсивності на цей процес їх можна розмістити в наступній послідовності: i-PRF < PRF < PRF+ГТ. Наявність остеокондуктивних і остеointegraційних властивостей гідроксиапатитної кераміки та остеоіндуктивних, багатого на тромбоцити фібрину, найбільш виразно оптимізує репаративний остеогенез.

Поряд з цим були встановлені певні закономірності в динаміці гематологічних показ-

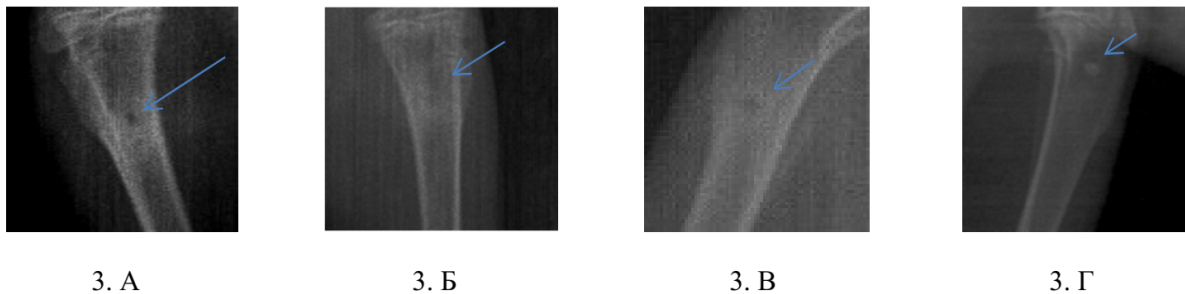


Рис. 3. Рентгенограми великогомілкових кісток кролів на 21-у добу – губчаста кісткова тканина: А – контрольна, Б – PRF, В – i-PRF, Г – PRF+ГТ.

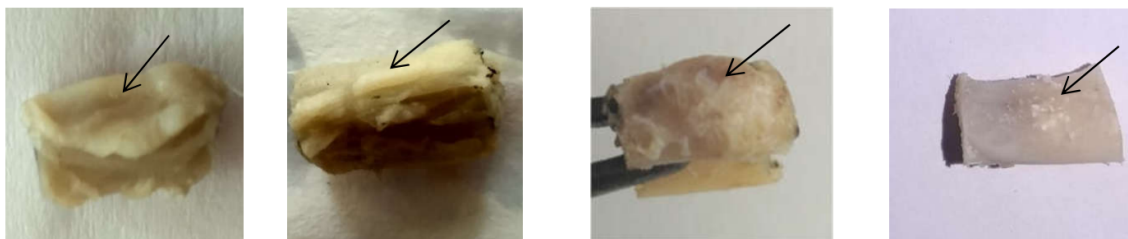


Рис. 4. Макроморфологічна картина фрагментів компактної кістки кролів на 21-у добу репаративного остеогенезу: А – контрольна, Б – PRF, В – i-PRF, Г – PRF+ГТ.

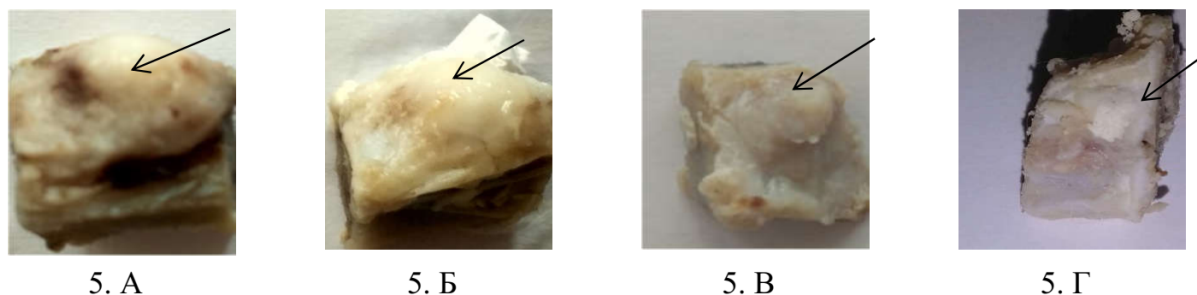


Рис. 5. Макроморфологічна картина фрагментів губчастої кістки кролів на 21-у добу репаративного остеогенезу: А – контрольна, Б – PRF, В – i-PRF, Г – PRF+ГТ.

ників (табл. 1.). Зокрема, спостерігався розвиток еритропенії в усіх групах тварин в період перших 7-ми діб репаративного остеогенезу, тобто під час його запально-резорбтивної стадії. Однак при цьому істотної різниці за кількістю еритроцитів у крові кролів між групами не встановлено. Водночас у наступному в 4-й групі, починаючи з 14-ї доби вона динамічно збільшувалася з 5.7 ± 0.194 до 6.6 ± 0.233 Т/л на 42-у добу, що у 1,1 та 1,3 раза ($p < 0.05$, $p < 0.001$), відповідно, більше за показники решти груп. Навіть їх кількість на 42-у добу виявилася в 1,2 раза ($p < 0.001$) більшою, ніж у здорових кролів до травми. Тобто, спочатку виникає незначна гальмуюча дія прозапальних цитокінів на еритроцитопоез, а в подальшому розвивається гемопоез-індукуючий вплив факторів росту на кістковий мозок, а саме, на гемопоетичну тканину, розміщену у міжтрабекулярному просторі губчастої кістки епіфізів.

Зазначені чинники одночасно впливають і на рівень гемоглобіну. Це, у свою чергу, зумовлює його зниження в усіх групах під час розвитку першої стадії репаративного остеогенезу. Так, на 7-у добу концентрація гемоглобіну становила від 111.4 ± 2.441 до 105.2 ± 2.123 Г/л, що у 1,1 раза нижче за показники здорових кролів. Проте вже на 14-у добу його рівень різко почав підвищуватися у другій та третій групах і становив 129.6 ± 1.908 та 129.0 ± 1.669 Г/л, що було вищим у 1,1 раза ($p < 0.001$) порівняно з контрольною групою тварин у відповідний термін. Тенденція до зростання концентрації спостерігалася у другій групі і надалі, а на 42-гу добу досягла піку та залишалася найвищою серед інших груп. Вона становила 139.0 ± 2.121 Г/л ($p < 0.001$). Водночас, збільшення концентрації гемоглобіну в 1-й та 4-й групах проходило менш інтенсивно.

Також встановлено деякі особливості у динаміці кількості лейкоцитів, хоч їх підвищення лише наближалось до верхньої межі показників фізіологічно здорових тварин. Її пік у всіх дослідних групах припадав на 7-у добу і ста-

новив у другій, третій та четвертій відповідно 7.9 ± 0.083 , 8.5 ± 0.187 , 9.3 ± 0.567 Г/л ($p < 0.01$, $p < 0.001$), порівняно з контрольною групою. Водночас у останній максимальне підвищення, яке становило 8.3 ± 0.212 Г/л, спостерігали лише на 14-у добу. Такі розбіжності між дослідними і контрольною групами можуть бути зумовлені випуском ростових чинників і хемокинів із тромбоцитів, застосованих у дослідних кролів біологічних концентратів, які опосередковують міграцію моноцитів, макрофагів, базофілів та інших клітин, що теж є джерелом факторів росту, в місце травми кісткової тканини та залученням їх до запально-резорбтивних процесів, наростання яких відбувається при розвитку репаративного остеогенезу [36].

Необхідно відмітити коливання кількості тромбоцитів та відмінність у динаміці між групами. У другій та четвертій її пік припадав на 14-ту добу та становив 407.5 ± 4.910 і 457.8 ± 22.409 Г/л ($p < 0.001$), тоді як у третій – максимальний рівень тромбоцитів складав 649.5 ± 55.540 Г/л і досяг цієї позначки на 7-му добу, що у 1.6-1.8 раза ($p < 0.001$) було вищим за показники інших груп у відповідний термін. Причиною таких відмінностей може бути неоднакова концентрація факторів росту в різних формах тромбоцитарних концентратів та відмінності у термінах випуску факторів росту із гранул тромбоцитів, тобто різні періоди їх активації. Тромбоцитоз може бути наслідком безпосереднього впливу тромбоцитарного фактору росту та інших і їх мітогенним ефектом на клітини кісткового мозку, а саме мегакаріоцити. Також це може бути результатом тісного зв'язку тромбоцитів із запальною реакцією [6]. Тромбоцитарні концентрати здатні до виділення хемоатрактантів, які притягують клітини лейкоцитарного ряду в місце їх введення або травми. У свою чергу вони забезпечують випуск цитокінів, одними з яких є інтерлейкіни. Інтерлейкін-6 підвищує рівень тромбопоєтину у печінці, який індукує утворення тромбоцитів у кістковому мозку із клітин попередників [36].

Таблиця 1 – Динаміка гематологічних показників у кролів за репаративного остеогенезу під впливом різних композитних матеріалів

Показники	Групи	Норма n=40	3 доба n=10	7 доба n=10	14 доба n=8	21 доба n=6	42 n=4
Еритроцити, Г/л	Конт-рольна(1-а)	5.6±0.103	4.5±0.083	4.9±0.075	5.1±0.087	5.1±0.049	5.2±0.085
	i-PRF (2-а)		4.6±0.084	4.7±0.060	5.2±0.057	5.1±0.031	5.3±0.048
	PRF (3-а)		4.9±0.122 [^]	4.9±0.103	5.1±0.173	5.1±0.033	5.2±0.071
	ГТ+βткф +PRF (4-а)		4.8±0.063 [^]	4.9±0.177	5.7±0.194 [^]	6.1±0.167 ^{^^}	6.6±0.233 ^{^^}
Лейкоцити, Г/л	Конт-рольна (1-а)	7.1±0.094	7.8±0.129	7.5±0.076	8.3±0.212	7.6±0.067	7.3±0.111
	i-PRF (2-а)		7.8±0.088	7.9±0.083 ^{**}	7.5±0.192 [^]	7.1±0.058 ^{^^}	7.3±0.125
	PRF (3-а)		7.9±0.314	8.5±0.187 ^{^^}	8.2±0.273	7.3±0.126 [^]	7.5±0.141
	ГТ+βткф +PRF (4-а)		8.1±0.291	9.3±0.567 ^{**}	9.1±0.188 [^]	8.3±0.298 [^]	7.7±0.217
Тромбоцити, Г/л	Конт-рольна (1-а)	208.2±7.779	401.5±8.565	373.5±3.500	357.5±4.532	243.3±8.819	220.0±10.801
	i-PRF (2-а)		352.0±9.638 ^{**}	364.0±7.483	407.5±4.910 ^{^^}	236.7±6.667	225.0±2.887
	PRF (3-а)		456.5±22.853 [^]	649.5±55.540 ^{^^}	625.6±42.125 ^{^^}	245.8±14.284	220.0±8.165
	ГТ+βткф +PRF (4-а)		428.9±9.493 [^]	402.2±25.015	457.8±22.409 ^{^^}	388.3±18.151 ^{^^}	250.0±11.547
Гемоглобін, Г/л	Конт-рольна (1-а)	120.4±1.123	108.7±1.571	111.4±2.441	119.3±2.757	119.7±1.202	122.5±1.708
	i-PRF (2-а)		128.9±2.885 ^{^^}	110.2±1.800	129.6±1.908 ^{**}	136.5±2.320 ^{^^}	139.0±2.121 ^{^^}
	PRF (3-а)		111.8±3.395	109.3±5.327	129.0±1.669 ^{**}	121.0±3.337	131±3.488
	ГТ+βткф +PRF (4-а)		104.7±2.297	105.2±2.113	110.2±2.592 [^]	128.8±2.786 ^{**}	128.0±1.155 [^]

Примітки: 1.) $p < 0.05$ – [^] достовірні відмінності показників, порівняно з контрольною групою;

2.) $p < 0.01$ – ^{**} достовірні відмінності показників, порівняно з контрольною групою;

3.) $p < 0.001$ – ^{^^} достовірні відмінності показників, порівняно з контрольною групою.

Оскільки рівень лейкоцитів у четвертій групі був найвищим, провели аналіз лейкограми (табл. 2.). Звернули увагу на підвищення кількості паличкоядерних нейтрофілів до 18.2 ± 1.103 %, що було у 2,5 раза ($p < 0.001$) вищим на 7-у добу, порівняно з доопераційними показниками. Необхідно відмітити появу юних нейтрофілів у цей період. Надалі, до 14-ї доби зберігалася тенденція до підвищення, а з 21-ї по 42-у відмічали поступове їх зниження. При цьому зменшилася кількість сегментоядерних нейтрофілів.

Особливості змін лімфоцитів полягали у незначному зниженні в 1,2 раза з 52.7 ± 0.646 до 45.7 ± 1.358 % ($p < 0.001$) на 21-у добу та до 44.3 ± 2.028 % ($p < 0.01$) на 42-у. В той час як зміна відсоткового складу моноцитів відбувалася

хвилеподібно. Відмічали збільшення на 7-у добу до 3.6 ± 0.176 % ($p < 0.001$), що у 1,7 раза було вищим за показники здорових кролів, та деяке підвищення на 21-у до 3.2 ± 0.401 %, що також у 1,2 раза було більшим. Проте, на 14-у добу їх рівень у 1,2 раза, порівняно з доопераційними показниками, та у 2,1 ($p < 0.001$), у порівнянні зі значеннями на 7-у добу, знизився і складав лише 1.7 ± 0.167 %. Тобто, коливання клітин мононуклеарного ряду відображають стадійність запальної відповіді, яка розвивається внаслідок реакції організму на модельовану травму. Причиною зниження рівня моноцитів у крові може бути їх мобілізація у зону пошкодження кісткової тканини, де відбувається трансформування цих клітин у остеобласти [37].

Таблиця 2 – Лейкограма кролів групи Г – PRF+ГТ

	Б	Е	Н			Л	М
			Ю	П	С		
	0–2	1–3	0	5–9	33–39	43–62	1–3
До операції	0.7±0.167	1.9±0.261	0.0±0.00	7.2±0.465	35.4±0.604	52.7±0.646	2.1±0.309
7 доба	0.6±0.176	1.8±0.222	1.7±0.236*	18.2±1.103*	23.7±1.312*	50.6±0.835	3.6±0.176*
14 доба	0.7±0.167	2.6±0.377	3.1±0.455 *	20.8±1.839*	19.4±1.659*	51.8±1.234	1.7±0.167***
21 доба	0.5±0.224	1.8±0.307	2.2±0.307 *	19.0±1.255*	27.7±0.989*	45.7±1.358*	3.2±0.401
42 доба	0.3±0.333	2.3±0.333	1.0±0.577	11.7±1.202**	37.7±4.096	44.3±2.028**	2.7±0.333

Примітки: 1.) $p < 0.01$ – ** достовірні відмінності показників, порівняно з доопераційними;

2.) $p < 0.001$ – * достовірні відмінності показників, порівняно з доопераційними;

3.) $p < 0.001$ – *** достовірні відмінності показників, порівняно з показниками на 7-у добу.

Висновки. 1. Кожен з типів тромбоцитарних концентратів та їх комбінація з гідроксиапатитною керамікою по різному впливає на відновлення кісткових дефектів та супроводжується виникненням ряду реакцій, як місцевих так і загальних. За ступенем інтенсивності на цей процес їх можна розмістити в наступний послідовності: i-PRF < PRF < PRF+ГТ.

2. Макроморфологічно та рентгенологічно суттєвих відмінностей не виявлено для різних

типів кісткової тканини у результаті застосування кожної із речовин, концентруючої тромбоцити.

3. Комбінація гранул гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом та фібрину, збагаченого тромбоцитами, виявилася найоптимальнішим варіантом для відновлення ушкодженої ділянки. Її застосування забезпечує значно менший прояв місцевої запальної реакції та зумовлює утворення оптимального кісткового мозоля.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гайко Г.В., Бруско А.Т. Теоретические аспекты физиологической и репаративной регенерации костей с позиций системных представлений. "Журнал НАМН України". 2013. т. 19. № 4. С. 471–481.
2. Влияние биокompatимного материала на процессы регенерации костной ткани в условиях эксперимента (иммуногистохимическое исследование) / Л.Ю. Науменко и др. Травма. 2014. Том 15. № 4. С. 66–72.
3. Winkler T., Sass F.A., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. Bone Joint Res. 2018. Vol. 7. № 3. P. 232–243. Doi: <https://doi.org/10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.R>
4. Turan Cihan Dülgeroglu., Hasan Metineren. Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on Long Bone Healing: An Experimental Rat Model. Orthopedics. 2017. Vol. 40. № 3. P. 479–484. Doi: <https://doi.org/10.3928/01477447-20170308-02>
5. Алексеева Л.В., Зайцев В.В., Соловьева Л.П. Физиологические механизмы реализации гомеостатических функций тромбоцитов. Электронный научно-образовательный Вестник «Здоровье и образование в XXI веке». 2017. Vol. 19. № 1. С. 1–6.
6. Klinger M.H.F., Jelkmann W. Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation. Journal of Interferon & Cytokine Research. 2002. Vol. 22. P. 913–922. Doi: <https://doi.org/10.1089/10799900260286623>

7. Osman K., Gabr A., Haddad F.S. Bone Healing. In: Paschos N., Bentley G. General Orthopaedics and Basic Science. Orthopaedic Study Guide Series. Springer, Cham. 2019. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-92193-8_14

8. Клініко-рентгенологічна характеристика експериментального застосування фібринового гелю для оптимізації репаративного остеогенезу в кролів / М.В. Рубленко та ін. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2014. № 14 (114). С. 130–134.

9. Рубленко М.В., Чемеровський В.О., Власенко В.М. Улянич Н.В. Оцінка остеointegraційних і остеoіндуктивних властивостей кераміки, легованої кремнієм, за модельних переломів стегнової кістки у кролів. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2018. № 2. С. 44–53. Doi: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2018-144-2-44-53>

10. Рубленко М.В., Семеняк С.А., Улянич Н.В. Динаміка біомаркерів репаративного остеогенезу за умов заміщення кісткових дефектів. Науковий вісник ЛНУВБТ ім. С.З. Гжицького. Львів, 2014. Т.16, №3 (60). Ч. 1. С. 287–294.

11. Bielecki T., Dohan Ehrenfest D. M. Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): Surgical Adjuvants, Preparations for In Situ Regenerative Medicine and Tools for Tissue Engineering. Current Pharmaceutical Biotechnology. 2012. № 13. P. 1121–1130. Doi: <https://doi.org/10.2174/138920112800624292>

12. Dohan Ehrenfest D.M., Rasmusson L., Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-

rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*. 2009. Vol. 27. № 3. P. 158 – 167. Doi:https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009

13. Kossev P., Sokolov T. Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. *Immunopathology and Immunomodulation*. 2015. P. 173 – 195. Doi:https://doi.org/10.5772/61326

14. Effects of platelet-rich plasma and carbonated hydroxyapatite combination on cranial defect Bone Regeneration: An animal study / M. C. Oleya et al. *Wound Medicine*. 2018. № 21. P. 12–15. Doi:https://doi.org/10.1016/j.wndm.2018.05.001

15. Oryan A., Alidadi S., Moshiri A. Amin Bigham-Sadegh. Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. 2014. Vol. 40 (5). P. 459–481. Doi:https://doi.org/10.1002/biof.1177

16. Peck M.T., Hiss D., Stephen L. Factors affecting the preparation, constituents, and clinical efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *SADJ*. 2016. Vol. 71. № 7. P. 298–302.

17. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate / David M. Dohan et al. Part II: Platelet-related biologic features *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006. Vol. 101. P. 45–50. Doi:https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009

18. Arora S., Agnihotri N. Platelet Derived Biomaterials for Therapeutic Use: Review of Technical Aspects. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2017. Vol. 33(2). P. 159–167. Doi:https://doi.org/10.1007/s12288-016-0669-8

19. Impact of incubation method on the release of growth factors in Non-Ca2+-activated PRP, Ca2+-activated PRP, PRF and A-PRF / D. Steller et al. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2018. P. 1–28. Doi:https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.10.017

20. Костив Р.Е., Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Трофические факторы роста костной ткани, их морфогенетическая характеристика и клиническое значение. *ТМЖ*. 2017. № 1. С. 10–16. Doi:https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2017.1.10-16

21. Samuel P. Franklin., Kate E. Birdwhistell., Alena Strelchik. Influence of Cellular composition and Exogenous Activation of Growth Factor and Cytokine Concentrations in Canine Platelet-Rich Plasmas. *Frontiers in Veterinary Science*. 2017. Vol. 4. P. 1–10. Doi:https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00040

22. Raquel Maia F., Vitor M. Corrello., Joaquim M. Oliveira., Rui L. Reis. Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. *Principles of Regenerative Medicine*. Third Edition. 2019. P. 535–558. Doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00032-1/

23. Platelet rich fibrin: focus on growth factors and cytokines / A. Mali et al. *International Journal of Recent Scientific Research*. 2018. Vol. 9. № 5 (B). P. 26531–26535. Doi: https://doi.org/10.24327/ijrsr.2018.0905.2078

24. Рубленко М.В., Семеняк С.А., Андрієць В.Г. Молекулярно-біологічні механізми репаративного остеогенезу. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2017. №2 С. 11–20.

25. Badran Z., Mohamed-Nur Abdallah., Torres J., Tamimi F. Platelet concentrates for bone regeneration: Current

evidence and future challenges. *Platelets*. 2017. P. 1–8. Doi:https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327656

26. Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? / M. David et al. An Evidence-based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012. 13. P. 1145–1152.

27. Falan H. Khalaf., Serwa Ibrahim Salih. Clinical and histopathological evaluation of using platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin matrix in treatment of induced chronic open wounds in bucks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11. № 5. P. 337–341.

28. Maria Rosaria De Pascale., Linda Sommese., Amelia Casamassimi., Claudio Napoli. Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfusion Medicine Reviews*. 2015. Vol. 29. P. 52–61. Doi:https://doi.org/10.1016/j.tmr.2014.11.001

29. Kaux J.F., Drion P., Croisier J.L., Crielaard J.M. Tendinopathies and platelet-rich plasma (PRP): from preclinical experiments to therapeutic use. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine*. 2015. Vol. 11. № 1. P. 7–17.

30. Mirza M.H., Bommala P., Richbourg H.A., Rademacher N. Gait Changes Vary among Horses with Naturally Occurring Osteoarthritis Following Intraarticular Administration of Autologous Platelet-Rich Plasma. *Front. Vet. Sci*. 2016. Vol. 3:29. Doi:https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00029.

31. Baszczyk B., Kaspera W., Ficek K. Effects of Polylactide Copolymer Implants and Platelet-Rich Plasma on Bone Regeneration within a Large Calvarial Defect in Sheep. *BioMed Research International*. 2018. P. 1–11.

32. Donos N., Dereka X., Calciolari E. The use of bioactive factors to enhance bone regeneration: A narrative review. *J Clin Periodontol*. 2019. Vol. 46(Suppl. 21). P. 124–161.

33. Wang Q. L., Yang P., Hong Ge Li., Liu He. Preliminary Evaluation of Platelet Rich Fibrin Mediated Tissue Repair in Immature Canine Pulpless Teeth. *The Chinese Journal of Dental Research*. 2016. Vol. 19. 1. P. 49–50.

34. Salih S.I., Al-Falahi N.H., Saliem A.H., Abedsalih A.N. Effectiveness of platelet-rich fibrin matrix treated with silver nanoparticles in fracture healing in rabbit model. *Veterinary World*. 2018. Vol. 11 (7). P. 944–952.

35. Лечение тендинита поверхностного сгибателя пальца у лошадей с использованием тромбоцитарной аутоплазмы / Б.С. Семенов и др. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2017. № 1 (147). С. 125–132.

36. Simon J. Davidson. Inflammation and Acute Phase Proteins in Haemostasis. 2013. P. 31–54. Doi:https://doi.org/10.5772/55998

37. Оценка ответа острой фазы при экспериментальном остеосинтезе имплантатами с биоинертным покрытием нитридами сверхтвердых металлов / И.Ф. Ахтямов и др. *Гений Ортопедии*. 2013. № 4. С. 80–83.

REFERENCES

1. Gaiko, G.V., Brusko, A.T. (2013). Teoreticheskie aspekty fiziologicheskoy i reparativnoy regeneracii kostej s pozicij sistemnyh predstavlenij [Theoretical aspects of physiological and reparative bone regeneration from the standpoint of system representations]. “Zhurnal NAMN Ukrainy”

["Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"]. Vol. 19, no. 4, pp. 471–481.

2. Naumenko, L.Ju., Panasjuk, A.F., Kostryca, K.Ju., Goregljad, A.M., Bondarenko, A.A., Horoshyh, V.V. (2014). Vlihanie biokompozitnogo materiala na processy regeneracii kostnoj tkani v uslovijah jeksperimenta (immunogistohimicheskoe issledovanie) [The effect of biocomposite material on bone tissue regeneration processes under experimental conditions (immunohistochemical study)]. *Travma [Injury]*. Vol. 15, no. 4, pp. 66–72.

3. Winkler T., Sass F.A., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. (2018). A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. *Bone Joint Res.* Vol. 7, no. 3, pp. 232–243. Available at: <https://doi.org/10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.R>

4. Turan, Cihan Dülgeroglu., Hasan, Metineren. (2017). Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on Long Bone Healing: An Experimental Rat Model. *Orthopedics*. Vol. 40, no. 3, pp. 479–484. Available at: <https://doi.org/10.3928/01477447-20170308-02>

5. L.V. Alekseeva, V.V. Zajcev, L.P. (2017). Fiziologicheskie mehanizmy realizacii gemostaticeskikh funkcij trombocitov [Physiological mechanisms for the implementation of hemostatic platelet functions]. *Elektronnyj nauchno-obrazovatel'nyj Vestnik «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke»* [Electronic scientific and educational Bulletin "Health and education in the XXI century"]. Vol. 19, no. 1, pp. 1–6.

6. Klinger, M.H.F., Jelkmann, W. (2002). Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. Vol. 22, pp. 913–922. Available at: <https://doi.org/10.1089/10799900260286623>

7. Osman, K., Gabr, A., Haddad, F.S. (2019). Bone Healing. In: Paschos N., Bentley G. (eds) *General Orthopaedics and Basic Science. Orthopaedic Study Guide Series*. Springer, Cham. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-319-92193-8_14

8. Rublenko, M.V., Andriyec', V.G., Lugovs'koj, E.V., Platonova, T.M., Chernyshenko, T.M. (2014). Kliniko-rentgenologichna charakterystyka eksperymental'nogo zastosuвання fibrynovo gelju dlja optymizacii reparačynogo osteogenezu v kroliv [Clinical and radiological characteristics of the experimental use of fibrin gel to optimize reparative osteogenesis in rabbits]. *Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 14 (114), pp. 130–134.

9. Rublenko, M.V., Chemerovs'kyj, V.O., Vlasenko, V.M., Ul'janchych, N.V. (2018). Ocinka osteointegracijnyh i osteoindukčynnyh vlastyvoŭstej keramiki, legovanoi' kremnijem, za model'nyh perelomiv stegnovoi' kistky u kroliv [Evaluation of osteointegration and osteoinductive properties of silicon-doped ceramics in model fractures of the femur in rabbits]. *Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 2, pp. 44–53. Available at: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2018-144-2-44-53>

10. Rublenko, M.V., Semenjak, S.A., Ul'janchych, N.V. (2014). Dynamika biomarkeriv reparačynogo osteogenezu za umov zamishhennja kistkovykh defektiv [Dynamics of biomarkers of reparative osteogenesis under conditions of bone defects replacement]. *Naukovyj visnyk LNUVVB im. S.Z. Gzhyc'kogo* [Scientific Bulletin Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]. Lviv, Vol. 16, no. 3 (60), Part 1, pp. 287–294.

11. Bielecki T., Dohan Ehrenfest D. M. (2012). Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): Surgical Adjuvants, Preparations for In Situ Regenerative Medicine and Tools for Tissue Engineering. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. no. 13, pp. 1121–1130. Available at: <https://doi.org/10.2174/138920112800624292>

12. Dohan Ehrenfest, D.M., Rasmusson, L., Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*. Vol. 27, no. 3, pp. 158–167. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009>

13. Kossev, P., Sokolov, T. (2015). Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. *Immunopathology and Immunomodulation*. pp. 173–195. Available at: <https://doi.org/10.5772/61326>

14. Oleya, M.C., AsadulIslamb, A., Hattac, M., Hardjodet, M. (2018). Effects of platelet-rich plasma and carbonated hydroxyapatite combination on cranial defect Bone Regeneration: An animal study. *Wound Medicine*. no. 21, pp. 12–15. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2018.05.001>

15. Oryan, A., Alidadi, S., Moshiri, A. (2014). Amin Bigham-Sadegh. Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. Vol. 40 (5), pp. 459–481. Available at: <https://doi.org/10.1002/biof.1177>

16. Peck, M.T., Hiss, D., Stephen, L. (2016). Factors affecting the preparation, constituents, and clinical efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *SADJ*. Vol. 71, no. 7, pp. 298–302.

17. David, M. Dohan., Choukroun, J., Diss, A., Steve, L. Dohan., Anthony, J.J. Dohan., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* Vol. 101, pp. 45–50. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>

18. Arora, S., Agnihotri, N. (2017). Platelet Derived Biomaterials for Therapeutic Use: Review of Technical Aspects. *Indian J Hematol Blood Transfus.* Vol. 33(2), pp. 159–167. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12288-016-0669-8>

19. Steller, D., Herbst, N., Pries, R., Juhl, D., Hakim, S.G. (2018). Impact of incubation method on the release of growth factors in Non-Ca²⁺-activated PRP, Ca²⁺-activated PRP, PRF and A-PRF. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. pp. 1–28. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.10.017>

20. Kostyv, R.E., Kalynychenko, S.G., N.Ju. Matveeva, N.Ju. (2017). Troficheskie faktory rosta kostnoj tkani, ih morfogeneticheskaja charakteristika i klinicheskoe znachenie [Trophic bone growth factors, their morphogenetic characteristics and clinical significance]. *TMZH*. no. 1, pp. 10–16. Available at: <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2017.1.10-16>

21. Samuel, P. Franklin., Kate, E. Birdwhistell., Strelchik, A. (2017). Influence of Cellular composition and Exogenous Activation of Growth Factor and Cytokine Concentrations in Canine Platelet-Rich Plasmas. *Frontiers in Veterinary Science*. Vol. 4, pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00040>

22. Raquel Maia, F., Vitor, M. Correló., Joaquim, M. Oliveira., Rui, L. (2019). Reis. Natural Origin Materials

for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. Principles of Regenerative Medicine. Third Edition. P. 535–558. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00032-1/>

23. Mali, A., Gokhale, S., Patil, V., Khadtareet, Y. (2018). Platelet rich fibrin: focus on growth factors and cytokines. *International Journal of Recent Scientific Research*. Vol. 9, no. 5 (B), pp. 26531–26535. Available at: <http://doi.org/10.24327/ijrsr.2018.0905.2078>

24. Rublenko, M.V., Semenjak, S.A., Andriyec', V.G. (2017). Molekularno-biologichni mehanizmy reparatyvnoho osteogenezu [Molecular biological mechanisms of reparative osteogenesis]. *Naukovyj visnyk veterinaryarnoї medycyny* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 2, pp. 11–20.

25. Badran, Z., Mohamed-Nur, Abdallah., Torres, J., Tamimi, F. Platelet concentrates for bone regeneration: Current evidence and future challenges. *Platelets*. 2017. P. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327656>

26. David, M., Ehrenfest, D., Bielecki, T., Jimbo, R., Barbé, G., Marco Del, Corso., Inchingolo, F., Sammartino, G. (2012). Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? An Evidence-based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 13, pp. 1145–1152.

27. Falan, H. Khalaf., Serwa, Ibrahim Salih. (2018). Clinical and histopathological evaluation of using platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin matrix in treatment of induced chronic open wounds in bucks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol. 11, no. 5, pp. 337–341.

28. Maria Rosaria, De Pascale., Linda, Sommesse., Amelia, Casamassimi., Claudio, Napoli. (2015). Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfusion Medicine Reviews*. Vol. 29, pp. 52–61. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tnmrv.2014.11.001>

29. Kaux, J.F., Drion, P., Croisier, J.L., Crielaard, J.M. (2015). Tendinopathies and platelet-rich plasma (PRP): from preclinical experiments to therapeutic use. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine*. Vol. 11, no. 1, pp. 7–17.

30. Mirza, M.H., Bommala, P., Richbourg, H.A., Rademacher, N. (2016). Gait Changes Vary among Horses with Naturally Occurring Osteoarthritis Following Intra-articular Administration of Autologous Platelet-Rich Plasma. *Front. Vet. Sci.* Vol. 3, 29 p. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00029>.

31. Baszczyk, B., Kaspera, W., Ficek, K. (2018). Effects of Polylactide Copolymer Implants and Platelet-Rich Plasma on Bone Regeneration within a Large Calvarial Defect in Sheep. *BioMed Research International*. pp. 1–11.

32. Donos, N., Dereka, X., Calciolari, E. (2019). The use of bioactive factors to enhance bone regeneration: A narrative review. *J Clin Periodontol*. Vol. 46(Suppl. 21), pp. 124–161.

33. Wang, Q.L., Yang, P., Hong, Ge, Li., Liu, He. (2016). Preliminary Evaluation of Platelet Rich Fibrin Mediated Tissue Repair in Immature Canine Pulpless Teeth. *The Chinese Journal of Dental Research*. Vol. 19, 1, pp. 49–50.

34. Salih, S.I., Al-Falahi, N.H., Saliem, A.H., Abedsali, A.N. (2018). Effectiveness of platelet-rich fibrin matrix treated with silver nanoparticles in fracture healing in rabbit model. *Veterinary World*. Vol. 11 (7), pp. 944–952.

35. Semenov, B.S. (2017). Lechenie tendinita poverhnostnogo sgitatelja pal'ca u loshadej s ispol'zovaniem tromboc-

itarnoj autoplazmy [Treatment of superficial flexor tendonitis in horses using platelet autoplasm]. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of the Altai State Agrarian University]. no. 1 (147), pp. 125–132.

36. Simon, J. Davidson. (2013). Inflammation and Acute Phase Proteins in Haemostasis. pp. 31–54. Available at: <https://doi.org/10.5772/55998>

37. Ahtjamov, I.F., Shakyrova, F.V., Zubayrova, L.D., Gatyna, Je.B., Aliev Je.I. (2013). Ocenka otveta ostroj fazy pri jeksperimental'nom osteosinteze implantami s bioinertnym pokrytiem nitridami sverhtverdyh metallov [Assessment of the response of the acute phase during experimental osteosynthesis with implants with a bioinert coating with superhard metal nitrides]. *Genij Ortopedii* [The genius of Orthopedics]. no. 4, pp. 80–83.

Динамика гематологических показателей, макро-морфологическая и рентгенологическая картины репаративного остеогенеза у кроликов за использования тромбоцитарных концентратов и гидроксипатитной керамики.

Шевченко С. Н.

Представлены результаты динамики морфологических показателей крови кролика с модельными дефектами отверстия губчатой и компактной костной ткани в разные сроки репаративного остеогенеза. Сформированы 4 группы кроликов. Костные повреждения в первой опытной группе были заполнены инъекционным фибрином, обогащенным тромбоцитами, во втором — фибрином, обогащенным тромбоцитами, в третьем — комбинацией фибрина, обогащенного тромбоцитами, и гидроксипатита с β -трикальцийфосфатом. В контрольной группе дефекты оставляли заживать под кровяным сгустком. Все животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания, имели неограниченный доступ к воде. В течение исследования за кроликами вели клинические наблюдения. Кровь для морфологического исследования отбирали перед оперативным вмешательством и на 3-й, 7-, 14-, 21-, 42-е сутки. Животных выводили из опыта на 14-й, 21- и 42-е сутки, проводили рентгенологическое исследование, отбирали образцы костной ткани.

Установлено, что травма костной ткани приводит к возникновению ряда реакций организма, направленных на восстановление поврежденного участка. На фоне общей картины полученных результатов морфологического исследования, по сравнению с физиологической нормой, существенно изменяется уровень тромбоцитов, при этом количество эритроцитов и лейкоцитов не выходит за ее пределы. Наблюдается незначительное повышение уровня гемоглобина, особенно в опытных группах на 21- и 42-е сутки. Отмечали достоверные изменения количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и концентрации гемоглобина в опытных группах по сравнению с контрольной группой в разные сроки репаративного остеогенеза. Применение различных типов тромбоцитарных концентратов влияет на общую реакцию организма.

На рентгенограммах лучевых костей (компактная костная ткань) на 21-е сутки во второй и третьей опытных группах, где для замещения дефектов костной ткани применяли фибрин, обогащенный тромбоцитами, и его комбинацию с гидроксипатитными материалами с β -трикальцийфосфатом, воспалительная реакция прояв-

лялась в меншій ступені. Не проходило значительного формування костної мозолі по порівнянню з першою, в якій модельні дефекти заповнювали ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами, і контрольної групою.

Кожний з типів тромбоцитарних концентратів і їх комбінація з гідроксиапатитної керамікою по-різному впливає на відновлення костних дефектів і супроводжується виникненням ряду реакцій, як місцевих так і загальних. По ступені інтенсивності цього процесу їх можна розмістити в наступній послідовності: i-PRF < PRF < PRF+ГТ.

Макроморфологічно і рентгенологічно суттєвих відмінностей не виявлено для різних типів костної тканини в результаті застосування кожного з речовин, концентрують тромбоцити.

Комбінація гранул гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом і фібрином, збагаченого тромбоцитами, виявилася оптимальним варіантом для відновлення пошкодженого ділянки. Її застосування забезпечує значно менше проявлення місцевої запальної реакції і викликає формування оптимальної костної мозолі.

Ключові слова: PRF, i-PRF, гранули, центрифуги, фактори росту, костна мозоль.

Dynamics of hematological parameters, macromorphological and radiological results of reparative osteogenesis in rabbits for the use of platelet concentrates and hydroxyapatite ceramics.

Shevchenko S.

The results of the dynamics of the morphological parameters of the blood of a rabbit with model defects of the opening of the spongy and compact bone tissue at different periods of reparative osteogenesis are presented. Formed 4 groups of rabbits. Bone lesions in the first experimental group were filled with injectable platelet-rich fibrin, in the second - platelet-rich fibrin, in the third - a combination of platelet-rich fibrin, and hydroxyapatite with β -tricalcium phosphate. In the control group, the defects remained healed under a blood clot. All animals were in the same conditions of feeding and keeping, had unlimited access to water. During the study, rabbits were clinically observed. Blood was taken for morphological examination before surgery and on the 3rd, 7th, 14th, 21st,

42nd day. Animals were taken from the experiment on the 14th, 21st and 42nd days, an X-ray examination was carried out, bone tissue samples were taken.

It was established that trauma of bone tissue leads to a number of reactions of the body aimed at restoring the damaged area. Against the background of the general picture of the obtained morphological results, the level of platelets significantly changes compared to the physiological norm, while the number of red blood cells and white blood cells does not go beyond it. There is a slight increase in hemoglobin levels, especially in the experimental groups on the twenty-first and forty-second day. Significant changes in the number of red blood cells, white blood cells, platelets and hemoglobin concentration in the experimental groups were noted compared with the control group at different periods of reparative osteogenesis. The use of various types of platelet concentrates affects the overall reaction of the body.

On radiographs of the radial bones (compact bone tissue) on the twenty-first day in the second and third experimental groups, where fibrin enriched with platelets and its combination with hydroxyapatite materials with β -tricalcium phosphate were used to replace bone defects, the inflammatory reaction was manifested to a lesser extent. There was no significant formation of bone callus compared with the first, in which model defects were filled with injectable platelet-rich fibrin and the control group.

Each of the types of platelet concentrates and their combination with hydroxyapatite ceramics have a different effect on the restoration of bone defects and is accompanied by the appearance of a number of reactions, both local and general. According to the degree of intensity of this process, they can be placed in the following sequence: i-PRF < PRF < PRF+GT.

Macromorphologically and radiologically significant differences were not detected for different types of bone tissue due to the use of each of the substances that concentrates platelets.

The combination of hydroxyapatite granules with β -tricalcium phosphate and platelet-rich fibrin proved to be the best option for repairing the damaged area. Its use provides a significantly smaller manifestation of the local inflammatory reaction and causes the formation of optimal bone marrow.

Key words: PRF, i-PRF, granules, centrifuges, growth factors, bone marrow.



Copyright: © Шевченко С.М. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Шевченко С.М.

ID <https://orcid.org/0000-0002-9155-0619>

Наукове видання

Науковий вісник ветеринарної медицини

Збірник наукових праць

Випуск 1 (154) 2020

Редактор О.О. Грушко

Комп'ютерне верстання: В.С. Мельник

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації

КВ № 15166-3738Р від 14.10.09 р. № 1-05/4

Формат 60x84¹/₈. Ум. др. арк. 19,1. Зам. 7013. Тираж 300.

Підписано до друку 21.05.2020 р.

Видавець і виготовлювач:

Білоцерківський національний аграрний університет,
09117, Біла Церква, Соборна площа, 8/1, тел. 33-11-01,
e-mail: redakciaviddil@ukr.net

Свідоцтво внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру
видавців, виготовників і розповсюджувачів видавничої продукції

№ 3984 ДК від 17.02.2011 р.