

**НАУКОВИЙ ВІСНИК**  
**ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ**

*Збірник наукових праць*

**Випуск 2 (176) 2022**

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

Збірник розглянуто і затверджено до друку рішенням Вченої ради БНАУ  
(Протокол № 11 від 27.12.2022 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*, *DOAJ*.

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

**Члени редакційної колегії:**

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

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

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

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

**Гугоннар М.**, д-р філософії, Національна ветеринарна школа VetAgro Sup, Ліон, Франція

**Духницький В.Б.**, д-р вет. наук, проф., Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

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

**Карповський В.І.**, д-р вет. наук, проф., Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 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

**Коцюмбас І.Я.**, д-р вет. наук, проф., академік НААН, ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, Львів, Україна

**Куб'як К.Й.**, д-р габіл., проф., Вроцлавський природничий університет, Вроцлав, Польща

**Куцан О.Т.**, д-р вет. наук, проф., Інститут ветеринарної медицини НААН, Київ, Україна

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

**Лясота В.П.**, д-р вет. наук, проф., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

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

**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

**Ніщепенко 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 І.О.**, д-р вет. наук, Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

**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

**Селюк Х.Б.**, д-р філософії, проф., Університет Афіон Косатепе, Афіон-Карахисар, Туреччина

**Слівінська Л.Г.**, д-р вет. наук, проф., Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького, Львів, Україна

**Сорока Н.М.**, д-р вет. наук, проф., Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

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

**Стравський Я.С.**, д-р вет. наук, ст. наук. співроб., Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна

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

**Уховський В.В.**, д-р вет. наук, ст. наук. співроб., Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, Київ, Україна

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

**Хіцька О.А.**, канд. вет. наук, доц., Білоцерківський НАУ, Біла Церква, Україна

Коректор англійських текстів – **Марчук В.В.**, канд. пед. наук, доц., 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 – **Tsarenko T.M.**, PhD, Ass. Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

#### **Members of editorial board:**

**Dukhnytskyj V.B.**, D.Sc., Prof., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

**Hugonnard M.** PhD, National Veterinary School VetAgro Sup, Lyon, France

**Pinitsky M.G.**, D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

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

**Karpovskiy V.I.**, D.Sc., Prof., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

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

**Koziy V.I.**, D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

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

**Kotsymbas I.Ya.**, D.Sc., Prof., Academician of NAAS, State Research Control Institute of veterinary medicinal products and feed additives (SCIVP), Lviv, Ukraine

**Kubiak K.**, D.Sc., Prof., Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland

**Kutsan O.T.**, D.Sc., Prof., Institute of Veterinary Medicine The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

**Khitska O.A.**, PhD, Ass. Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

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

**Lyasota V.P.**, D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

**Martino S.**, D.Sc., Prof., National Veterinary School VetAgro Sup, Lyon, France

**Mysak A.R.**, D.Sc., Prof., Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology S.Z. Gzhytskogo, Lviv, Ukraine

**Mojzisova J.**, D. habil., Prof., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Kosice, Slovak Republic

**Niedźwiedz A.**, PhD, Ass. Prof., Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland

**Nizanski W.**, D. habil, Prof., Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland

**Nishchemenko M.P.**, D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

**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 I.O.**, D.Sc., Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

**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

**Slivinska L.G.**, D.Sc., Prof., Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology S.Z. Gzhytskogo, Lviv, Ukraine

**Soroka N.M.**, D.Sc., Prof., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

**Stefanyk V.Yu.**, D.Sc., Prof., Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology S.Z. Gzhytskogo, Lviv, Ukraine

**Stravskiy Ya.S.**, D.Sc., senior researcher, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

**Tomko M.**, PhD, Prof., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Kosice, Slovak Republic

**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  
**Ukhovskiy V.V.**, Dr. Habil., Prof., State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

**Ushkalov V.O.**, D.Sc., Prof., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Proofreader of English texts – **Marchuk V.V.**, PhD, Ass. Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

Адреса редакції: Білоцерківський національний аграрний університет, Соборна площа, 8/1, м. Біла Церква, 09117, Україна, e-mail: redakciaviddil@ukr.net.

## ЗМІСТ

**ВЕТЕРИНАРНА ГІГІЄНА, САНІТАРІЯ ТА ЕКСПЕРТИЗА**

<b>Лясота В.П., Букалова Н.В., Богатко Н.М., Джміль В.І., Мазур Т.Г. Ткачук С.А., Приліпко Т.М.</b> Гігієнічне обґрунтування використання абсорбенту Поліфан-К за вирощування свиней.....	6
---	---

**МІКРОБІОЛОГІЯ, ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ**

<b>Пантелесенко О. В., Царенко Т.М.</b> Оптимізація полімеразної ланцюгової реакції для моніторингу інфікування <i>Borrelia burgdorferi</i> іксодових кліщів.....	20
<b>Чемеровська І.О., Рубленко І.О.</b> Проблема антимікробної резистентності в Україні та світі.....	33

**ПАЗАРИТАРНІ ХВОРОБИ**

<b>Царенко Т.М., Папченко І.В., Антіпов А.А., Мазаний О.В., Корнієнко Л.Є.</b> Діагностика та диференційна діагностика вірусної геморагічної хвороби та еймеріозу кролів.....	42
---	----

**ТЕРАПІЯ ТА КЛІНІЧНА ДІАГНОСТИКА**

<b>Вовкотруб Н.В., Мельник А.Ю., Піддубняк О.В., Харченко А.В., Чуб О.В.</b> Оцінка змін показників функціонального стану печінки та нирок у овець під впливом препарату “Абетка для тварин”.....	55
<b>Сахнюк В.В., Білик Б.П.</b> Метаболізм протеїнів у глибокотільних корів та нетелей.....	66

**ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ**

<b>Горальський Л.П., Сокульський І.М., Глухова Н.Л., Колеснік Н.Л., Оніщук І.П.</b> Особливості гістоструктури легень статевозрілого коня.....	76
<b>Ємельяненко А.А., Шмаюк С.С., Ніщенко М.П., Порошинська О.А., Стовбецька Л.С., Козій В.І.</b> Поведінка корів за різних фізіологічних станів і методів утримання.....	89

**ФАРМАКОЛОГІЯ І ТОКСИКОЛОГІЯ**

<b>Омельчун Ю.А., Кобиш А.І.</b> Сучасні методи визначення залишкових кількостей пестицидів в продуктах бджільництва та за діагностики отруєнь бджіл.....	101
---	-----

**ХІРУРГІЯ ТА АНЕСТЕЗИОЛОГІЯ**

<b>Мельніков В.В., Рубленко М.В., Ільницький М.Г.</b> Цитокінові профілі у здорових тварин і корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок.....	111
---	-----

## CONTENT

### VETERINARY HYGIENE, SANITATION AND EXAMINATION

- Lyasota V., Bogatko N., Bukalova N., Hitska O., Dzmil V., Mazur T., Tkachuk S., Prylipko T.** Hygienic justification of use absorbent Polyphan-K when growing piglets..... 6

### MICROBIOLOGY, EPISOOTOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

- Panteleienko O., Tsarenko T.** Application of polymerase chain reaction method for detection of tick-borne borreliosis pathogens..... 20
- Chemerovska I., Rublenko I.** The problem of antibiotic resistance of microorganisms in Ukraine and the world..... 33

### PARASITARY DISEASES

- Tsarenko T., Papchenko I., Antipov A., Mazanyy O., Korniienko L.** Diagnosis and differential diagnosis of viral hemorrhagic disease and eimeriosis of rabbits..... 42

### THERAPY AND CLINICAL DIAGNOSTICS

- Vovkotrub N., Melnyk A., Pidubnyak O., Kharchenko A., Chub O.** Evaluation of changes in indicators of the liver and kidneys functional state in sheep under the influence of the drug "Alphabet for animals"..... 55
- Bilyk B., Sakhniuk V.** Protein metabolism in deep-bodied cows and heifers..... 66

### PHYSIOLOGY, PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY AND MORPHOLOGY

- Horalskyi L., Hlukhova N., Sokulskyi I., Kolesnik N.** Peculiarities of morphoarchitectonics of the lungs of a sexually mature horse (*Equus Ferus caballus L., 1758*)..... 76
- Emelyanenko A., Shmayun S., Nischemenko M., Poroshinska O., Stovbetska L., Koziy V.** Cows behavior under different physiological states and keeping methods..... 89

### PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

- Omelchun Y., Kobish A.** Modern methods for the determination of pesticide residues in beekeeping products and for the diagnostics of bee poisoning..... 101

### SURGERY AND ANESTHESIOLOGY

- Melnikov V., Rublenko M., Ilnitskyi M.** Cytokine levels in clinically healthy cows, pigs and dogs..... 111

## ВЕТЕРИНАРНА ГІГІЄНА, САНІТАРІЯ ТА ЕКСПЕРТИЗА

УДК 636.2.09:614.48:616.981.55

### Гігієнічне обґрунтування використання абсорбенту Поліфан-К за вирощування свиней


Лясота В.П.<sup>1</sup> , Букалова Н.В.<sup>1</sup> , Богатко Н.М.<sup>1</sup> , Мазур Т.Г.<sup>1</sup> ,

Хіцька О.А.<sup>1</sup> , Джміль В.І.<sup>1</sup> , Ткачук С.А.<sup>2</sup> , Приліпко Т.М.<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> Білоцерківський національний аграрний університет

<sup>2</sup> Національний університет біоресурсів і природокористування України

<sup>3</sup> Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»

 Кореспондентний автор Лясота В.П. (lyasota777@gmail.com; (098-334-63-91)



Лясота В.П., Букалова Н.В., Богатко Н.М., Мазур Т.Г., Хіцька О.А., Джміль В.І., Ткачук С.А., Приліпко Т.М. Гігієнічне обґрунтування використання абсорбенту Поліфан-К за вирощування свиней. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 6–19.

Lyasota V., Bogatko N., Bukalova N., Hitska O., Dzmil V., Mazur T., Tkachuk S., Prylipko T. Hygienic justification of use absorbent Polyphan-K when growing piglets. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 6–19.

Рукопис отримано: 20.09.2022 р.

Прийнято: 03.10.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-6-19

Сучасна галузь ведення свинарства передбачає запровадження інтенсивних технологій виробництва продукції тваринництва, зокрема це значна концентрація поголів'я на обмеженій території, що може створювати певні ризики, насамперед, поширення умовно патогенної та патогенної мікрофлори і, як наслідок – виникнення захворювань сільськогосподарських тварин. Тому, водночас із плановими та вимушеними щепленнями необхідне розроблення високоєфективних засобів дезінфекції для забезпечення стабільного ветеринарного благополуччя тваринництва. Ефективність цих засобів необхідно досліджувати на етапі розроблення та підбору субстанцій, оскільки значна кількість нині запропонованих дезінфекційних засобів є досить токсичними, імунодепресивними і спричиняють опосередкований вплив на організм сільськогосподарських тварин. Як альтернатива є пошук нових, більш безпечних, ефективних абсорбуючих засобів комплексної дії, що залишається актуальною проблемою сучасної ветеринарної медицини.

Одним із таких засобів є абсорбент Поліфан-К, який наразі не має широкого застосування в Україні та не пройшов відповідну реєстрацію.

Метою роботи було обґрунтувати використання дезінфекційного абсорбенту Поліфан-К у технології вирощування свиней великої білої породи різних статевовікових груп.

Уперше встановлено нормалізуючий вплив абсорбенту Поліфан-К на показники мікроклімату в приміщенні для вирощування свиней, їх природну резистентність, інтенсивність приросту маси тіла та розвитку поросят-сисунів (помірна активація еритропоезу і метаболічних процесів у тканинах, що позитивно впливає на збереженість та інтенсивність росту тварин) за визначеної оптимальної дози використання – 50 г/м<sup>2</sup> площі, 1 раз на добу впродовж 7-ми діб постнатального періоду. Застосування абсорбенту Поліфан-К у дозах від 20 до 100 г/м<sup>2</sup> не зумовлює будь-яких побічних явищ, натомість збереженість свиней підвищується до 95–98 %, а приріст маси тіла збільшується на 18,8 %.

Позитивний вплив абсорбенту Поліфан-К в умовах виробництва на природну резистентність поросят дає підставу рекомендувати його застосування під час вирощування свиней.

**Ключові слова:** свині, поросята, гігієнічне обґрунтування, умови утримання, дезінфекційний засіб, природна резистентність, метаболічні процеси, збереженість, інтенсивність росту.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Однією із основних галузей сільськогосподарського виробництва, що забезпечує населення цінними високоякісними продуктами харчування, є свинарство. За статистичними даними, у світі виробляють понад 220 млн т м'яса, з них частка свинини становить близько 41,0 % [1].

В Україні свинарство є однією із провідних традиційних галузей тваринництва, оскільки вирощування свиней давало прибуток, було рентабельним та забезпечувало потреби людей, незалежно від політичної ситуації в країні.

Аналіз стану виробництва продукції свинарства вирізняє три актуальні проблеми науково-технічного прогресу в цій галузі, а саме – підвищення генетичного потенціалу продуктивності свиней і збереження приплоду; забезпечення оптимальних умов годівлі та утримання відповідно до фізіологічних потреб їх організму; розроблення сучасних технологій у племінному й товарному свинарстві для забезпечення здоров'я і максимальної продуктивності тварин [16].

Промислова технологія свинарства потребує відповідних параметрів мікроклімату та інших чинників, що визначаються інженерними і будівельними проєктами приміщень для утримання свиней, а оптимальні параметри мікроклімату в свинарниках суттєво впливають на стан їх здоров'я та продуктивність. Тому, однією із важливих умов рентабельного розвитку свинарства є створення для свиней усіх статево-вікових груп оптимальних параметрів мікроклімату та технологічних умов утримання, забезпечення надійного ветеринарно-санітарного й екологічного захисту свиноферми і прилеглої території від забруднення, а також наявність висококваліфікованих фахівців у цій галузі [4, 9].

Досвід передових європейських країн свідчить, що кожен дезінфекційний засіб повинен мати певну цільову сферу призначення. Зокрема у Німеччині, що має передові позиції у виробництві й впровадженні дезінфекційних засобів, використовують близько 500 найменувань дезінфектантів [3, 6].

З метою знезараження тваринницьких приміщень, шкіри тварин та інших об'єктів виробництва, найчастіше застосовують хімічні дезінфекційні засоби у вигляді розчину, емульсії і суспензії різної концентрації, аерозолу, газу та порошку [5]. Значного поширення набуло використання на фермах розчину гіпохлориту натрію, мийних порошоків «А», «Б», «В», а також комбінованого засобу «Дезмол» тощо, які були ретельно досліджені на придатність для вико-

ристання у тваринництві, після цього їх почали виробляти в промислових масштабах [13, 14].

Водночас, із хімічних санітарних засобів для використання у свинарстві можуть бути допущені лише ті, що не мають стійкого запаху, добре або повністю розчиняються і змиваються водою, не пошкоджують устаткування (метал, гуму, скло), не мають подразнювальних та сенсibilізувальних властивостей за контакту зі шкірою тварини, руками оператора, а за токсикологічною характеристикою є нетоксичними і безпечними, зокрема для довілля.

Крім того, дезінфекційні засоби повинні мати широкий спектр бактерицидної дії щодо мікрофлори технологічного устаткування, в процесі санітарного оброблення знижувати рівень бактеріального обміненія не менше ніж на 98 %, бути стабільними до органічного навантаження під час зберігання, добре розчинятися у воді, не мати канцерогенних, тератогенних та імунодепресивних властивостей, бути стійкими, вибухобезпечними, економічними та зручними у використанні [15, 17].

Дезінфекційні засоби нового покоління мають одночасно забезпечувати високі санітарно-гігієнічні показники шкіри тварини, мікробіологічну чистоту технологічного устаткування, що дозволить одержувати безпечну та якісну продукцію у галузі свинарства [12, 16, 18].

Якісна дезінфекція залежить також від тривалості впливу препарату на об'єкт, оскільки миттєвого знезараження не існує. Стійкість різних мікроорганізмів до дезінфектантів неоднакова, адже спочатку гинуть менш стійкі мікроорганізми, а потім – більш стійкі [4, 20]. Процес швидкості знезараження залежить від характеристики об'єкта, структури його поверхні, ступеня забруднення. Найчастіше експозиція становить від 15 хв до 2-х год, а за аерозольної і газової дезінфекції – 6–24 год [23].

Ефективність дезінфекції залежить також від біологічних особливостей мікроорганізмів, зокрема, їх будови, проникності оболонки та розчинності у ній бактерицидної речовини. Фосфоліпіди на поверхні мікробної клітини сприяють її стійкості до бактерициду. Серед них найвагомішою є речовина кефалін, що гальмує дію різних дезінфекційних препаратів [24]. Крім того, мікроорганізми, які піддаються впливу одного й того ж дезінфектанту, виживають і здатні утворювати стійкі мутантні популяції клітин різних варіантів, значно стійкіших від батьківських штамів [25].

Останнім часом зростає інтерес до порошокоподібних дезінфекційних засобів. Упродовж п'ятиденної щоденної обробки свинарника-маточника порошокоподібною де-

зінфекційною сумішшю в кількості 20,0 мг/м<sup>3</sup> площі, мікробна забрудненість зменшується із 216,0 до 43,0 тис. КУО/м<sup>3</sup>, а концентрація аміаку знижується із 14,0 до 3,0 мг/м<sup>3</sup> [26].

Вирощування свиней є однією із первинних ланок подальшого «життєвого» циклу харчової продукції і від того як налагоджена технологія їх вирощування на фермі, залежить безпечність та якість м'яса [22, 28].

У свиней, яких утримують в умовах промислового виробництва, часто виникають хвороби, зумовлені сапронозними мікроорганізмами, пов'язаними з мікрофлорою природного середовища їх існування, які, в результаті зміни умов довкілля, набувають здатності спричинювати захворювання. Нині доведено, що наявний тісний зв'язок між станом здоров'я тварин, їх продуктивністю та якістю і безпечністю одержаної від них продукції. Щорічний збиток, що зазнає тваринництво через хвороби, зниження показників безпечності свинини та загибель тварин досягає 15–20 % від загальної вартості одержаної продукції [19]. Створення належних умов утримання свинопоголів'я, відповідно до відомчих норм технологічного проектування, сприятиме підвищенню природної резистентності, збереженості тварин, активізації метаболічних процесів у їх організмі, поліпшенню продуктивних якостей свинини та забезпеченню її безпечності, сприятиме позитивному впливу на довкілля.

Перспективним напрямом у ветеринарній медицині є створення нових та вдосконалення наявних дезінфекційних засобів. Метою створення таких препаратів є розширення спектру протимікробної активності та здатності запобігати виникненню резистентних мікроорганізмів. Крім того, ці дезінфектанти повинні мати також противірусну і фунгіцидну дію, бути екологічно безпечними. Одним із таких засобів є застосування комплексних дезінфекційних засобів (абсорбентів), зокрема у порошкоподібній формі.

**Метою роботи** було обґрунтувати використання дезінфекційного абсорбенту Поліфан-К у технології вирощування свиней великої білої породи різних статевовікових груп.

**Матеріал та методи дослідження.** Методи дослідження – зоотехнічні, зоогігієнічні, клініко-фізіологічні, морфологічні, під час обробки первинного матеріалу – варіаційно-статистичні.

Науково-дослідну роботу виконано впродовж 2021 р. на кафедрах ветеринарно-санітарної експертизи, гігієни продукції тваринництва та патанатомії імені Й. С. Загаєвського, ветеринарно-санітарної експертизи і лабораторної діагностики ППНКСВМ Білоцерківського на-

ціонального аграрного університету та Агрофірми «Розволожжя» Білоцерківського району Київської області.

Науково-дослідну роботу проводили згідно з Державною ініціативною тематикою: «Розробка експресних та оптимізованих методик контролювання безпечності та якості харчових продуктів» (Державний реєстраційний номер 0121U114170, дата реєстрації від 04.12.2021 р.).

В експерименті використано свиней великої білої породи різних статевовікових груп у кількості 150 голів. Як дезінфекційний засіб (абсорбент) застосовували Поліфан-К виробництва ТОВ «Вітфос-УА» (Данія), який наявний на ринку. Це дрібнокристалічний порошок світло-сірого кольору, призначений для проведення дезінфекції, дезінвазії, корекції мікроклімату в приміщеннях для сільськогосподарських тварин і птиці.

Поліфан-К містить бактерицидний полімер полігексаметиленгуанідин (50 %), неорганічні кислоти (10 %), йод кристалічний (2 %). Препарат змішують з цеолітовим борошном у співвідношенні 50 кг полімеру та 950 кг цеолітового борошна. Отриману суміш рівномірно розсипають у приміщенні свинарника, зокрема, на підлогу, із розрахунку 25–100 г/м<sup>2</sup>.

Під час проведення науково-дослідної роботи дезінфектант Поліфан-К застосовували в приміщеннях для утримання свиней через розпилювання за допомогою пушки-розпилювача у присутності тварин. Названий вище дезінфекційний засіб був використаний для доклінічних досліджень: показники мікроклімату приміщень, збереженість, клініко-фізіологічний стан, інтенсивність росту та морфологічні показники периферичної крові тварин.

На першому етапі проведення дослідів визначали мікроклімат у приміщеннях для вирощування свиней з метою з'ясування умов їх утримання; на другому – досліджували дію Поліфан-К на морфологічні показники периферичної крові організму свиней; третьому – проводили аналіз динаміки збереження і росту дослідних свиней після використання Поліфан-К в умовах виробництва.

Один раз на тиждень визначали зоотехнічні показники (збереженість та приріст маси тіла свиней), параметри мікроклімату приміщення – умови утримання тварин, матеріал приміщення, температуру (ртутним термометром, у градусах Цельсія), відносну вологість повітря (ВВП), у % (статистичним психрометром Августа), швидкість руху повітря, у м/с (кульовим кататермометром), концентрацію шкідливих газів: вуглекислого, у %; аміаку, сірководню, у мг/м<sup>3</sup> (газоаналізатором

УГ–2), освітленість штучну (Ват/м<sup>2</sup>), у люксах (люксметром Ю-116) на початок, 10-у; 20-у; 30-у; 45- та 60-у добу досліджень (n=5). Контролем слугувало приміщення, у якому не застосовували дезінфекційний засіб Поліфан К, де утримували тварин аналогічних статевовікових груп [7, 8, 10].

Досліджували клініко-фізіологічні показники: загальний клінічний стан свиней відповідно до методів дослідження природної резистентності тварин [11, 14].

*Морфологічні показники:* уміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, лейкоцитів, лімфоцитів – за [14].

Економічну ефективність застосування комплексу дезінфекційних засобів визначали за реалізаційними цінами отриманої додаткової маси тіла тварин [29].

*Методи статистичної обробки експериментального матеріалу.*

Результати досліджень опрацьовані на персональному комп'ютері з використанням пакету програм Microsoft Exel for Windows 2010; отримані дані оброблені статистично за допомогою методу Фішера-Ст'юдента з урахуванням середньоарифметичних величин і їх статистичних помилок, а також визначенням вірогідної різниці показників, які порівнювалися. Для кожного досліджуваного показника визначали середнє арифметичне (M) і стандартну похибку середнього арифметичного (m). Вірогідними вважали відмінності з рівнем значимості більше 95 % (p < 0,05), керуючись матеріалами <https://www.statskingdom.com//> та [7].

Першим етапом визначення дії абсорбенту на життєздатність тварин було встановлення оптимальної дози для корекції мікроклімату в приміщенні для утримання свиней різних статевовікових груп.

Об'єктом дослідження були свині великої білої породи різних статевовікових груп. Для проведення досліду за принципом аналогів було створено три дослідних групи, яких утри-

мували в одному приміщенні у окремих клітках та одну контрольну групу, яку розмістили в іншому приміщенні (табл. 1). Згідно зі схемою досліду, свиням дослідних груп абсорбент застосовували одноразово на добу в дозах 20, 50 та 100 г/м<sup>2</sup>, контрольної групи – без абсорбенту. За тваринами проводили постійний моніторинг.

Згідно з технологією утримання, відлучення поросят проводили на 30-ту добу від народження і переводили їх у цех дорощування. Тварини були клінічно здоровими.

Тривалість досліду становила 60 діб. Умови годівлі та утримання свиней усіх груп були ідентичними.

### **Результати дослідження. Санітарно-гігієнічні умови утримання свиней.**

Організація утримання свиней значною мірою визначає продуктивні показники виробництва загалом. Усі відділення підприємства обладнано технологічним устаткуванням фірми «Agrikon» згідно із сучасними вимогами.

Розмір приміщень для вирощування свиней: довжина – 70 м, ширина – 9 м, висота – 2,6 м. Свиней різних статевовікових груп утримують окремо. У господарстві виділяють наступні групи свиней: свиноматки (холості та поросні), підсисні свиноматки з поросятами, відлучений молодняк на дорощуванні, молодняк старше 4-місячного віку, відгодівельний молодняк, кнури-плідники. Кнури та свинок утримують окремо з моменту їх відлучення.

Залежно від типу свинарських ферм, віку, фізіологічного стану, а також виробничої групи тварин та інших умов, застосовують різні способи утримання свиней – вигульне й безвигульне, індивідуальне та групове. В агрофірмі «Розволожжя» утримання свиней безвигульне, індивідуально утримують кнурів-плідників і свиноматок із поросятами, інших свиней – групами. Кількість тварин у технологічних групах становить: холості свиноматки – до 20 голів, поросята після відлучення і ремонтний молодняк – по 25–30, свині на відгодівлі – до 50 голів.

Таблиця 1 – Схема досліду з визначення дози абсорбенту Поліфан-К у приміщенні для свиней різних статевовікових груп (г/м<sup>2</sup> площі)

Група	Кількість тварин, n	Застосовувана доза, г	Кратність уведення (на добу впродовж 7-ми діб)
1 дослідна	25	20,0	1
2 дослідна	25	50,0	1
3 дослідна	25	100,0	1
Контрольна	25	–	–

Холостих та умовно поросних свиноматок утримують у вузьких індивідуальних станках до підтвердження поросності (за допомогою портативного УЗД-сканера), після чого їх переводять до відділення поросних свиноматок, де утримують на глибокій підстилці до 110 доби поросності. Доступ до напувалок вільний, годівниці автоматизовані. Під час поїдання корму свиноматка фіксується у станку, а із чіпу, що знаходиться у вусі, сканером зчитується її індивідуальний номер. Уся інформація зберігається в електронному варіанті й використовується для контролю стану тварини.

Бокси для опоросу підсисних свиноматок сконструйовано у такий спосіб, щоб їх можна було легко розсунути, відповідно до їх розміру. Свиноматки можуть легко перевертатися в клітці з боку на бік, не травмуючи поросят. Цим простим технічним рішенням досягають мінімального відсотка смертності поросят у підсисний період. Крім того, обладнано так званій «куточок мікроклімату» зі спеціальною лампою (брудером) для зігрівання поросят упродовж перших чотирьох–п’яти діб після народження.

Відлучають поросят через 21–28 діб, залежно від їх індивідуальної маси. До цього терміну кожне поросля має набрати як мінімум 6–8 кг. Маса свиней групи дорощування становить 25–30 кг. Поросят розміщують у клітках

по 15–20 голів. Годують за допомогою бункерних годівниць – по одній на дві клітки, соскові напувалки вмонтовано безпосередньо в годівниці. Це найпростіше технологічне рішення, що позбавляє тварин потреби постійно переміщатися від годівниці до напувалки в процесі поїдання корму.

Ремонтний молодняк старше 4-місячного віку утримують у клітках по 16 голів у кожній. Використовують бункерні самогодівниці та соскові напувалки з вільним доступом до них. Молодняк на відгодівлі утримують аналогічно, враховуючи лише збільшення потреби в площі на 1 голову та відповідні параметри мікроклімату.

**Гігієнічне оцінювання умов утримання тварин.** Для оцінювання ефективності роботи господарства враховували зоогігієнічні параметри мікроклімату, дотримання ветеринарно-санітарних норм, проведення профілактичних заходів. Регуляція мікроклімату в приміщеннях здійснюється в автоматичному режимі за допомогою блока управління *Master*, що контролює й тривалість роздавання корму. Таке програмне забезпечення дозволяє точно фіксувати всі зміни мікроклімату впродовж доби в приміщенні й дає змогу створити оптимальні умови утримання свиней. Показники параметрів мікроклімату наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Показники параметрів мікроклімату в приміщеннях для свиней ( $M \pm m$ ,  $n=5$ , у середньому)

Показник	Приміщення для:					
	холостих і поросних свиноматок, кнурів		лактуючих свиноматок та поросят до 4-місячного віку		відгодівлі свиней	
	Вимоги ВНТП	Фактично	Вимоги ВНТП	Фактично	Вимоги ВНТП	Фактично
Температура, °C	16	17,0±1,81	20	21,0±1,77	12–16	15,0±1,59
Відносна вологість, %	70	83,0±1,37	70	75,0±1,48	70	80,0±1,78
Концентрація CO <sub>2</sub> , %	0,25	0,23±0,03	0,25	0,22±0,04	0,25	0,23±0,02
Концентрація аміаку, мг/м <sup>3</sup>	20	24,0±1,85	10	23,0±1,47	20	25,0±1,68
Концентрація сірководню, мг/м <sup>3</sup>	10	–	5	–	10	–
Швидкість руху повітря, м/с	0,3–1,0	0,5±0,02	0,2–0,6	0,6±0,03	0,3–1,0	0,7±0,05
Освітленість, люкс	50–100	60,0±3,85	50–100	60,0±3,25	20–50	35,0±2,75

Згідно з даними таблиці 2, у приміщеннях для утримування свиней не за всіма показниками мікроклімату забезпечуються оптимальні параметри, є незначні відхилення у значеннях відносної вологості повітря (ВВП), концентрації аміаку. Показник ВВП був перевищений на 13,0 % (приміщення для холостих і поросних свиноматок, кнурів) та на 5,0 % (приміщення для лактуючих свиноматок, поросят до 4-місячного віку та для відгодівлі свиней), порівняно із нормованими санітарно-гігієнічними вимогами, а показник концентрації аміаку – на 16,7 % (приміщення для холостих і поросних свиноматок, кнурів), 56,5 % (приміщення для лактуючих свиноматок та поросят до 4-місячного віку), 20,0 % (приміщення для відгодівлі свиней), що пов'язано із самопливним способом видалення гною.

Застосування біологічно активних речовин і абсорбентів, зокрема, за сучасних умов ведення свинарства, є перспективним способом отримання якісної тваринницької продукції відповідно до генетичних можливостей організму свиней. Їх використання має важливе економічне і соціальне значення. Тому, визначення впливу сучасних біологічно активних сполук із абсорбуючими властивостями на показники мікроклімату, природну резистентність, збереженість, інтенсивність росту, метаболізм свиней було основним завданням цієї науково-дослідної роботи.

**Корекція мікроклімату у приміщенні для утримання свиней після застосування абсорбенту Поліфан-К та стан неспеци-**

**фічної резистентності організму дослідних тварин.** Показники параметрів мікроклімату в приміщеннях для лактуючих свиноматок, поросят до 4-місячного віку та свиней на відгодівлі за застосування абсорбенту Поліфан-К у дозі 20 г/м<sup>2</sup> площі представлено в таблиці 3.

За даними таблиці 3 можна констатувати, що застосування абсорбенту у дозі 20 г/м<sup>2</sup> площі підтримує оптимальні параметри мікроклімату у свинарниках. Відхилень від санітарно-гігієнічних вимог у показниках ВВП та концентрації аміаку у приміщеннях для утримання лактуючих свиноматок і свиней на відгодівлі не встановлено.

Показники досліджуваних параметрів мікроклімату в приміщеннях для лактуючих свиноматок, поросят до 4-місячного віку та свиней на відгодівлі за застосування абсорбенту Поліфан-К у дозі 50 г/м<sup>2</sup> площі наведено в таблиці 4.

За даними таблиці 4, застосування абсорбенту у дозі 50 г/м<sup>2</sup> площі підтримує оптимальні параметри мікроклімату у свинарниках. Зокрема, рівень відносної вологості повітря в приміщеннях для утримання лактуючих свиноматок знизився на 13,3 % (P<0,05), для свиней на відгодівлі – на 12,0 % (P>0,05), а концентрації аміаку – із 10 до 8,0±2,68 мг/м<sup>3</sup> (P<0,05) та із 21,0 до 17,0±1,02 мг/м<sup>3</sup> (P<0,05), відповідно.

Показники параметрів мікроклімату в приміщеннях для лактуючих свиноматок, поросят до 4-місячного віку та свиней на відгодівлі за застосування абсорбенту Поліфан-К у дозі 100 г/м<sup>2</sup> площі представлено в таблиці 5.

Таблиця 3 – Показники параметрів мікроклімату в приміщеннях (доза абсорбенту Поліфан-К – 20 г/м<sup>2</sup> площі),  $M \pm m$ ,  $n = 25$

Показник	Приміщення для:					
	лакуючих свиноматок та поросят до 4-місячного віку			свиней на відгодівлі		
	Вимоги ВНТП	Контроль	Дослід	Вимоги ВНТП	Контроль	Дослід
Температура, °C	20	20,0±1,63	20,0±1,92	12–16	18,0±1,79	19,0±2,09
Відносна вологість, %	70	71,5,0±2,17	68,0±3,12	70	71,0±2,15	68,0±3,67
Концентрація CO <sub>2</sub> , %	0,25	0,25±0,03	0,24±0,01	0,25	0,25±0,07	0,24±0,04
Концентрація аміаку, мг/м <sup>3</sup>	10	9,8±0,72	9,5±0,97	20	19,5±2,31	19,0±2,31
Концентрація сірководню, мг/м <sup>3</sup>	5	–	–	10	–	–
Швидкість руху повітря, м/с	0,2–0,6	0,6±0,05	0,5±0,02	0,3–1,0	0,6±0,03	0,6±0,05

Примітка. Відмінності статистично не значущі.

Таблиця 4 – Показники параметрів мікроклімату в приміщеннях (доза абсорбент Поліфан-К – 50 г/м<sup>2</sup> площі),  $M \pm m$ ,  $n = 25$ 

Показник	Приміщення для:					
	лактуючих свиноматок та поросят до 4-місячного віку			свиней на відгодівлі		
	Вимоги ВНТП	Контроль	Дослід	Вимоги ВНТП	Контроль	Дослід
Температура, °С	20	20,2±1,37	20,4±1,58	12–16	16,7±1,21	17,5±1,87
Відносна вологість, %	70	75,0±2,14	65,0±2,83*	70	75,0±2,12	66,0±2,47*
Концентрація CO <sub>2</sub> , %	0,25	0,25±0,04	0,24±0,03	0,25	0,24±0,02	0,24±0,06
Концентрація аміаку, мг/м <sup>3</sup>	10	10,0±2,08	8,0±2,68*	20	21,0±1,12	17,0±1,02*
Концентрація сірководню, мг/м <sup>3</sup>	5	–	–	10	–	–
Швидкість руху повітря, м/с	0,2–0,6	–	0,6±0,04	0,3–1,0	–	0,5±0,07

Примітка. \*  $P < 0,05$  (до контролю).

Таблиця 5 – Показники параметрів мікроклімату в приміщенні (доза абсорбенту Поліфан-К – 100 г/м<sup>2</sup> площі),  $M \pm m$ ,  $n = 25$ 

Показники	Приміщення для:					
	лактуючих свиноматок та поросят до 4-місячного віку			свиней на відгодівлі		
	Вимоги ВНТП	Контроль	Дослід	Вимоги ВНТП	Контроль	Дослід
Температура, °С	20	20,0±1,37	21,0±1,85	12–16	17,0±1,18	18,0±1,91
Відносна вологість, %	70	74,0±1,49	68,0±2,49	70	73,0±1,87	67,0±1,97
Концентрація CO <sub>2</sub> , %	0,25	0,24±0,05	0,24±0,02	0,25	0,24±0,03	0,24±0,07
Концентрація аміаку, мг/м <sup>3</sup>	10	9,5±1,98	8,5±1,16*	20	21,0±1,39	18,0±1,85*
Концентрація сірководню, мг/м <sup>3</sup>	5	–	–	10	–	–
Швидкість руху повітря, м/с	0,2–0,6	0,5±0,07	0,5±0,04	0,3–1,0	0,3±0,03	0,3±0,06

Примітка. \*  $p < 0,05$  (до контролю).

Дані таблиці 5 свідчать, що застосування абсорбенту у дозі 100 г/м<sup>2</sup> площі підтримує оптимальні параметри мікроклімату у свинарниках. Зокрема, відносна вологість повітря в приміщенні за утримання лактуючих свиноматок знизилася на 8,1 % ( $P > 0,1$ ), а за утримання свиней на відгодівлі – на 8,2 % ( $P > 0,1$ ); концентрація аміаку – із 10 до 8,5±1,16 мг/м<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ) та із 21 мг/м<sup>3</sup> до 18,0±1,85 мг/м<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ), відповідно.

Отже, у результаті експериментальних досліджень встановлено, що застосування абсорбенту Поліфан-К у дозі від 20 до 100 г/м<sup>2</sup> площі приміщення сприяє підтримці оптимальних параметрів мікроклімату у свинарниках. Відхилення від санітарно-гігієнічних вимог у показниках повітря за утримання лактуючих свиноматок відсутні.

Найоптимальніша доза абсорбенту – 50 г/м<sup>2</sup> площі приміщення для свиней, термін застосування – 7 діб.

**Стан неспецифічної резистентності організму свиней після застосування абсорбенту Поліфан-К у дозі 50 г/м<sup>2</sup> площі приміщення.** Доведено, що інтенсивність росту підсисних поросят за застосування абсорбенту Поліфан-К у дозі 50 г/м<sup>2</sup> площі приміщення збільшується з віком (табл. 6).

За даними таблиці 6, найвищий показник середньодобового приросту маси тіла підсисних поросят відмічали на 60-ту добу випробувань – 214,0±8,27 г, що на 18,8 % більше (дослід 4), ніж за вирощування поросят-сисунів без застосування абсорбенту (контрольна група).

**Морфологічні показники периферичної крові свиней за застосування у приміщенні абсорбенту Поліфан-К.** Визначення впливу препарату на низку морфологічних показників має як теоретичне, так і практичне значення. Дослідження проводили на тваринах від народження до 2-місячного віку.

Результати морфологічних досліджень периферичної крові піддослідних свиней за застосування у приміщенні абсорбенту Поліфан-К наведено в таблиці 7.

За даними таблиці 7, тваринам у перші дні життя була властива постнатальна функціональна незрілість, про що свідчить низький уміст гемоглобіну та зменшення кількості еритроцитів (еритроцитопенія). Поступова нормалізація цих показників розпочиналася через місяць після народження (поросята контроль-

ної групи) і тривала до 60-ї доби спостережень. У дослідній групі свиней, яких вирощували із застосуванням абсорбенту, вміст гемоглобіну та кількість еритроцитів у периферичній крові підвищувалися до статистично вірогідних змін за 30 діб. Поступове їх підвищення, як і збільшення кількості лейкоцитів, спостерігалося до 60-ї доби спостережень. Відмічали активуючий вплив абсорбенту на кількість нейтрофілів, особливо їх сегментоядерних форм і, починаючи із 30-ї доби спостережень (p<0,05) і до кінця досліду, цей показник не змінювався. Крім того, збільшувалося, порівняно із аналогічними показниками у свиней контрольної групи, продукування моноцитів від 14-ї доби до закінчення досліду (p<0,05).

**Економічна ефективність за використання абсорбенту Поліфан-К** у процесі вирощування свиней в умовах промислової технології складається із підвищення їх продуктивних якостей (збереженості, середньодобових приростів маси тварин), зниження затрат на лікування, зменшення витрат корму на отримання одиниці приросту маси тіла, скорочення технологічного процесу вирощування завдяки більш швидкому отриманню запланованої маси тварин [7, 29].

Економічна ефективність за застосування абсорбенту Поліфан-К у приміщенні для утримання поросят-сисунів становила 82,6 грн додаткового прибутку в перерахунку на вартість одержаної продукції. Витрати корму на 1 кг приросту поросят зменшилися, в середньому, на 0,5 кормових одиниць, що сприяло зниженню собівартості отриманого м'яса свиней.

Таблиця 6 – Збереженість та інтенсивність росту підсисних поросят залежно від віку (діб) при застосуванні абсорбенту Поліфан-К ( $M \pm m$ , n=25, у середньому)

Показник	Контрольна група (15; 30; 45; 60-та)	Дослідна група (15-та)	Дослідна група (30-та)	Дослідна група (45-та)	Дослідна група (60-та)
Кількість голів на:					
початок досліду	12	12	12	12	12
кінець досліду	10	11	11	11	12
Збереженість, %	83,3	91,60	100,0	91,6	100,0
Середня маса тіла однієї тварини (кг) на:					
початок досліду	1,4±0,82	1,4±0,71	1,3±0,28	1,3±0,84	1,3±0,69
кінець досліду	12,2±0,89	12,7±0,94	12,8±0,85	13,1±0,87	14,1±1,91
Приріст маси тіла за 60 діб, кг	10,8	11,3	11,5	11,8	12,8
Середньодобовий приріст живої маси за період досліду, г	180,0±8,11	188,0±9,29	192,0±8,98	198,0±7,38	214,0±8,27

**Примітка.** Відмінності статистично значущі.

Таблиця 7 – Морфологічні показники периферичної крові поросят за застосування у приміщенні абсорбенту Поліфан-К (діб),  $M \pm m$ ,  $n = 10$ 

Показник	Од. вим.	До введення	14	30	60
Гемоглобін	г/л	$89,5 \pm 1,17$ $89,2 \pm 1,32$	$89,0 \pm 1,72$ $98,0 \pm 2,48$	$92,0 \pm 2,87$ $112,0 \pm 2,74^*$	$98,0 \pm 2,35$ $114,0 \pm 2,57^*$
Еритроцити	Т/л	$4,4 \pm 0,87$ $4,4 \pm 0,52$	$4,60 \pm 0,74$ $5,0 \pm 0,28$	$5,0 \pm 0,61$ $6,0 \pm 0,32^*$	$6,0 \pm 0,13$ $7,0 \pm 0,67^*$
		$7,40 \pm 0,51$ $7,0 \pm 0,65$	$9,0 \pm 0,76$ $10,0 \pm 0,67$	$10,2 \pm 0,87$ $11,0 \pm 0,39$	$14,0 \pm 0,87$ $15,0 \pm 0,48^*$
Лейкоцити	Г/л	$11,0 \pm 1,0$ $11,0 \pm 0,97$	$13,0 \pm 1,31$ $15,0 \pm 1,28^*$	$13,0 \pm 1,34$ $15,0 \pm 1,12^*$	$13,0 \pm 1,84$ $14,0 \pm 0,62$
Нейтрофіли: - паличкоядерні	%	$3,0 \pm 0,02$ $3,0 \pm 0,03$	$3,0 \pm 0,02$ $4,0 \pm 0,04$	$3,5 \pm 0,04$ $4,2 \pm 0,06$	$3,7 \pm 0,05$ $4,4 \pm 0,07$
- сегментоядерні	%	$40,5 \pm 1,24$ $40,8 \pm 0,76$	$42,0 \pm 1,71$ $42,1 \pm 1,65$	$43,40 \pm 1,95$ $44,80 \pm 1,48$	$43,20 \pm 1,74$ $46,60 \pm 1,15$
Лімфоцити	%	$54,5 \pm 1,68$ $54,8 \pm 1,14$	$62,6 \pm 1,27$ $62,6 \pm 1,20$	$64,6 \pm 1,35$ $67,7 \pm 1,14$	$64,2 \pm 1,42$ $68,9 \pm 1,08$
Моноцити	%	$2,4 \pm 0,06$ $2,4 \pm 0,07$	$2,4 \pm 0,06$ $2,8 \pm 0,04$	$2,4 \pm 0,08$ $2,9 \pm 0,04$	$2,6 \pm 0,04$ $2,9 \pm 0,07$

**Примітка.** Чисельник – контроль; знаменник – дослід. Відмінності статистично значущі.

Упровадження рекомендацій щодо застосування абсорбенту Поліфан-К у процесі вирощування свиней за умов промислової технології економічно обґрунтовано, є суттєвим резервом у збільшенні виробництва продукції свинарства з одночасним зниженням її собівартості.

**Обговорення.** Ветеринарна практика та наукові спостереження свідчать про те, що наразі в кормовому виробництві й громадському свинарстві залишаються невирішеними питання, пов'язані з адаптаційною здатністю тварин до стрес-чинників через порушення обміну речовин та імунодефіцитного стану. Аграрна промисловість зможе забезпечити населення свининою лише за досить різкого підвищення ефективності виробництва. Зокрема, істотне значення має як використання біологічно активних речовин природного походження, так і сучасних дезінфекційних засобів [28].

Профілактика захворювань передбачає, насамперед, збереження тварин, особливо поросят. На вирішення цього завдання мають бути спрямовані основні заходи, а саме, зниження дії на організм свиней стрес-чинників доквілля; оцінювання їх фізіологічного стану, що дає можливість зменшити дію стресу, підвищити

здатність тварин протистояти їх впливу. Вирішення цієї проблеми можливе лише за нормально функціонуючої імунної системи свиней.

Нині основними способами підтримання високої активності імунної системи є оптимальні умови утримання, повноцінна і збалансована годівля, зниження впливу затяжного стресу, профілактика інфекційних хвороб тощо. Оскільки ці чинники не завжди враховують, важливим завданням є підтримання належного імунобіологічного статусу організму тварин [26].

Установлено нормалізуючий вплив абсорбенту Поліфан-К на природну резистентність, приріст маси тіла свиней, помірну активацію еритропоезу та метаболічних процесів, визначено оптимальну дозу використання абсорбенту – 50,0 г/м<sup>2</sup> площі приміщення (одноразово на добу впродовж 7 діб) для активації природної резистентності, метаболічних процесів у тканинах, що позитивно впливає на збереженість, продуктивні якості, приріст маси тіла поросят-сисунів.

Експериментально доведено, що застосування Поліфан-К у запропонованій дозі сприяє поліпшенню гематологічних показників

(підвищенню вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів, клітин мієлоїдного ряду та моноцитів), стану природної резистентності організму свиней, підвищенню збереженості до 95–98 %, збільшенню приросту маси тіла, в середньому на 13,8 % (додатковий приріст маси за період досліду – 1,5 кг). Це дає підставу рекомендувати застосування препарату свиням у господарствах усіх форм власності.

Дія абсорбенту пов'язана, ймовірно, з неспецифічною стимуляцією загальної резистентності організму та обміну речовин, а саме – процесу імуногенезу щодо *T*-лімфоцитів і їх субпопуляцій та, певною мірою, *B*-клітин і чинників неспецифічного захисту організму, що вказує на прискорення імунологічного дозрівання молодяку свиней [12, 22].

Активация метаболізму сприяла збільшенню кількості м'язової тканини у свиней, що забезпечило додатковий приріст маси тіла. За застосування препарату знижувалися захворюваність і загибель поросят. Найбільше збільшення маси тіла свиней спостерігали на 60-ту добу дослідження, порівняно із контролем.

Широке застосування якісних дезінфекційних засобів у тваринництві та свинарстві зокрема, дозволить попередити розвиток імунодефіцитного стану тварин та, загалом, їх постнатальну функціональну незрілість, підвищити збереженість та поліпшити їх продуктивні якості [13, 21, 24, 27].

Отже, застосування абсорбентів за сучасних умов ведення свинарства є перспективним напрямом і дозволить підвищити ефективність профілактичних та лікувальних заходів, знизити збитки від захворюваності свиней, забезпечити стійке ветеринарне благополуччя, підвищити якість отриманої продукції.

**Висновки.** Вперше в умовах агрофірми «Розволожжя» Білоцерківського району Київської області проведено доклінічне визначення та виробниче випробування впливу сухого дезінфектанту (абсорбенту) Поліфан-К на неспецифічну резистентність організму свиней. Установлено нормалізуючий вплив на еритроцитопоез організму свиней та санітарно-гігієнічні показники (мікроклімат) виробничих приміщень. З метою превентивної терапії в галузі свинарства, Поліфан-К може бути рекомендований для широкого застосування у господарствах різної форми власності.

1. Відхилення від нормативних показників мікроклімату в приміщеннях для утримання свиней супроводжується ослабленням неспецифічної резистентності та захисних сил, зниженням метаболізму в організмі свиней, а випробовуваний абсорбент Поліфан-К сприяє

нормалізації показників відносної вологості повітря та концентрації аміаку відповідно до регламентованих вимог.

2. Застосування абсорбенту Поліфан-К у дозах 20–100 г/м<sup>3</sup> не зумовлювало побічних явищ у свиней – підвищення температури тіла, відставання у рості та розвитку.

3. Результати виробничого використання абсорбенту Поліфан-К у дозі 50 г/м<sup>2</sup> упродовж 7 діб для вирощування свиней свідчать, що їх клінічні показники, метаболічні процеси в організмі дослідних свиней були значно кращими, ніж у контрольних аналогів. Оптимальною дозою використання абсорбенту Поліфан-К для нормалізації мікроклімату в приміщенні та активації природної резистентності, метаболізму організму поросят-сисунів є 50 г/м<sup>2</sup> площі приміщення, одноразово на добу впродовж 7 днів, забезпечуючи збереженість тварин на рівні 95–98 %, збільшення приросту маси тіла, в середньому на 18,8 % ( $p < 0,05$ ), з додатковим приростом за період досліду – 1,5 кг, залежно від віку тварин.

4. Поліфан-К сприяє помірній активації еритропоезу в периферичній крові організму свиней з підвищенням вмісту гемоглобіну – на 16,3 %, збільшенням кількості еритроцитів – на 16,6 % (відмінності статистично значущі). Різниця між кількістю лейкоцитів у периферичній крові дослідних і контрольних груп тварин не установлено.

5. Економічна ефективність від застосування абсорбенту Поліфан-К у приміщенні для утримання поросят-сисунів становить 82,6 грн прибутку (в перерахунку на вартість одержаної продукції). Зменшення витрат корму на 1 кг приросту маси тіла поросят – у середньому 0,5 кормових одиниць (на 12,0 %).

**Відомості про дотримання біоетичних норм.** Процедури, що передбачають експерименти на тваринах, проведено згідно із «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», схвалених на Першому національному конгресі з біоетики (м. Київ, 20.09.2001 р.), узгоджених із положеннями Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 18.03.1986 р.), із дотриманням вимог статті 26 Закону України № 5456-VI від 16.10.2012 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» і Директиви ЄС 86/609/ЄС від 24.11.1986 р., що підтверджено Актом біоетичної експертизи Комісії Білоцерківського національного аграрного університету № 17 від 2022 р.

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

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Herzog B., Hüglin D., Luther H. J Liposomogenic U.V. Absorbers are Water-Resistant on Pig Skin-A Model Study With Relevance for Sunscreens. *Pharm Sci.* 2017. 106(2). P. 495–501. DOI:10.1016/j.xphs.2016.09.031.
2. Verkholyuk M., Peleno R., Turko I. Resistance of *S. aureus* Atc. 25923, *E. coli* 055k59. 2020, № 2. 3912/41 and *P. aeruginosa* 27/99 to the Wash-disinfectant «Milkodez». *EUREKA: Health Sciences.* 2021. no. 1. P. 55–60. DOI:10.21303/2504-5679.2020.001100.
3. Басаргін В.А., Лавринюк О.О., Мамченко В.Ю. Біологічна цінність м'яса свиней при використанні сорбентів природного походження. *Наукові горизонти.* 2018. № 3. С. 27–32.
4. Васильчук Д. О. Біобезпека свинарських підприємств. Стан та перспективи виробництва, переробки і використання продукції тваринництва. 2020. С. 175–177.
5. Changes in lipid composition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells under the influence of disinfectants Barez, Biochlor and Geocide / Kovalenko V. L. et al. *Ukrainian Journal of Ecology.* 2018. no. 8 (1). P. 547–550. DOI:10.15421/2018\_248.
6. Титарьова О., Крюкова Л. Сорбенти мікотоксинів: правильний вибір. *Тваринництво Ветеринарія.* 2020. № 1. С. 52–54.
7. Коваленко В.Л., Лясота В.П., Синицин В.А. Загальні методи профілактики шляхом застосування комплексних дезінфікуючих засобів: науковий посібник. Ніжин: Видавець ПП Лисенко М.М. 2017. 408 с.
8. Гаркавенко Т.О., Коваленко В.Л., Гаркавенко В.М. Методичні рекомендації щодо контролю санітарного стану виробництва, реалізації та якості дезінфекції, які підлягають ветеринарному нагляду. Київ, ДНДІЛДВСЕ. 2017. 38 с.
9. Ксьон І.М. Стан та перспективи ветеринарного забезпечення галузі свинарства. *Свинарство.* 2014. Вип. 65. С. 273–277.
10. Методи дослідження повітряного середовища: методичні вказівки до проведення лабораторно-практичних занять з гігієни сільськогосподарських тварин /В. В. Малина та ін. Біла Церква. 2019, 64 с.
11. Методи дослідження природної резистентності свиней: методичні рекомендації /А. М. Нікітенко та ін. Біла Церква-Київ-Львів. 2016. 75 с.
12. Evaluation of acute toxicity of the «Orgasept» disinfectant/A.P. Pali et al. *Ukrainian Journal of Ecology.* 2020. no. 10 (4). P. 273–278. DOI:10.15421/2020\_199.
13. Бегма Н.А. Вплив сорбенту на показники росту і розвитку молодняку свиней на відгодівлі. *Аграрна наука та харчові технології.* 2017. №. 3. С. 11–18.
14. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник/ В.В. Влізла та ін.; за ред. В.В. Влізла. Львів: СПОЛОМ, 2012. 764 с.
15. Лясота В.П., Соколова Л.М. Дезінфекційні засоби, сучасна характеристика та безпечність при застосуванні у тваринництві. *Науковий вісник ветеринарної медицини.* № 2. 2018. С. 87–99.
16. Fabrication of a Novel Absorbable Vascular Anastomosis Device and Testing in a Pig Liver Transplantation Model/W. Jeong et al. *Park UJ, Ann Biomed Eng.* 2019. 47(4). P. 1063–1077. DOI:10.1007/s10439-019-02212-5.
17. Lauridsen C. J. Effects of dietary fatty acids on gut health and function of pigs pre- and post-weaning. *Anim Sci.* 2020. 98(4):skaa086. DOI:10.1093/jas/skaa086.
18. In vivo performance of gold nanoparticle-loaded absorbable inferior vena cava filters in a swine model/S.Y. Huang et al. *Biomater Sci.* 2020. 8(14). P. 3966–3978. DOI:10.1039/d0bm00414f.
19. Ossowski M., Wlazło Ł., Nowakowicz-Dębek B., Florek M. *Animals (Basel).* Effect of Natural Sorbents in the Diet of Fattening Pigs on Meat Quality and Suitability for Processing. 2021. 11(10). 2930 p. DOI:10.3390/ani11102930.
20. Lauridsen C. J. Effects of dietary fatty acids on gut health and function of pigs pre- and post-weaning. *Anim Sci.* 2020. 98(4):skaa086. DOI:10.1093/jas/skaa086.
21. Lenart-Boroń A., Darab D., Chrobak J. Microbiological Aerosol, Particulate Matter Concentrations and Antibiotic Resistant *Staphylococcus spp.* in the Premises of Poland's Oldest Agricultural School. *Atmosphere.* 2021. Vol. 12. no. 8. 934 p. DOI:10.3390/atmos12080934.
22. Davin-Regli A., Pagès J.M. Cross-resistance between biocides and antimicrobials: an emerging question. *Revue Scientifique et Technique.* 2019. Vol. 31. no. 1. P. 89–104. DOI:10.20506/RST.31.1.2099.
23. Changes in lipid composition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells under the influence of disinfectants Barez, Biochlor and Geocide/V.L. Kovalenko et al. *Ukrainian Journal of Ecology.* 2018. Vol. 8. no. 1. P. 547–550. DOI:10.15421/2018\_248.
24. Evaluation of acutotoxicity of the «Orgasept» disinfectant/A.P. Paly et al. *Ukrainian Journal of Ecology.* 2020. Vol. 10. no. 4. P. 273–278. DOI:10.15421/2020\_199.
25. Стояновський В.Г., Мацюк О.І. Колотницький В.А. Динаміка лейкоцитів поросят у різні стресорні періоди онтогенезу при згодіванні добавок «В-глюкан» та «Біовір». *Наук. вісник ЛНУ-ВМБТ ім. С.З. Гжицького.* 2017. 19(73). P. 193–197. DOI:10.15421/nvlvet7340 (in Ukrainian).
26. Stabel J.R., Walker T.M. An ecofriendly decontaminant to kill *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*. *Journal of Microbiological Methods.* 2020. Vol. 176. 106001 p. DOI:10.1016/j.mimet.2020.106001.
27. Рибачук Ж. В. Фармакологічна дія препарату «Екосорб 25» та вплив на рівень напруженості імунітету свиней, що знаходяться на відгодівлі. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences.* 2016. T. 18. №. 3 (71). С. 75–78.

28. Investigating the cowskin and teat canal microbiomes of the bovine eudder using different amplingan dsequen cinga pproaches/C.J. Dean et al. Journal of Dairy Science. 2021. Vol. 104. no. 1. P. 644–661. DOI:10.3168/jds.2020-18277G.

29. Kornienko L.M. Methodological recommendations for determining the economic efficiency of veterinary measures. Bilotserkiv National University of Science and Technology. 2016. 43 p.

## REFERENCES

1. Herzog, B., Hüglin, D., Luther, H. (2017). J Liposomogenic U.V. Absorbers are Water-Resistant on Pig Skin-A Model Study With Relevance for Sunscreens. Pharm Sci. 106(2), pp. 495–501. DOI:10.1016/j.xphs.2016.09.031.

2. Verkholyuk, M., Peleno, R., Turko, I. (2020). Resistance of *S. Aureus Atcc 25923*, *E. Coli 055k59* No. 3912/41 and *P. aeruginosa 27/99* to the Wash-disinfectant [«Milkodez»], EUREKA: Health Sciences, no. 1, pp. 55–60. (in Ukraine). DOI:10.21303/2504-5679.2020.001100.

3. Basargin, V.A., Lavryniuk, O.O., Mamchenko, V.Yu. (2018). Biologichna cinnist' m'jasa svynej pry vykorystanni sorbentiv pryrodnoho pohodzhennja [Biological value of pig meat when using sorbents of natural origin]. Naukovi goryzonty [Scientific horizons]. no. 3, pp. 27–32. (in Ukraine).

4. Vasylychuk, D.O. (2020). Biobezpeka svynars'kyh pidpryjemstv [Biosecurity of pig enterprises]. Stan ta perspektyvy vyrobnyctva, pererobky i vykorystannja produkciï tvarynnyctva [State and prospects of production, processing and use of livestock products]. pp. 175–177. (in Ukraine).

5. Kovalenko, V.L., Kovalenko, P.L., Ponomarenko, G.V., Kukhtyn, M.D., Midyk, S.V., Horiuk, Yu.V., Garkavenko, V.M. (2018). Changes in lipid composition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells under the influence of disinfectants Barez, Biochlor and Geocide. Ukrainian Journal of Ecology. no. 8 (1), pp. 547–550. (in Ukraine). DOI:10.15421/2018\_248.

6. Tytareva, O., Kryukova, L. (2020). Sorbenty mikotoksyniv: pravyl'nyj vybir [Mycotoxin sorbents: the right choice]. Tvarynnyctvo Veterynarija [Animal husbandry]. no. 1, pp. 52–54. (in Ukraine).

7. Kovalenko, V. L., Lyasota, V. P., Sinitsyn, V. A. (2017). Zagal'ni metody profilaktyky shljahom zastosuvannja kompleksnyh dezinfikujuchyh zasobiv: naukovyj posibnyk [General methods of prevention through the use of complex disinfectants: a scientific manual]. Nizhin: Publisher PP Lysenko M.M, 408 p. (in Ukraine).

8. Harkavenko, T.O., Kovalenko, V.L., Harkavenko, V.M. (2017). Metodichni rekomendacii' shhodo kontrolju sanitarnogo stanu vyrobnyctva, realizacii' ta jakosti dezinfekcii', jaki pidljagajut' veterynarnomu nagljadu [Methodological recommendations for con-

trolling the sanitary state of production, implementation and quality of disinfection, which are subject to veterinary supervision]. Kyiv: DNDILDVSE, 38 p. (in Ukraine).

9. Ksion, I.M. (2014). Stan ta perspektyvy veterynarnogo zabezpechennja galuzi svynarstva [The state and prospects of veterinary support in the pig industry]. Swine breeding. Issue 65, pp. 273–277. (in Ukraine).

10. Malyna, V.V., Balatskyi, Yu.O., Hryshko, V.A. (2019). Metody doslidzhennja povitranogo seredovyshha: metodichni vkazivky do provedennja laboratorno-praktychnyh zanjat' z gigijeny sil'skogospodars'kyh tvaryn [Methods of air environment research Methodical instructions for conducting laboratory-practical classes on the hygiene of farm animals. For students of biological-technological and veterinary faculties of full-time and part-time forms of education]. Bila Tserkva, 64 p. (in Ukraine).

11. Nikitenko, A.M., Lyasota, V.P., Malyna, V.V. (2016). Metody doslidzhennja pryrodnoi' rezystentnosti svynej: metodichni rekomendacii' [Methods of studying the natural resistance of pigs: methodical manual]. Bila Tserkva-Kyiv-Lviv, 75 p. (in Ukraine).

12. Palii, A.P., Kovalenko, V.L., Ponomarenko, G.V., Kukhtyn, M.D., Paliy, A.P., Bodnar, O.O., Rebenko, H.I., Kozytska, T.G., Makarevich, T.V., Ponomarenko, O.V. (2020). Evaluation of acute toxicity of the "Orgasept" disinfectant. Ukrainian Journal of Ecology. no. 10(4), pp. 273–278. DOI:10.15421/2020\_199. (in Ukraine).

13. Begma, N.A. (2017). Vplyv sorbentu na pokaznyky rostu i rozvytku molodnjaku svynej na vidgodivli [The influence of the sorbent on growth and development indicators of young fattening pigs]. Agrarna nauka ta harchovi tehnologii' [Agrarian science and food technology]. no. 3, pp. 11–18.

14. Vlizlo, V.V. (2012). Laboratorni metody doslidzhen' u biologii', tvarynnyctvi ta veterynarnij medycyni [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine: a guide]. Lviv: SPOLOM, 764 p.

15. Lyasota, V.P., Sokolova, L.M. (2018). Dezinfekcijnii zasoby, suchasna charakterystyka ta bezpechnist' pry zastosuvanni u tvarynnyctvi [Disinfectants, modern characteristics and safety when used in animal husbandry]. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 2, pp. 87–99. (in Ukraine).

16. Jeong, W., Know, S.Y., Kim, Y., Choi, K., Kim, H.T., Son, D. (2019). Fabrication of a Novel Absorbable Vascular Anastomosis Device and Testing in a Pig Liver Transplantation Model. Park UJ, Ann Biomed Eng. 47(4), pp. 1063–1077. DOI:10.1007/s10439-019-02212-5.

17. Lauridsen, C. J. (2020). Effects of dietary fatty acids on gut health and function of pigs pre- and

post-weaning. *Anim Sci.* 98(4):skaa086. DOI:10.1093/jas/skaa086.

18. Huang, S.Y., Damasko, J., Tian, L., Lu, L., Perez J., Dixon, K. (2020). In vivo performance of gold nanoparticle-loaded absorbable inferior vena cava filters in a swine model. *Biomater Sci.* 8(14), pp. 3966–3978. DOI:10.1039/d0bm00414f.

19. Ossowski, M., Wlazło, Ł., Nowakowicz-Dębek, B., Florek, M. (2021). Animals (Basel). Effect of Natural Sorbents in the Diet of Fattening Pigs on Meat Quality and Suitability for Processing. 11(10), 2930 p. DOI:10.3390/ani11102930.

20. Lauridsen, C. J. (2020). Effects of dietary fatty acids on gut health and function of pigs pre- and post-weaning. *Anim Sci.* 98(4):skaa086. DOI:10.1093/jas/skaa086.

21. Lenart-Boroń, A., Darab, D., Chrobak, J. (2021). Microbiological Aerosol, Particulate Matter Concentrations and Antibiotic Resistant Staphylococcus spp. in the Premises of Poland's Oldest Agricultural School. *Atmosphere.* Vol. 12, no. 8, pp. 934–947. DOI:10.3390/atmos12080934.

22. Davin-Regli, A., Pagès, J.M. (2019). Cross-resistance between biocides and antimicrobials: an emerging question. *Revue Scientifique et Technique.* Vol. 31, no. 1, pp. 89–104. DOI:10.20506/RST.31.1.2099.

23. Kovalenko, V.L., Kovalenko, P.L., Ponomarenko, G.V., Kukhtyn, M.D., Midyk, S.V., Horiuk, Yu. V., Garkavenko, V.M. (2018). Changes in lipid composition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* cells under the influence of disinfectants Barez, Biochlor and Geocide. *Ukrainian Journal of Ecology.* Vol. 8, no. 1, pp. 547–550. DOI:10.15421/2018\_248. (in Ukraine).

24. Paly, A.P., Kovalenko, V.L., Ponomarenko, G.V., Kukhtyn, M.D., Paly, A.P., Bodnar, O.O., Rebenko, H.I., Kozyska, T.G., Makarevich, T.V., Ponomarenko, O.V. (2020). Evaluation of acutotoxicity of the "Orgasept" disinfectant. *Ukrainian Journal of Ecology.* Vol. 10, no. 4, pp. 273–278. DOI:10.15421/2020\_199. (in Ukraine).

25. Stojanov'skyj, V.G., Macjuk, O.I. Kolotnic'kyj, V.A. (2017). Dynamika lejkocytiv porosjat u rizni stresorni periody ontogenezu pry zgoduvanni dobavok «V-gljukan» ta «Biovir» [The dynamics of leukocytes of piglets in different stressful periods of ontogenesis when feeding "B-glucan" and "Biovir" supplements]. *Nauk. visnik LNUVMBT im. S.Z. Gzhyc'kogo* [Scientific messenger of Lviv National University of veterinary medicine and biotechnologies named after S.Z. Gzhyc'kyj]. 19(73), pp. 193–197. DOI:10.15421/nvlvet7340 (in Ukrainian).

26. Stabel, J.R., Walker, T.M. (2020). An eco-friendly decontaminant to kill *Mycobacterium avium* ssp. *Paratuberculosis*. *Journal of Microbiological Methods.* Vol. 176, 106001 p. DOI:10.1016/j.mimet.2020.106001. (in Ukraine).

27. Rybachuk, Zh.V. (2016). Farmakologichna dija preparatu «Ekosorb 25» ta vplyv na riven' napruzhnosti imunitetu svynej, shho znahodjat'sja na vidgodivli [Pharmacological action of the drug "Ekosorb 25" and its effect on the level of immune tension of fattening pigs]. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences.* Vol. 18, no. 3 (71), pp. 75–78.

28. Dean, C.J., Slizovskiy, I.B., Crone, K.K., Pfennig, A.X., Heins, B.J., Caixeta, L.S., Noyes, N.R. (2021). Investigating the cow skin and teat canal microbiome of the bovine udder using different sampling and sequencing approaches. *Journal of Dairy Science.* Vol. 104, no. 1, pp. 644–661. DOI:10.3168/jds.2020-18277G.

29. Kornienko, L.M. (2016). Methodological recommendations for determining the economic efficiency of veterinary measures. *Bilotserskiv National University of Science and Technology.* 43 p.

#### Hygienic justification of use absorbent Polyphan-K when growing piglets

**Lyasota V., Bogatko N., Bukalova N., Hitsuksa O., Dzmil V., Mazur T., Tkachuk S., Prylipko T.**

The introduction of intensive livestock production technologies involves a significant concentration of livestock in a limited area, which contributes to the spread of conditionally pathogenic and pathogenic microflora and, as a result, the occurrence of diseases of farm animals. Therefore, it is necessary to develop highly efficient disinfection means to ensure a stable veterinary well-being of livestock, the efficiency of which should be investigated at the stage of development and selection of substances, since a significant number of currently now proposed disinfectants are toxic, immunosuppressive and have a distant impact on the body. The search for new, more effective and harmless disinfectants, especially complex disinfectants, has been and remains a topical problem of modern veterinary medicine.

The materials of this article highlights the issues of substantiating the use of polyphan absorbent in the process of growing pigs of large white breed of different sexual groups.

For the first time, the normalizing effect of polyphan absorbent on the microclimate indoors for growing pigs, their natural resistance, the intensity of body weight gain and the development of piglets and the development of erythropoiesis and metabolic processes in tissues, which have a positive effect on the conservation and intensity. At a certain optimal dose of use 50 g/m<sup>2</sup> of area, once a day for 7 days of the postnatal period. The use of the polyphan-K absorbent at a dose of 20-100 g/m<sup>2</sup> does not cause any side effects, but instead the conservation of pigs increases to 95-98 %, and weight gain increases by 18.8 %.

The positive effect of the absorbent of Polyfan-K in production conditions on natural resistance of piglets gives reason to recommend its use in the process of growing pigs. The material of the presented studies is presented in «Recommendations for the use of the absorbent of Polyfan-K for growing pigs».

**Key words:** pig farming, piglets, hygienic justification, conditions of keeping, disinfectant, natural resistance, metabolic processes, preservation, growth intensity.



Copyright: Лясота 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.



ORCID iD:

Лясота В.П.

<https://orcid.org/0000-0002-2442-2174>

Букалова Н.В.

<https://orcid.org/0000-0003-4856-3040>

Богатко Н.М.

<https://orcid.org/0000-0002-1566-1026>

Мазур Т.Г.

<https://orcid.org/0000-0002-9295-7787>

Хіцька О.А.

Джміль В.І.

Ткачук С.А.

<https://orcid.org/0000-0002-6923-1793>

Приліпко Т.М.

<https://orcid.org/0000-0002-8178-20X>


## МІКРОБІОЛОГІЯ, ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 636.09:616.9/95.422:619

### Оптимізація полімеразної ланцюгової реакції для моніторингу інфікування *Borrelia burgdorferi* іксових кліщів

Пантелесенко О.В. , Царенко Т.М. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 Пантелесенко О.В. E-mail: olga.panteleienko@btsau.edu.ua



Пантелесенко О.В., Царенко Т.М. Оптимізація полімеразної ланцюгової реакції для моніторингу інфікування *Borrelia burgdorferi* іксових кліщів. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 20–32.

Panteleienko O., Tsarenko T. Application of polymerase chain reaction method for detection of tick-borne borreliosis pathogens. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 20–32.

Рукопис отримано: 14.12.2022 р.

Прийнято: 22.12.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-20-32

Визначення показників інфікованості іксових кліщів збудниками кліщового бореліозу та встановлення належності до патогенного генотипу за допомогою методу ПЛР є важливою складовою для проведення моніторингу, оцінки ризиків та контролю епізоотичної ситуації щодо Лайм-бореліозу на різних територіях.

Наведено результати апробації та оптимізації внутрішньолабораторного протоколу класичної полімеразної реакції для ідентифікації збудників хвороби Лайма. Методом класичної ПЛР дослідили вісім проб екстрагованого ДНК з іксових кліщів, зібраних із рослинності в лісопарковому урочищі «Голендерня», м. Біла Церква Київська область. Проби були сформовані з пулів по десять екземплярів кліщів: сім пулів – кліщі роду *I. ricinus* та один пул – кліщі роду *D. reticulatus*. Використали набори праймерів для виявлення ДНК комплексу борелій *Borrelia burgdorferi sensu lato*; *Borrelia burgdorferi* та патогенних борелій: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* та *Borrelia afzelii*.

Було модифіковано протокол виділення нуклеїнових кислот з кліщів за допомогою комерційного набору Indi Spin Pathogen Kit. Оптимізацію температурних режимів ампліфікації провели методом градієнта температур відпалу для кожної пари праймерів.

За результатами дослідження розроблено внутрішньолабораторні протоколи класичної ПЛР з використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів. Встановили, що в кожному з пулів *I. ricinus* та *D. reticulatus* були наявні інфіковані екземпляри кліщів комплексом борелій *Borrelia burgdorferi sensu lato* та генотипом *Borrelia afzelii*, а також ідентифіковано генотип *Borrelia burgdorferi sensu stricto* в одному з пулів *I. ricinus* та *D. reticulatus*, ДНК генотип *Borrelia garinii* не виявлено.

Розроблені внутрішньолабораторні протоколи класичної ПЛР в подальшому будуть використані для досліджень інфікованості іксових кліщів збудниками кліщового бореліозу: *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* та *Borrelia afzelii*.

**Ключові слова:** Лайм-бореліоз, іксові кліщі, полімеразна ланцюгова реакція, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Кліщі роду *Ixodes ricinus* – поширені по всій території України та є універсальними ектопаразитами, які уражують велику кількість видів ссавців, птахів, рептилій та людину. Вони переносять широкий спектр

патогенних мікроорганізмів, зокрема комплекс спірохет – *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi s. l.*), які зумовлюють у людей і тварин захворювання під назвою Лайм-бореліоз (ЛБ) (синоніми: хвороба Лайма, бореліоз, іксовий кліщовий бореліоз). За різними

даними, зараженість кліщів *I. ricinus* збудниками Лайм-бореліозу в країнах Європи становить 2,5–29,0 % [1–3]. В Україні за даними моніторингу Міністерства охорони здоров'я із 2015 до 2019 рр. зараженість іксодових кліщів *I. ricinus* та *D. reticulatus* коливалась в межах 8,09–27,1 %, сумарна зараженість інших родів іксодових кліщів: *D. marginatus*, *Rhipicephalus rossicus*, *R. sanguineus*, *R. bursa*, *Haemaphysalis punctata* і *Hyalomma marginatum* становила 8,31–12,28 % [4].

Нині комплекс спірохет *B. burgdorferi s. l.* налічує 21 генотип. Нозоареали ЛБ відрізняються за генотиповим складом *B. burgdorferi s. l.* на різних континентах та територіях. Наприклад, в США найпоширенішим патогенним генотипом для людей та собак є *B. burgdorferi sensu stricto* (*B. burgdorferi s. s.*), водночас встановлені випадки ідентифікації інших генотипів: *B. californiensis*, *B. americana*, *B. carolinensis* та *B. kurtenbachii*. Натомість в європейських країнах та в Україні переважно виявляють три патогенні генотипи: *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*, *B. garinii*, інші генотипи були ідентифіковані як патогенні в окремих випадках: *B. lusitaniae*, *B. valaisiana*, *B. spielmanii*, *B. bissettae*, *B. bavariensis* та *B. spielmanii*. У Східній Азії генотиповий склад борелій представлений: *B. japonica*, *B. garinii*, *B. valaisiana*, *B. afzelii*, *B. tanukii*, *B. sinica*, *B. yangtzensis* та рідше інші генотипи [5].

Фенотипову мінливість та імуногенність бактерій *B. burgdorferi s. l.* визначають імуногенні поверхневі білки, позначають їх як Osp (outer surface proteins) [6, 7]. Геномні відмінності борелій мають клінічне значення для розвитку симптомокомплексів ЛБ. Наприклад, *B. burgdorferi s. s.* зазвичай асоціюють з проявами симптомів пов'язаних з ураженням суглобів та розвитком артритів, *B. garinii* – з ураженням периферичної та центральної нервової системи, а *B. afzelii* – з ранньою інфекцією та шкірними проявами ЛБ – мігруюча еритема [8].

Інфікованість іксодових кліщів бореліями можна встановити кількома методами. Наприклад, мікроскопічне дослідження кишечника кліща дозволяє виявити борелії та визначити ступінь інфікованості іксодового кліща за підрахунку бактерій в полі зору мікроскопа. Цей метод не потребує додаткових витрат на діагностичні засоби та матеріали, однак пробопідготовка кліщів для дослідження є тривалою й трудомісткою, також метод мікроскопії не дає можливості ідентифікувати генотипи *B. burgdorferi s. l.*

Борелії є вибагливими, повільно зростаючими та біохімічно неактивними мікроор-

ганізмами, які потребують особливих умов для росту культури бактерій: анаеробне середовище, рН 7,6 і температура 33 °С. Також у борелій низька метаболічна здатність, вони не синтезують амінокислоти, нуклеотиди та жирні кислоти, тому для їх культивування *in vitro* використовують багатокомпонентне поживне середовище (BSK-H). Основними недоліками мікробіологічного методу культивування *B. burgdorferi s. l.* є довготривалість (до 12 тижнів), малопродуктивність та низька чутливість методу, тому його не застосовують для рутинної діагностики.

Чутливішими методами виявлення та ідентифікації збудників кліщового бореліозу вважають методи молекулярної діагностики. Методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) встановлюють наявність ДНК збудників бореліозу в іксодових кліщах та його належність до генотипу [9–12]. За проведення ПЛР як мішені використовують специфічні ділянки геному борелій. Однак генетична будова ділянок розташування генів у різних генотипів борелій відрізняється за їх ступенем гетерогенності, що обмежує вибір мішеней та підбір праймерів для проведення ПЛР.

**Мета дослідження.** Апробація застосування модифікованого методу виділення ДНК та оптимізація протоколів класичної полімеразної ланцюгової реакції для дослідження інфікованості іксодових кліщів бореліями та ідентифікації комплексу *B. burgdorferi s. l.* і окремих генотипів патогенних борелій *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii* та *B. garinii*.

**Матеріал і методи дослідження.** Для досліджень використали іксодових кліщів раніше зібраних з рослинності в Київській області, м. Біла Церква, в лісопарковому урочищі «Голлендерня», яких законсервували у 70 % етиловому спирті та зберігали в холодильнику за 5 °С [13]. Загалом дослідили 70 екземплярів кліщів роду *I. ricinus* та 10 екземплярів кліщів роду *D. reticulatus*.

**Пробопідготовка та виділення ДНК з кліщів.** Перед виділенням ДНК, кліщів кілька разів промивали стерильною дистильованою водою та просушували на фільтрувальному папері. Далі в пробірки типу «Епандорф» об'ємом 2 мл поміщали по 10 екземплярів іксодових кліщів, які належали до одного роду. Загалом отримали 7 пулів *I. ricinus* та 1 пул *D. reticulatus*. В кожну пробірку з кліщами додавали по 200 мкл 0,9 % розчину натрію хлориду. Далі проводили механічну руйнацію кліщів стерильними ножицями. До отриманих суспензій (проб) додавали по 25 мкл розчину протеїнази К, перемішували та інкубували протягом 1,5 год

за температури 56 °C у твердотільному термостаті. Після інкубації суміш перемішували та короткочасно центрифугували. Подальшу ізоляцію нуклеїнових кислот проводили відповідно до інструкції виробника набору Indi Spin Pathogen Kit (Indical Bioscience, Німеччина), який дозволяє виділяти з проби ДНК та РНК. Об'єм розчину екстрагованих нуклеїнових кислот (зокрема ДНК) з кожного пулу кліщів становив 150 мкл.

*Класична полімеразна ланцюгова реакція.* Для дослідження застосували дві пари праймерів LD та SC, націлені на ділянку гена 16S рРНК *B. burgdorferi s. l.*; пару праймерів SL спрямованих на хромосому ДНК *B. burgdorferi s. l.*; для вкладної ПЛР використали зовнішні OspA ext. та внутрішні OspA int. праймери, що націлені на ділянку гена *B. burgdorferi* OspA; три пари праймерів для ідентифікації окремих генотипів *B. burgdorferi s. l.*: праймер BB для ідентифікації *B. burgdorferi s. s.*, BG – *B. garinii* та VS461 – *B. afzelii* відповідно. Загальний опис праймерів наведено в таблиці 1.

Реакцію ПЛР проводили в реакційній суміші об'ємом 25 мкл, яка містила: 12,5 мкл готового міксу для ПЛР One Taq Quick-Load 2X Master Mix зі стандартним буфером #M0486 (New England Biolabs, США), по 0,5 мкл відповідного набору F та R праймерів, 8,5 мкл деіонізованої води та 3 мкл екстрагованої ДНК з кліщів. Вкладену ПЛР з праймерами OspA ext. та OspA int. проводили в два етапи. В першому етапі ампліфікації використали

зовнішні праймери OspA ext. для отримання фрагмента 702 bp., реакційна суміш містила компоненти в таких же пропорціях як описано вище: мікс, F та R праймери OspA ext., деіонізовану воду та екстраговану ДНК з кліщів. У другому етапі для отримання фрагменту розміром 345 bp реакційна суміш містила мікс, F та R праймери OspA int., деіонізовану воду та 3 мкл продукту ампліфікації з праймерами OspA ext. першого етапу вкладної ПЛР. Ампліфікацію нуклеїнових кислот проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems, США).

Для праймерів було розраховано оптимальну температуру відпалу (*T<sub>a</sub>*), враховуючи дані паспорта кожного набору праймерів, рекомендації протоколу проведення ПЛР з готовим міксом One Taq Quick-Load 2X Master Mix #M0486 та онлайн-калькулятора NEB Tm Calculator версія 1.15.0 (<https://tmccalculator.neb.com>). Оптимальні температурні режими ампліфікації для кожної пари праймерів наведено в таблиці 2.

Детекцію отриманих продуктів ампліфікації здійснювали за допомогою електрофорезу в 2 % агарозному гелі з додаванням 50 мкл етидію броміду на 100 мл гелю. Візуалізацію гелю-електрофорезу проводили з УФ-підсвічуванням, визначаючи наявність специфічних фрагментів ДНК відповідної довжини. Розмір специфічного фрагмента ДНК визначали за його положенням відносно маркера молекулярної ваги.

Таблиця 1 – Олігонуклеотидні ПЛР-праймери для виявлення та ідентифікації генотипів *B. burgdorferi s. l.*

Цільові генотипи	Назва праймерів	Послідовність нуклеотидів	Розмір продукту ампліфікації (bp)	Посилання
<i>B. burgdorferi s. l.</i>	LD	ATGCACACTTGGTGTAACTA	357	[14]
		GACTTATCACCGGCAGTCTTA		
<i>B. burgdorferi s. l.</i>	SC	GCTGGCAGTGCGTCTTAA	325	[15]
		CTTAGCTGCTGCCCTCCCGTA		
<i>B. burgdorferi s. l.</i>	SL	AATAGGTCTAATAATAGCCTTAATAGC	307	[16]
		CTAGTGTTTTGCCATCTTCTTTGAAAA		
<i>B. burgdorferi</i>	OspA ext.	AAAAAATATTTATTGGGAATAGG	702	[17]
		GTTTTTTTGCTGTTTACACSTAATTGTAA		
	OspA int.	GGAGTACTTGAAGGC	345	
		GCTTAAAGTAACAGTTCC		
<i>B. burgdorferi s. s.</i>	BB	GGGATGTAGCAATACATTC	574	[14]
		ATATAGTTTCCAACATAGG		
<i>B. garinii</i>	BG	GGGATGTAGCAATACATCT	574	[14]
		ATATAGTTTCCAACATAGT		
<i>B. afzelii</i>	VS461	GCATGCAAGTCAAACGGA	591	[14]
		ATATAGTTTCCAACATAGC		

Таблиця 2 – Температурні режими ампліфікації

Назва праймера	Активация полімерази	Ампліфікація 40 циклів			Фінальна елонгація
		денатурація	відпал	елонгація	
LD	94 °C / 1 хв	94 °C / 30 с	51 °C / 30 с	68 °C / 1 хв	68 °C / 5 хв
SC	94 °C / 1 хв	94 °C / 30 с	56 °C / 30 с	68 °C / 1 хв	68 °C / 5 хв
SL	94 °C / 1 хв	94 °C / 30 с	56 °C / 30 с	68 °C / 1 хв	68 °C / 5 хв
OspA ext.	94 °C / 1 хв	94 °C / 30 с	51 °C / 30 с	68 °C / 1 хв	68 °C / 5 хв
OspA int.	94 °C / 1 хв	94 °C / 30 с	45 °C / 30 с	68 °C / 1 хв	68 °C / 5 хв
BB	94 °C / 1 хв	94 °C / 30 с	46 °C / 30 с	68 °C / 1 хв	68 °C / 5 хв
BG	94 °C / 1 хв	94 °C / 30 с	45 °C / 30 с	68 °C / 1 хв	68 °C / 5 хв
VS461	94 °C / 1 хв	94 °C / 30 с	46 °C / 30 с	68 °C / 1 хв	68 °C / 5 хв

Як негативні контролю використали ДНК лептоспир *Leptospira canicola* та *Leptospira pomona*. Негативний контроль на етапі виділення ДНК та негативний контроль на етапі збору реакційної суміші містили всі компоненти реакції та деіонізовану воду замість досліджуваної ДНК матриці.

**Оптимізація протоколів ПЛР.** Перший етап полягав власне у виявленні специфічного ДНК комплексу *B. burgdorferi s. l.* та окремих генотипів: *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*, *B. garinii* з кожного пулу екстрагованого ДНК з *I. ricinus* та *D. reticulatus*. Температурні режими ампліфікації проводили за схемами наведеними в таблиці 2. Для проведення наступного етапу, проби, що містили специфічні фрагменти ДНК комплексу *B. burgdorferi s. l.* та ДНК окремих генотипів об'єднували у пули, за допомогою змішування по 20 мкл з кожної проби відповідно. Другий етап, власне оптимізація протоколів класичної ПЛР, проводили через визначення оптимальних температур відпалу для кожної пари праймерів, в діапазоні *Ta* від 47 до 59 °C з кроком у 4 °C.

**Специфічність класичної ПЛР.** Встановлення специфічності визначали з використанням ДНК лептоспир *Leptospira canicola* та *Leptospira pomona*.

**Чутливість класичної ПЛР.** Попередньо методом спектрофотометрії визначали кількісний вміст виділених нуклеїнових кислот (НК) в досліджуваних пробах. Вимірювання проводили на спектрофотометрі СФ-46, використавши кварцові кювети об'ємом 1 см<sup>3</sup>. Для спектрофотометрії змішували 50 мкл досліджуваної проби з 950 мкл деіонізованої води, для контролю змішували 50 мкл АВЕ буфера з 950 мкл деіонізованої води. Чистоту зразків перевіряли вимірюваннями оптичної густини (ОГ) зразків за довжин хвиль 230, 260 і 280 нм. Зразки вважали чистими, якщо співвідношення ОГ проб виміряних за 260 та 280 нм не перевищувало 1,8, а за 260 та 230 нм – не пере-

вищувало 2,2 відповідно. Концентрацію нуклеїнових кислот розраховували у такий спосіб: якщо ОГ дорівнює 1,0 за довжини хвилі 260 нм, то вміст нуклеїнових кислот становить 50 мкг/мл [18]. Після визначення концентрації НК у досліджуваних пробах робили збірну пробу, яка відповідала середній концентрації НК. Для визначення чутливості ПЛР виконали серійні розведення збірної проби з деіонізованою водою в наступних розведеннях: 1:10; 1:100. Постановку ПЛР проводили за попередньо визначеними оптимальними температурними параметрами для кожної пари праймерів.

**Результати дослідження.** Методом ПЛР дослідили вісім проб екстрагованої ДНК з іксодових кліщів на встановлення наявності специфічних фрагментів ДНК збудників бореліозу комплексу *B. burgdorferi s. l.* та окремих генотипів: *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*, *B. garinii*. Температурні режими проведення реакції відповідали даним таблиці 2. Розміри отриманих продуктів ампліфікації визначали за лінійкою маркера молекулярної маси. В результаті проведення ампліфікації з праймерами SL націлених на хромосому ДНК *B. burgdorferi s. l.*, з праймерами SC націленими на ділянку гена 16S рРНК *B. burgdorferi s. l.* та з праймерами для вкладної ПЛР, що націлені на ділянку гена *B. burgdorferi* OspA встановили, що у всіх пробах наявні специфічні фрагменти ДНК борелій комплексу *B. burgdorferi s. l.* В результаті ПЛР з праймерами LD націлених на ділянку гена 16S рРНК *B. burgdorferi s. l.* отримали 1-шу, 2-, 4-, 5-, 6- та 8-му позитивні проби.

ПЛР проведена з наборами праймерів для ідентифікації окремих генотипів комплексу *B. burgdorferi s. l.* дала наступний результат: вісім позитивних проб з набором праймерів VS461 для ідентифікації генотипу *B. afzelii*; 1 та 8 позитивні проби з праймерами BB для ідентифікації генотипу *B. burgdorferi s. s.*; всі негативні проби з парою праймерів BG для ідентифікації *B. garinii*, відповідно.

**Оптимізація протоколів ПЛР.** Для оптимізації температурних режимів ампліфікації робили окремі збірні проби екстрагованого ДНК з кліщів, в яких встановлена наявність специфічного ДНК *B. burgdorferi s. l.* та ДНК окремих генотипів борелій: *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*, *B. garinii* на попередньому етапі дослідження. Позитивні проби об'єднували по 20 мкл згідно з даними таблиці 3.

На попередньому етапі ПЛР дослідження з набором праймерів BG, в продуктах ампліфікації не виявили специфічних фрагментів ДНК *B. garinii*, що може бути пов'язано із низькою температурою відпалу (45 °C). Тому для подальшої оптимізації протоколу ПЛР з використанням праймерів BG об'єднали всі проби ДНК.

З кожною збірною пробою екстрагованого ДНК з кліщів та наборами праймерів робили реакційну суміш у трьох повтореннях. Суміш готували безпосередньо перед проведенням ампліфікації. Температуру відпалу для кожної пари праймерів оптимізували, виконуючи ампліфікацію починаючи з  $T_a$  47 °C і наступними кроками в 4 °C. Залежно від результатів отриманих після ПЛР з окремими наборами праймерів, оптимізацію ПЛР завершували на  $T_m$ , за якої були відсутні продукти реакції. Всі інші температурні режими проведення ПЛР: активація полімерази, денатурація, елонгація та фінальна елонгація були такими як описано в таблиці 2.

Результати оптимізації протоколів ПЛР на кожному кроці візуально оцінювали після електрофорезу в агарозному гелі. Розмір продуктів ампліфікації визначали за шкалою маркера молекулярної маси. Критеріями оцінки були: наявність або відсутність чітких смуг відповідного розміру продуктів ПЛР, наявність неспецифічних фрагментів або їхня відсутність.

В результаті оптимізації ПЛР проведеної з парою праймерів LD, які націлені на ділянку гена 16S рРНК *B. burgdorferi s. l.* встановили, що діапазоном оптимальних температур відпалу для даного праймеру є 51–55 °C. Після електрофорезу продуктів ампліфікації в агарозному гелі спостерігали чіткі смуги специфічного ДНК розміром 357 бп, неспецифічні фрагменти – відсутні. Електрофорез продуктів ампліфікації отриманих після ПЛР з  $T_a$  47 °C показав наявність нечітких смужок фрагментів ДНК розміром 357 бп та наявність неспецифічних фрагментів у досліджуваних пробах. Результат електрофорезу в агарозному гелі продуктів ампліфікації за  $T_a$  59 °C демонструє наявність порівняно широких смуг ДНК 357 бп та наявність неспецифічних продуктів. Ампліфікація проведена з  $T_a$  63 °C в результаті специфічні фрагменти ДНК відповідного розміру були відсутні. Візуалізація результатів проведення оптимізації протоколу ПЛР з набором праймерів LD зображена на рисунку 1.

Оптимізація протоколів ПЛР з набором праймерів SC, які націлені на ділянку гена 16S рРНК *B. burgdorferi s. l.* показала, що оптимальні температури відпалу знаходяться в діапазоні 51–59 °C. За результатами електрофорезу в агарозному гелі продуктів ампліфікації за зазначених вище  $T_a$  встановлена наявність чітких смуг специфічного ДНК розміром 325 бп. Результати ампліфікації проведеної за  $T_a$  47 °C показали наявність смуг специфічних фрагментів ДНК – 325 бп та нагромадження неспецифічних фрагментів в досліджуваних пробах. За проведення ампліфікації з підвищенням  $T_a$  до 63 °C специфічні фрагменти ДНК в агарозному гелі були відсутні. Результат проведення оптимізації протоколів ПЛР для пари праймерів SC зображений на рисунку 2.

Таблиця 3 – Формування збірних проб для проведення оптимізації протоколів ПЛР

Назва праймеру	bp	№ проби							
		1	2	3	4	5	6	7	8
LD	357	+	+	-	+	+	+	-	+
SC	325	+	+	+	+	+	+	+	+
SL	307	+	+	+	+	+	+	+	+
OspA	345	+	+	+	+	+	+	+	+
BB	574	+	-	-	-	-	-	-	+
BG	574	-	-	-	-	-	-	-	-
VS461	591	+	+	+	+	+	+	+	+

**Примітки:** «+» – в пробі наявне специфічне ДНК борелій відповідно цільового праймеру;  
«-» – в пробі відсутнє специфічне ДНК борелій відповідно цільового праймеру.

Оптимізація протоколу ПЛР з парою праймерів SL показала, що за проведення ампліфікації з *Ta* в діапазоні 47–55 °С, в агарозному гелі спостерігаються чіткі смужки ДНК відповідного розміру 307 бп. За результатами електрофорезу продуктів ампліфікації, отриманих

за режиму *Tm* 59 °С смужки ДНК розміром 307 бп стають не чіткими, а за підвищення *Tm* до 63 °С специфічні фрагменти ДНК в агарозному гелі відсутні. Візуалізація результатів оптимізації протоколу ПЛР для пари праймерів SL зображена на рисунку 3.

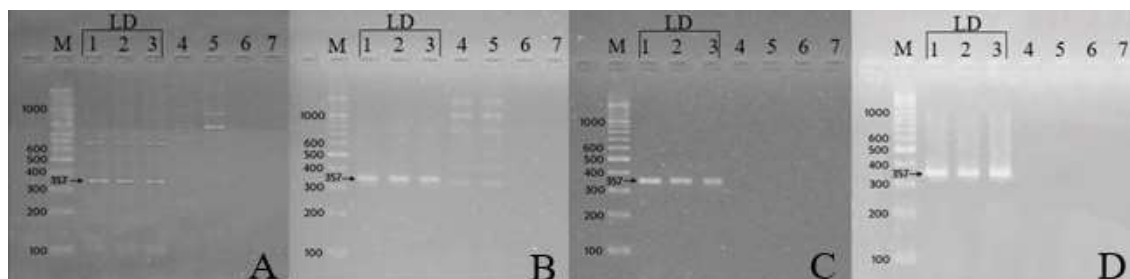


Рис. 1. Електрофорез в 2 % агарозному гелі продуктів ПЛР, отриманих після ампліфікації за різних температурах відпау (*Tm*) з набором праймерів LD.

*A – Ta=47 °C; B – Ta=51 °C; C – Ta=55 °C; D – Ta=59 °C.*

*M – молекулярний маркер; 1,2,3 – продукт ПЛР довжиною 357 бп, характерний для LD; 4 – Leptospira canicola; 5 – Leptospira rotomana; 6 – негативний контроль виділення ДНК; 7 – негативний контроль реакційної суміші.*

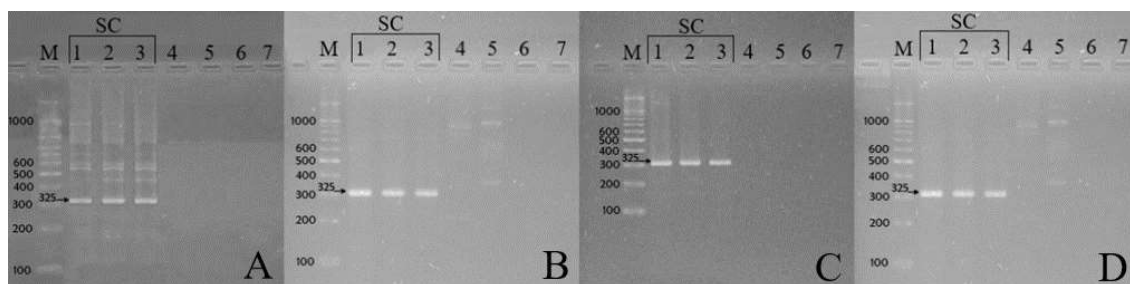


Рис. 2. Електрофорез в 2 % агарозному гелі продуктів ПЛР, отриманих після ампліфікації за різних температур відпау (*Tm*) з набором праймерів SC.

*A – Ta=47 °C; B – Ta=51 °C; C – Ta=55 °C; D – Ta=59 °C.*

*M – молекулярний маркер; 1,2,3 – продукт ПЛР довжиною 325 бп, характерний для SC; 4 – Leptospira canicola; 5 – Leptospira rotomana; 6 – негативний контроль виділення ДНК; 7 – негативний контроль реакційної суміші.*

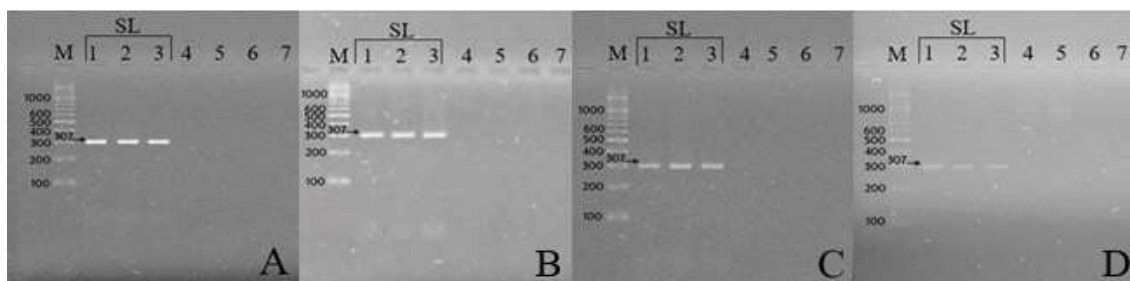


Рис. 3. Електрофорез в 2 % агарозному гелі продуктів ПЛР, отриманих після ампліфікації за різних температур відпау (*Tm*) з набором праймерів SL.

*A – Ta=47 °C; B – Ta=51 °C; C – Ta=55 °C; D – Ta=59 °C.*

*M – молекулярний маркер; 1,2,3 – продукт ПЛР довжиною 307 бп, характерний для SL; 4 – Leptospira canicola; 5 – Leptospira rotomana; 6 – негативний контроль виділення ДНК; 7 – негативний контроль реакційної суміші.*

Перший етап вкладної ПЛР з парою зовнішніх праймерів *OspA ext.* провели за визначеними термоциклічними умовами згідно з даними таблиці 2. Далі проводили оптимізацію протоколу другого етапу вкладної ПЛР для внутрішніх праймерів *OspA int.* В результаті отриманих продуктів за *Ta* 47 °С, 51 та 55 °С в агарозному гелі спостерігаються смужки ДНК розміром 345 бр та накопичення неспецифічних продуктів. Після амліфікації проведеної за *Ta* 59 °С відмічали зменшення накопичення неспецифічних фрагментів, смужки специфічного ДНК розміром 345 бр ставали чіткішими та порівняно тоншими. В результаті ампліфікації проведеної з *Ta* 63 °С специфічні продукти ПЛР розміром 345 бр після електрофорезу в агарозному гелі були відсутні. Результати проведеної оптимізації протоколу ПЛР з парою праймерів *OspA int.* зображені на рисунку 4.

Проведення оптимізації протоколу ПЛР з парою праймерів VS461 для ідентифікації генотипу *B. afzelii*, показало, що оптимальною тем-

пературою відпалу є 51°С. За нижчої *Ta* 47 °С спостерігали нагромадження неспецифічних фрагментів ДНК. Електрофорез в агарозному гелі отриманих продуктів ампліфікації за *Ta* 55 °С показав наявність нечітких смужок ДНК розміром 591 бр досліджуваних проб, а за ампліфікації з *Ta* 59 °С – смужки специфічного ДНК в агарозному гелі відсутні. Результати проведеної оптимізації протоколів ПЛР з набором праймерів VS461 відображені на рисунку 5.

За результатами оптимізації протоколів ПЛР з парою праймерів для ідентифікації генотипу *B. burgdorferi s. s.*, оптимальним діапазоном температур відпалу для набору праймерів ВВ є 47–51 °С, в агарозному гелі після електрофорезу спостерігали наявність чітких смужок ДНК відповідного розміру 574 бр. Результати ампліфікації проведеної за *Ta* 55 °С продемонстрували відсутність смужок ДНК в агарозному гелі. Візуалізація результатів оптимізації протоколу ПЛР з парою праймерів SC зображена на рисунку 5.

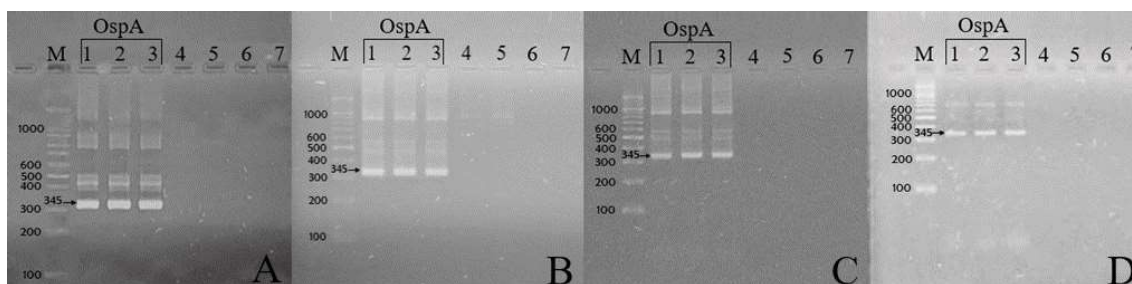


Рис. 4. Електрофорез в 2 % агарозному гелі продуктів ПЛР, отриманих після ампліфікації за різних температур відпалу (*Ta*) з набором праймерів *OspA int.*.

*A – Ta=47 °C; B – Ta=51 °C; C – Ta=55 °C; D – Ta=59 °C.*

*M – молекулярний маркер; 1,2,3 – продукт ПЛР довжиною 345 бр, характерний для OspA int.; 4 – Leptospira canicola; 5 – Leptospira rotomana; 6 – негативний контроль виділення ДНК; 7 – негативний контроль реакційної суміші.*

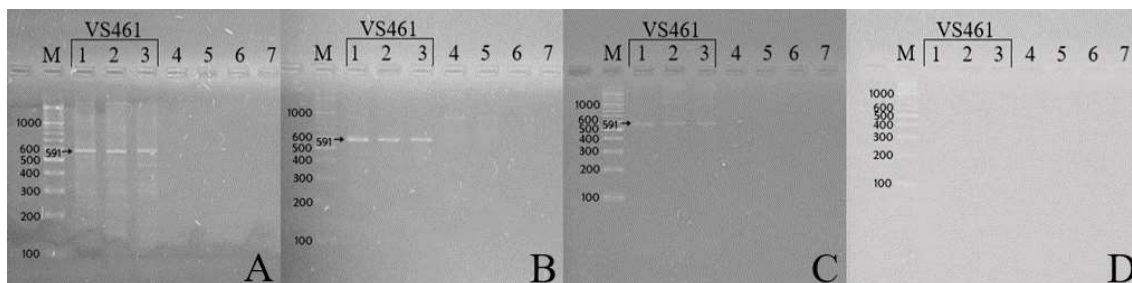


Рис. 5. Електрофорез в 2 % агарозному гелі продуктів ПЛР, отриманих після ампліфікації за різних температур відпалу (*Ta*) з набором праймерів VS461.

*A – Ta=47 °C; B – Ta=51 °C; C – Ta=55 °C; D – Ta=59 °C.*

*M – молекулярний маркер; 1, 2, 3 – продукт ПЛР довжиною 591 бр, характерний для VS461; 4 – Leptospira canicola; 5 – Leptospira rotomana; 6 – негативний контроль виділення ДНК; 7 – негативний контроль реакційної суміші.*

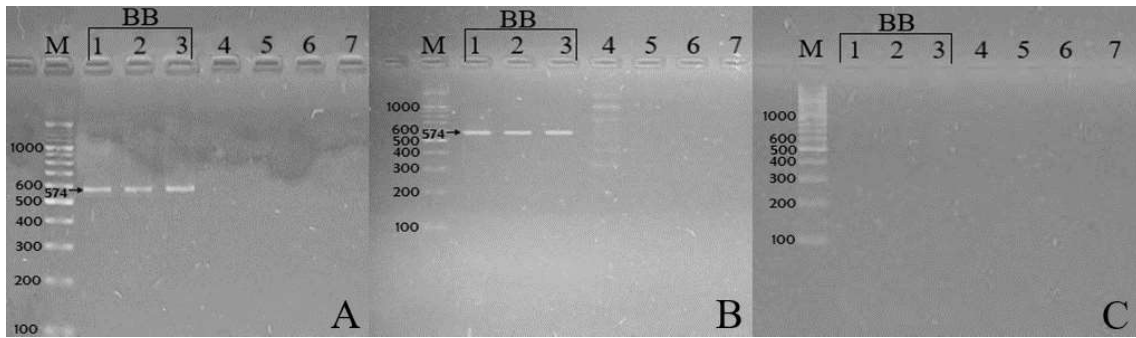


Рис. 5. Електрофорез в 2 % агарозному гелі продуктів ПЛР, отриманих після ампліфікації за різних температур відпалу ( $T_a$ ) з набором праймерів SC.

A –  $T_a=47^\circ\text{C}$ ; B –  $T_a=51^\circ\text{C}$ ; C –  $T_a=55^\circ\text{C}$ .

M – молекулярний маркер; 1, 2, 3 – продукт ПЛР довжиною 574 bp, характерний для BB; 4 – *Leptospira canicola*; 5 – *Leptospira rotomona*; 6 – негативний контроль виділення ДНК; 7 – негативний контроль реакційної суміші.

Отже, за 40-циклічної ампліфікації, оптимальною температурою відпалу для всіх наборів праймерів: LD, SC, SL, OspA, BB, та VS461 можна вважати  $51^\circ\text{C}$ . Узагальнюючі результати оптимізації протоколів класичної ПЛР наведені в таблиці 4.

**Специфічність класичної ПЛР.** На всіх етапах ПЛР використовували як негативний контроль ДНК лептоспір *Leptospira canicola* та *Leptospira rotomona* з кожною парою праймерів. В результатах утворення хибно позитивних продуктів ампліфікації відповідних розмірів характерних для кожної пари праймерів не спостерігали.

**Чутливість класичної ПЛР.** Попередньо, за допомогою спектрофотометра визначили загальну концентрацію виділених нуклеїнових кислот з іксодових кліщів. Мінімальна концентрація виділених НК становила 18,5 мкг/мл, максимальна концентрація НК – 45 мкг/мл, се-

редня концентрація виділених НК – 31 мкг/мл ( $SD\pm 10,01$ ), відповідно.

Для визначення чутливості ПЛР дослідили збірну пробу екстрагованого ДНК з іксодових кліщів з середньою концентрацією НК – 31 мкг/мл. За допомогою методу серійних розведень отримали наступні концентрації НК: 1:10 – концентрація НК 3,1 мкг/мл та 1:100 – 0,31 мкг/мл, відповідно.

Чутливість ПЛР визначали за 40-циклічної ампліфікації з температурою відпалу  $51^\circ\text{C}$  для всіх наборів праймерів. Результати визначення чутливості ПЛР з наборами праймерів для виявлення ДНК борелій та їх генотипів наведені в таблиці 5.

Чутливість ПЛР з парою праймерів BG не визначали, оскільки на попередніх етапах досліджень не отримали позитивних проб з наявним ДНК борелій генотипу *B. garinii*.

Таблиця 4 – Результати проведення оптимізації температур відпалу ( $T_a$ ) для кожної пари праймерів

Tm	Назви праймерів						
	LD (357 bp)	SC (325 bp)	SL (307 bp)	OspA (345 bp)	BB (574 bp)	BG (574 bp)	VS461 (591 bp)
47 °C	+/-	+/-	+	+/-	+	-	+/-
51 °C	+	+	+	+/-	+	-	+
55 °C	+	+	+	+/-	-	-	+
59 °C	+/-	+	+	+/-	0	-	-
63 °C	-	-	-	-	0	-	0

Примітки: «+/-» – наявні смужки ДНК відповідного розміру та неспецифічні фрагменти; «+» – наявні чіткі смужки ДНК відповідного розміру; «-» – продукти ампліфікації відсутні; «0» – ампліфікацію не проводили.

Таблиця 5 – Результати визначення чутливості ПЛР з наборами праймерів для виявлення ДНК борелій *B. burgdorferi s.l.*, *B. burgdorferi s.s.* та *B. afzelii* в пробах з різною концентрацією нуклеїнових кислот.

Назви праймерів (bp)	Ступінь розведення	Концентрація НК (мкг/мл)	Наявність специфічного продукту ампліфікації
LD (357 bp)	1:10	3,1	Відсутній
	1:100	0,31	Відсутній
SC (325 bp)	1:10	3,1	Наявний (325 bp)
	1:100	0,31	Відсутній
SL (307 bp)	1:10	3,1	Наявний (307 bp)
	1:100	0,31	Відсутній
OspA (345 bp)	1:10	3,1	Відсутній
	1:100	0,31	Відсутній
VS461 (591 bp)	1:10	3,1	Відсутній
	1:100	0,31	Відсутній

За результатами визначення чутливості ПЛР встановили, що протоколи ПЛР з використанням праймерів SC, які націлені на ділянку гена 16S рРНК *B. burgdorferi s.l.* та SL, націлені на хромосому ДНК *B. burgdorferi s.l.* є чутливими за концентрації НК в пробі 3,1 мкг/мл, а у розведенні 1:100 (НК=0,31 мкг/мл) продукти ампліфікації були відсутні. ПЛР проведена з наборами праймерів LD, OspA та VS461 не дали позитивних реакцій в розведеннях 1:10 (НК = 3,1 мкг/мл) та 1:100 (НК = 0,31 мкг/мл).

**Обговорення.** Полімеразна ланцюгова реакція є чутливим методом, однак певні проблеми з її використанням можуть виникати, наприклад, підбір правильних праймерів, визначення оптимальних температурних режимів ампліфікації, рівень чутливості та специфічності підібраних наборів праймерів тощо. Тому проведення якісних лабораторних досліджень методом класичної ПЛР потребує попередньої апробації та оптимізації протоколів реакції [19].

Крім того, для результативного виконання ПЛР потрібно якісно та ефективно провести етап виділення ДНК збудників хвороб з іксодових кліщів, що інколи може бути проблематичним, через те, що у кліщів наявний твердий хітиновий шар, який важко або взагалі не руйнується лізуючими розчинами, тому необхідно застосовувати відповідну пробопідготовку перед виділенням ДНК. Нині є багато методів екстракції ДНК з іксодових кліщів, однак єдиного погляду щодо найефективнішого методу немає [20]. Вибір методу ізоляції ДНК з кліщів залежить від багатьох умов: затрат часу, складності та багатоетапності методу, вико-

ристання додаткових реактивів, врахування можливостей діагностичної лабораторії тощо. В нашому дослідженні було застосовано модифікований протокол екстракції ДНК з кліщів за допомогою комерційного набору IndiSpin Pathogen Kit (Indical Bioscience, Німеччина). Пробопідготовка полягала в проведенні попередньої механічної руйнації кліщів у фізіологічному розчині та витримкою отриманого гомогенізату з лізуючим розчином протейнази К в термостаті протягом 1,5 год за температури 56 °C. В результаті спектрофотометричним методом визначили концентрацію виділених НК, яка становила в середньому 31 мкг/мл (SD±10,01). Слід зазначити, що визначали концентрацію загальних нуклеїнових кислот, а не цільового ДНК.

Перед проведенням оптимізації протоколів ПЛР в досліджуваних пробах визначали наявність ДНК найпоширеніших патогенних генотипів борелій: *B. burgdorferi s. s.*, *B. garinii* та *B. afzelii*, також визначали наявність ДНК комплексу борелій *B. burgdorferi s. l.* та специфічні фрагменти гена OspA поверхневого білка борелій. Аналізуючи проведені дослідження, щодо виявлення та ідентифікації збудників хвороби Лайма в іксодових кліщах можна зробити висновок, що іксодові кліщі роду *I. ricinus* – 70 екземплярів та роду *D. reticulatus* – 10 екземплярів, зібрані з рослинності в лісопарковому урочищі «Голендерня», м. Біла Церква Київської області, були інфіковані бореліями комплексу *B. burgdorferi s. l.* та патогенними генотипами *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*. Генотип *B. garinii* не ідентифіковано. Загалом це узгод-

жується з результатами досліджень іксодових кліщів, зібраних у парках відпочинку м. Київ, які також були інфіковані генотипами борелій: *B. afzelii* (7,7%), потім *B. burgdorferi s. s.* (2,2%) і найменшу частку становив генотип *B. garinii* (0,5%) [21]. Не слід відкидати ймовірність інфікованості іксодових кліщів іншими генотипами борелій, що потребує подальших досліджень з відповідними цільовими наборами праймерів для ідентифікації таких генотипів.

За результатами оптимізації ПЛР розробили внутрішньолабораторні протоколи класичної ПЛР з використанням наборів праймерів для виявлення ДНК борелій та їх генотипів, а також протокол для вкладної ПЛР з набором зовнішніх і внутрішніх праймерів *OspA*. Обрані набори праймерів є специфічними для ідентифікації комплексу борелій *B. burgdorferi s. l.*, для гена *OspA* поверхневих білків борелій, а також генотипів *B. burgdorferi s. s.* та *B. afzelii*. Всі праймери використані в дослідженнях є специфічними та чутливими за концентрацій НК в межах 18,5–45 мкг/мл, а набори праймерів SC та SL чутливі за нижчої концентрації НК – 3,1 мкг/мл.

**Висновки.** 1. За результатами апробації та оптимізації температурних режимів полімеразної ланцюгової реакції, визначення специфічності та чутливості реакції, було розроблено протоколи класичної ПЛР з використанням праймерів для ідентифікації двох патогенних генотипів борелій *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii*, ДНК комплексу борелій *B. burgdorferi s. l.* та протокол вкладної ПЛР з використанням зовнішніх і внутрішніх пар праймерів для виявлення специфічних фрагментів гену борелій *OspA*.

2. Методом класичної ПЛР ідентифікували два генотипи патогенних борелій *B. afzelii* та *B. burgdorferi s. s.*, а також ДНК комплексу борелій *B. burgdorferi s. l.* та специфічні фрагменти гена *OspA*, який є основним антигеном збудників хвороби Лайма. Генотип *B. garinii* не ідентифікували в жодній з проб, що може вказувати на відсутність інфікованості кліщів цим генотипом борелій.

3. Показники чутливості праймерів визначили за допомогою серійних розведень проб з середньою концентрацією нуклеїнових кислот 31 мкг/мл ( $SD \pm 10,01$ ). Праймери не чутливі за зниження концентрації нуклеїнових кислот в 10 та 100 разів, крім двох наборів праймерів SC та SL для виявлення ДНК *Borrelia burgdorferi sensu lato*, що дали позитивні результати ампліфікації за концентрації НК в пробі 3,1 мкг/мл (розведення 1:10). Усі апробовані ПЛР-протоколи дозволяють ідентифікувати в пробах

цільові фрагменти ДНК за концентрації нуклеїнових кислот в діапазоні 18,5–45 мкг/мл. ПЛР-протоколи з використанням праймерів SC та SL для виявлення ДНК комплексу *B. burgdorferi s. l.* можна застосовувати за концентрації НК 3,1 мкг/мл.

4. Використаний модифікований метод ізоляції ДНК за допомогою комерційного набору IndiSpin Pathogen Kit дозволяє виділи з іксодових кліщів нуклеїнові кислоти в межах концентрації 18,5–45 мкг/мл.

5. Розроблені внутрішньолабораторні протоколи ПЛР з використанням описаних наборів праймерів для ідентифікації ДНК комплексу *B. burgdorferi s. l.* та ДНК генотипів *B. burgdorferi s. s.*, *B. afzelii* в подальшому будуть використані для визначення інфікованості іксодових кліщів збудниками хвороби Лайма.

**Відомості про конфлікт інтересів (за потреби).** Автори декларують, що не мають конфлікту інтересів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. A nationwide study on *Borrelia burgdorferi* *sl* infection rates in questing *Ixodes ricinus*: a six-year snapshot study in protected recreational areas in England and Wales/B. Cull et al. Medical and Veterinary Entomology. 2021. Vol. 35. no. 3. P. 352–360. DOI:10.1111/mve.12503.
2. Prevalence of tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes ricinus* ticks in Lower Bavaria and Upper Palatinate, Germany/D. Zubriková et al. Ticks and tick-borne diseases. 2020. Vol. 11. no. 3. 101375 p. DOI:10.1016/j.ttbdis.2020.101375.
3. Hubálek Z., Halouzka J. Prevalence rates of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks in Europe. Parasitol Res. 1998. Vol. 84. P. 167–172. DOI:10.1007/s004360050378.
4. Небогаткін І., Шульхан А. Епідеміологічні та епізоотичні особливості хвороби Лайма в 2019 році в Україні. Актуальна інфектологія. 2020. Том 8. № 5–6. С. 44–48. DOI:10.22141/2312-413x.8.5-6.2020.217959.
5. Mysterud A., Stigum V.M., Jaarsma R.I., Sprong H. Genospecies of *Borrelia burgdorferi sensu lato* detected in 16 mammal species and questing ticks from northern Europe. Scientific reports. 2019. Vol. 9. no. 1. P. 1–8. DOI:10.1038/s41598-019-41686-0.
6. Radolf J.D., Caimano M.J., Stevenson B., Hu L.T. Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. Nature reviews microbiology. 2012. Vol. 10. no. 2. P. 87–99. DOI:10.1038/nrmicro2714.
7. Dulipati V., Meri S., Panelius J. Complement evasion strategies of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. FEBS letters. 2020. Vol. 594. no. 16. P. 2645–2656. DOI:10.1002/1873-3468.13894.

8. Stanek G., Reiter M. The expanding Lyme *Borrelia* complex—clinical significance of genomic species? *Clinical Microbiology and Infection*. 2011. Vol. 17. no. 4. P. 487–493. DOI:10.1111/j.1469-0691.2011.03492.x.

9. Hubálek Z., Halouzka J. Prevalence rates of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasitology research*. 1998. Vol. 84. no. 3. P. 167–172. DOI:10.1007/s004360050378.

10. Piesman J., Schneider B.S., Zeidner N.S. Use of quantitative PCR to measure density of *Borrelia burgdorferi* in the midgut and salivary glands of feeding tick vectors. *Journal of clinical microbiology*. 2001. Vol. 39. no. 11. P. 4145–4148. DOI:10.1128/JCM.39.11.4145-4148.2001.

11. Comparison of growth and morphology of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in BSK-H and BSK-II media stored for prolonged periods/G. Veinović et al. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2020. Vol. 128. no. 10. P. 552–557. DOI:10.1111/apm.13069.

12. Kučerová H.L., Žáková A., Marková J., Bártošová E. Detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi sensu lato* in wild small mammals and sensitivity of PCR and cultivation. *Veterinary microbiology*. 2019. Vol. 230. P. 241–243. DOI:10.1016/j.vetmic.2019.02.004.

13. Пантелєєнко О., Царенко Т. Вивчення та порівняння індексу щільності заселення іксодовими кліщами різних біотопів Київської та Черкаської областей. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2022. Vol. 1. P. 63–71. DOI:10.33245/2310-4902-2022-173-1-63-71.

14. Marconi R.T., Garon C.F. Development of Polymerase Chain Reaction Primer Sets for Diagnosis of Lyme Disease and for Species-Specific Identification of Lyme Disease Isolates by 16S rRNA Signature Nucleotide Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 1993. Vol. 31. no. 4. 1026 p.

15. Detection of pathogens in ixodid ticks collected from animals and vegetation in five regions of Ukraine/V.A. Levyt'ska et al. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2021. Vol. 12. no. 1. DOI:10.1016/j.ttbdis.2020.101586.

16. Simultaneous presence of different *Borrelia burgdorferi* genospecies in biological fluids of Lyme disease patients/I. Demaerschalck et al. *Journal of clinical microbiology*. 1995. Vol. 33. no. 3. P. 602–608. DOI:10.1128/jcm.33.3.602-608.1995.

17. Multiple infections of *Ixodes scapularis* ticks by *Borrelia burgdorferi* as revealed by single-strand conformation polymorphism analysis/D.S. Guttman et al. *Journal of clinical microbiology*. 1996. Vol. 34. no. 3. P. 652–656. DOI:10.1128/jcm.34.3.652-656.1996.

18. Spectrophotometric analysis of nucleic acids: oxygenation-dependant hyperchromism of DNA/R. Doshi et al. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2010. Vol. 396. no. 6. P. 2331–2339. DOI:10.1007/s00216-010-3461-x.

19. Внутрішньолабораторна апробація праймерів для молекулярно-генетичної ідентифікації грибів роду *Fusarium link*/В.Д. Іщенко та ін. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2019. Том. 82. № 6. DOI:10.31548/dopovidi2019.06.017.

20. Comparison of methods for economic and efficient tick and *Borrelia* DNA purification/M. Okeyo et al. *Ticks and tick-borne diseases*. 2019. Vol. 10. no. 5. P. 1041–1045. DOI:10.1016/j.ttbdis.2019.05.002.

21. Rogovsky A., Batool M., Gillis D.C. Diversity of *Borrelia* spirochetes and other zoonotic agents in ticks from Kyiv, Ukraine. *Ticks and tick-borne diseases*. 2018. Vol. 9. no. 2. P. 404–409. DOI:10.1016/j.ttbdis.2017.12.006.

## REFERENCES

1. Cull, B., Hansford, K.M., McGinley, L., Gillingham, E. L., Vaux, A.G.C., Smith, R., Medlock, J.M. (2021). A nationwide study on *Borrelia burgdorferi* sl infection rates in questing *Ixodes ricinus*: a six-year snapshot study in protected recreational areas in England and Wales. *Medical and Veterinary Entomology*. Vol. 35, no. 3, pp. 352–360. DOI:10.1111/mve.12503.

2. Zubriková, D., Wittmann, M., Hönig, V., Švec, P., Vichová, B., Essbauer, S., Dobler, G., Grubhoffer, L., Pfister, K. (2020). Prevalence of tick-borne encephalitis virus and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in *Ixodes ricinus* ticks in Lower Bavaria and Upper Palatinate, Germany. *Ticks and tick-borne diseases*. Vol. 11, no. 3, 101375 p. DOI:10.1016/j.ttbdis.2020.101375.

3. Hubálek, Z., Halouzka, J. (1998). Prevalence rates of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasitol Res*. Vol. 84, pp. 167–172. DOI:10.1007/s004360050378.

4. Nebogatkin, I.V., Shulhan, A.M. (2020). Epidemiolohichni ta epizootychni osoblyvosti khvoroby Laima v 2019 rotsi v Ukraini [Epidemiological and epizootic features of Lyme disease in 2019 in Ukraine]. *Aktualna infektolohiia* [Actual infectology]. Vol. 8, no. 5–6, pp. 44–48. (in Ukrainian) DOI:10.22141/2312-413x.8.5-6.2020.217959.

5. Mysterud, A., Stigum, V.M., Jaarsma, R.I., Sprong, H. (2019). Genospecies of *Borrelia burgdorferi sensu lato* detected in 16 mammal species and questing ticks from northern Europe. *Scientific reports*. Vol. 9, no. 1, pp. 1–8. DOI:10.1038/s41598-019-41686-0.

6. Radolf, J.D., Caimano, M.J., Stevenson, B., Hu, L.T. (2012). Of ticks, mice and men: understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. *Nature reviews microbiology*. Vol. 10, no. 2, pp. 87–99. DOI:10.1038/nrmicro2714.

7. Dulipati, V., Meri, S., Panelius, J. (2020). Complement evasion strategies of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *FEBS letters*. Vol. 594, no. 16, pp. 2645–2656. DOI:10.1002/1873-3468.13894.

8. Stanek, G., Reiter, M. (2011). The expanding Lyme *Borrelia* complex—clinical significance of genomic species? *Clinical Microbiology and Infection*.

Vol. 17, no. 4, pp. 487–493. DOI:10.1111/j.1469-0691.2011.03492.x.

9. Hubálek, Z., & Halouzka, J. (1998). Prevalence rates of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasitology research*. Vol. 84, no. 3, pp. 167–172. DOI:10.1007/s004360050378.

10. Piesman, J., Schneider, B.S., & Zeidner, N.S. (2001). Use of quantitative PCR to measure density of *Borrelia burgdorferi* in the midgut and salivary glands of feeding tick vectors. *Journal of clinical microbiology*. Vol. 39, no. 11, pp. 4145–4148. DOI:10.1128/JCM.39.11.4145-4148.2001.

11. Veinović, G., Čakić, S., Mihaljica, D., Sukara, R., Tomanović, S. (2020). Comparison of growth and morphology of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in BSK-H and BSK-II media stored for prolonged periods. *Apmis*. Vol. 128, no. 10, pp. 552–557. DOI:10.1111/apm.13069.

12. Kučerová, H. L., Žáková, A., Marková, J., & Bártová, E. (2019). Detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* s.l. in wild small mammals and sensitivity of PCR and cultivation. *Veterinary microbiology*. Vol. 230, pp. 241–243. DOI:10.1016/j.vetmic.2019.02.004.

13. Panteleienko, O., Tsarenko T. (2022). Vyvchennia ta porivniannia indeksu shchilnosti zaselennia ik-sodovymy klishchamy riznykh biotopiv Kyivskoi ta Cherkaskoi oblasti [Study and comparison of population density indices of Ixodes ticks of different biotopes of Kyiv and Cherkasy regions]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. Vol. 1, pp. 63–71. (in Ukrainian) DOI:10.33245/2310-4902-2022-173-1-63-71.

14. Marconi, R.T., Garon, C.F. (1993). Development of Polymerase Chain Reaction Primer Sets for Diagnosis of Lyme Disease and for Species-Specific Identification of Lyme Disease Isolates by 16S rRNA Signature Nucleotide Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 31, no. 4, 1026 p.

15. Levytska, V.A., Mushinsky, A.B., Zubrikova, D. (2021). Detection of pathogens in ixodid ticks collected from animals and vegetation in five regions of Ukraine. *Ticks and Tick-borne Diseases*. Vol. 12, no. 1. DOI:10.1016/j.ttbdis.2020. 101586.

16. Demaerschalck, I., Ben Messaoud, A., et al. (1995). Simultaneous presence of different *Borrelia burgdorferi* genospecies in biological fluids of Lyme disease patients. *Journal of clinical microbiology*. Vol. 33, no. 3, pp. 602–608. DOI:10.1128/jcm.33.3.602-608.1995.

17. Guttman, D.S., Wang, P.W., Wang, I.N., Bosler, E.M., Luft, B.J., Dykhuizen, D.E. (1996). Multiple infections of *Ixodes scapularis* ticks by *Borrelia burgdorferi* as revealed by single-strand conformation polymorphism analysis. *Journal of clinical microbiology*. Vol. 34, no. 3, pp. 652–656. DOI:10.1128/jcm.34.3.652-656.1996.

18. Doshi, R., Day, P.J., Carampin, P., Blanch, E., Stratford, I.J., Tirelli, N. (2010). Spectropho-

metric analysis of nucleic acids: oxygenation-dependant hyperchromism of DNA. *Analytical and bioanalytical chemistry*. Vol. 396, no. 6, pp. 2331–2339. DOI:10.1007/s00216-010-3461-x.

19. Ishchenko, V.D., Voloshchuk, N.M., Sterlikova, O.M., Humenyuk, L.V., Sklyar, V.V., Kalakailo, L.I., Ishchenko, A.Ya., Ishchenko, L.M. (2019). Vnutrishnolaboratorna aprobatsiia praimeriv dlia molekuliarno-henetychnoi identyfikatsii hrybiv rodu *Fusarium Link* [Interlaboratory aprobatation of primers for molecular genetic identification of *Fusarium link* fungus]. *Naukovi dopovidi Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy* [Scientific Bulletin of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine]. Vol. 6, no. 82. (in Ukraine) DOI:10.31548/dopovidi2019.06.017.

20. Okeyo, M., Hartberger, C., Margos, G., Straubinger, R.K., Sing, A., Fingerle, V. (2019). Comparison of methods for economic and efficient tick and *Borrelia* DNA purification. *Ticks and tick-borne diseases*. Vol. 10, no. 5, pp. 1041–1045. DOI:10.1016/j.ttbdis.2019.05.002.

21. Rogovskyy, A., Batool, M., Gillis, D.C. (2018). Diversity of *Borrelia spirochetes* and other zoonotic agents in ticks from Kyiv, Ukraine. *Ticks and tick-borne diseases*. Vol. 9, no. 2, pp. 404–409. DOI:10.1016/j.ttbdis.2017.12.006.

#### **Application of polymerase chain reaction method for detection of tick-borne borreliosis pathogens Panteleienko O., Tsarenko T.**

Determination of the infection rate of ixodid ticks with tick-borne borreliosis pathogens and determination of belonging to the pathogenic genotype by PCR is an important component for monitoring, risk assessment and control of the epizootic situation of Lyme borreliosis in different territories.

The results of testing and optimization of the internal laboratory protocol of the classical polymerase chain reaction for the identification of Lyme disease pathogens are presented. Eight samples of extracted DNA from ixodid ticks collected from vegetation in the forest park tract "Golendernya", Bila Tserkva, Kyiv region, were examined by classical PCR. Samples were formed from pools of ten tick specimens: seven pools - ticks of the genus *I. ricinus* and one pool - ticks of the genus *D. reticulatus*. For detection of borrelia DNA, primer sets were used to detect DNA of *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex; *Borrelia burgdorferi* and pathogenic borrelia: *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii*.

The protocol for nucleic acid extraction from ticks was modified using the commercial IndiSpin Pathogen Kit. Optimization of amplification temperature conditions was carried out by the annealing temperature gradient method for each primer pair.

Based on the results of the study, internal laboratory protocols for classical PCR using specific oligonucleotide primers were developed. It was found that in each

of the pools of *I. ricinus* and *D. reticulatus* there were infected tick specimens with the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex and *Borrelia afzelii* genus, and also identified the *Borrelia burgdorferi sensu stricto* genus in one of the pools of *I. ricinus* and *D. reticulatus*, DNA of the *Borrelia garinii* genus was not detected.

The developed internal laboratory protocols of classical PCR will be further used to study the infection of ixodid ticks with tick-borne borreliosis pathogens: *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia afzelii*.

**Key words:** Lyme borreliosis, Ixodes ticks, polymerase chain reaction, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*.



Copyright: Пантелеєнко О.В., Царенко Т.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.



ORCID iD:

Пантелеєнко О.В.

Царенко Т.М.

<https://orcid.org/0000-0002-4311-9680>

<https://orcid.org/0000-0003-4373-5958>

## МІКРОБІОЛОГІЯ, ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 636.09:579615.33

### Проблема антибіотикорезистентності мікроорганізмів в Україні та світі

Чемеровська І.О. , Рубленко І.О. 

Білоцеківський національний аграрний університет

✉ Чемеровська І.О. chemerovska.i.o@ukr.net; Рубленко І.О. rublenkoi@meta.ua



Чемеровська І.О., Рубленко І.О. Проблема антибіотикорезистентності мікроорганізмів в Україні та світі. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 33–41.

Chemerovska I., Rublenko I. The problem of antibiotic resistance of microorganisms in Ukraine and the world *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 33–41.

Рукопис отримано: 14.12.2022 р.

Прийнято: 22.12.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-33-41

Здебільшого антибіотикорезистентність розвивається через неправильне використання антибіотиків у різних галузях тваринництва як під час лікування чи профілактики захворювань, так і за тривалого використання їх як стимуляторів росту. Внаслідок цього, зростають витрати на лікування сільськогосподарських тварин та тварин-компаньйонів. Стійкість серед мікроорганізмів до антибіотиків є загрозою для кожної людини, пацієнта, медичного та ветеринарного працівника. Водночас це значний виклик для галузі охорони здоров'я, ветеринарії та сільського господарства загалом. Вирішити проблему резистентності досить складно, адже вона не є односторонньою.

Препарати, які ще декілька років тому були ефективними, сьогодні втрачають свої позиції, а їх використання вимушено обмежують. Згідно з даними Всесвітньої Організації Охорони здоров'я, швидке підвищення стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів загрожує здобуткам науки, зробленим вченими протягом останніх 50–70 років.

Формування антибіотикорезистентності зумовлено генетичними властивостями мікроорганізмів, внаслідок набуття ними нової генетичної інформації, або завдяки зміні рівня експресії власних генів бактеріальної клітини. Важливим чинником контролювання поширення антибіотикорезистентності є фармакодинамічне обґрунтування режимів дозування антибактеріальних препаратів та використання їх для конкретних мікроорганізмів.

На сьогодні наявні керівні документи, які контролюють та рекомендують достовірність визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків, зокрема – методичні рекомендації європейської організації EUCAST, дані та матеріал яких періодично (щорічно) оновлюються. Ці документи розробляють здебільшого для звичайного використання в клінічних лабораторіях, які не охоплюють технічні процедури ідентифікації механізмів резистентності на молекулярному рівні. Однак, значну частину наведених даних, досліджень з визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків, виконують у національних референс-лабораторіях. Існує зміна чутливості мікрофлори до антибіотиків, яку не охоплює скринінг мультирезистентних мікроорганізмів, або прямого виявлення резистентності в клінічних зразках. Тому вивчення проблеми залишається актуальним та доцільним.

**Ключові слова:** мікроорганізми, резистентність, антибіотики, грампозитивні бактерії, грамнегативні бактерії, контроль, захворювання, поширення, проблема, лікування, тварини.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Резистентні до антибактеріальних препаратів бактерії на сьогодні є однією із глобальних загроз здоров'ю не лише для тварин, а й для людей. Саме ці мікроорганізми, незалежно від їх мікроскопічних розмірів, зумовлюють захворювання, загибель, економічні збитки у різних країнах.

З метою зниження резистентності та зменшення поширення антибіотикорезистентних збудників захворювань, людство зобов'язане вживати низку заходів із використанням перевірених, надійних стратегій, передових технологій дослідження [1, 2] та розробляти нові препарати.

З часу створення антибактеріальних препаратів (початок 20 ст.) кількість захворювання та смертність зменшилася в рази [3]. Однак, через неправильне застосування та надмірне призначення антибактеріальних препаратів, значна кількість мікроорганізмів адаптувалися та набули стійкості до антибіотиків 1-го, 2-го і 3-го покоління.

Мікроорганізми здатні передавати інформацію про стійкість до антибіотиків через горизонтальну передачу генів (під час безпосереднього контакту однієї бактерії з іншою). Одним із способів передачі генетичної інформації про резистентність до антибактеріальних препаратів є бактерійні плазміни – невеликі дволанцюгові кільцеподібні молекули ДНК, що містяться у мікробній клітині окремо від хромосоми і здатні до реплікації. У природних умовах плазмідні включають гени, що відповідають за стійкість бактерій до дії несприятливих чинників навколишнього середовища, а оскільки антибіотики також є зовнішніми чинниками, то гени резистентності можуть локалізуватись саме у плазмідах.

Постійно реєструють зростання резистентності до антибіотиків серед бактерій родин *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Salmonella spp.* та ін.), *Saccharomycetaceae* (*Candida spp.*), *Campylobacteriaceae* (*Campylobacter spp.*) тощо. Зустрічаються *Enterobacteriaceae*, які стійкі майже до всіх препаратів, зокрема до карбапенемів. Розвиток стійкості серед бактерій сприяє поширенню інфекцій, які зумовлюють проблеми в системі охорони здоров'я та у ветеринарній практиці. Лікування тварин, інфікованих резистентними ізолятами є обмеженим, інколи недоступним, довготривалим, дорогим і шкідливим для організму. Зростання виділення резистентних патогенів серед населення зумовлює обмежене використання антибіотиків у ветеринарній практиці. Оскільки виникають проблеми не лише в медичних

установах, а також у стадах, де відбувається швидке поширення стійких мікроорганізмів до протимікробних препаратів.

**Метою дослідження** було вивчити проблему антибіотикорезистентності мікроорганізмів в Україні та світі.

**Матеріалом** для дослідження слугували публікації вчених.

**Результати дослідження.** Практикуючі лікарі, вчені, а також експерти в галузі охорони здоров'я мають єдине бачення щодо виникнення глобальної загрози людству, яка основана на стрімкому розвитку стійкості у мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Слід зауважити, що використання антибактеріальних препаратів у 2020–2022 рр. в Україні та світі зросло у 2 рази. Деякі вчені пов'язують це із поширенням інфекційних захворювань, зокрема корона-вірусної пандемії. Відбулося різке збільшення кількості використання антибіотиків, які застосовували з метою запобігання нашарування бактеріальної мікрофлори на збудник вірусної етіології (з метою знищення бактерій, оскільки на вірус антибіотики не діють). На початку виникнення нового захворювання вірусної етіології, лікарі радили використовувати антибактеріальні препарати, але наразі від цієї практики відмовилися, оскільки було встановлено, що лише у 3,5 % людей може бути бактеріальна ко-інфекція, серед госпіталізованих в середньому – 13 %, у реанімації – 30 %. За даними вчених, щорічно у 10 мільйонів пацієнтів антибіотикорезистентність спричинює смертність серед людей, внаслідок резистентності збудників [1].

Органи ветеринарної медицини, охорони здоров'я, постачальники медичних та ветеринарних послуг застосовують багатофункціональний підхід щодо контролювання антибактеріальної стійкості. Зокрема це навчання, профілактика, лікування, управління спалахом, відстежування та статистична обробка, аналіз. До профілактики належать: проведення інфекційного контролю, скринінгове і активне спостереження, дотримання гігієнічних вимог, наявність програми управління антибактеріальними препаратами, проведення екологічного контролю.

До лікування: диференціація бактерій від вірусів, прийняття обґрунтованого рішення щодо застосування того чи іншого антибіотика, наявність швидких тестів, достовірність ідентифікації мікроорганізму, правильність визначення чутливості культури до антибіотиків, наявність гнучких методів тестування для різних як ветеринарних так і медичних випадків, легкість читання та інтерпретації отриманих результатів.

До питань управління та відстежування спалахів: швидке виявлення механізмів опору, відстежування епідеміологічних даних, наявність інформації та швидкість її отримання.

До питань освіти відносять, насамперед, спільні дії на місцевому, національному, міжнародному рівнях, наявність безперервної освіти для медичних та ветеринарних працівників, доступність навчання.

Окремим питанням є наявність економічної спроможності для кожного перерахованого вище пункту. Відсутність одного з наведених пунктів може призвести до ще більшого поширення резистентних збудників. Адже в історії відомі випадки, коли інфекційні агенти зупиняли армії та були причиною військових поразок (іспансько-американська війна, 1898 р., *Salmonella typhi*; Перша світова війна 1914–1918 рр., *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *M. tuberculosis*, *Salmonella typhi*; війна у В'єтнамі, 1969–1975 рр., *Vibrio cholerae*; у Перській затоці, 1991 р., збудники шлунково-кишкових захворювань). Вирішенням цієї проблеми на сьогодні, ймовірно, є розробка і впровадження нових антибактеріальних препаратів, або створення нових методів контролювання розповсюдження резистентності мікроорганізмів до препаратів, що нині застосовує людство. Відомо, що рівні резистентності різних мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів мають відмінності, залежно від регіону. Тому, насамперед, важливою є оцінка сучасного стану антибіотикорезистентності поширених збудників на території не лише тієї чи іншої держави, а також області, чи окремого населеного пункту.

На жаль, абсолютно нереальним видається розв'язання цієї проблеми і в нинішньому столітті, оскільки мікроорганізми та їх швидкий розвиток резистентності мають значні переваги над виробництвом нових препаратів, зокрема антибіотиків. Бактерії надзвичайно швидко розмножуються, що сприяє селекції штамів з медикаментозною стійкістю. Внаслідок цього антимікробні препарати є класом лікарських засобів, активність яких з часом знижується через розвиток резистентності у мікроорганізмів. Водночас, зниження активності впливу препаратів, яке зумовлено антибіотикорезистентністю, призводить до змін уявлень про доцільність виготовлення та застосування, лікування сучасними лікарськими засобами.

На сьогодні антибіотикорезистентність мікроорганізмів, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), є однією із сучасних та небезпечних загроз для здоров'я всього людства. Стійкість бактерій до антибіотиків зростає та змінюється з кожним роком.

Причиною зростання резистентності серед бактеріальних патогенів у світі стало безконтрольне застосування антибіотиків, надмірне використання препаратів не лише у медицині і ветеринарії, а також сільському господарстві. Внаслідок цього вчені зареєстрували потрапляння залишків антибіотиків у навколишнє середовище, зокрема в ґрунт та воду. За даними науковців, для захисту від антибіотикостійких бактерій щорічно застосовують 300 тис. тонн антибіотиків [4, 5].

Резистентні бактерії вижили за природного чи штучного відбору, частота яких зростає в усіх верствах суспільства і в усіх групах тварин земної кулі. Нераціональний та непрофесійний підходи до призначення і застосування антибіотиків призвели до виникнення серед окремих штамів нових патогенів із високою стійкістю до антибактеріальних препаратів. Проблема резистентності, що виникла на рівні світу, справедливо вчені назвали «апокаліпсисом ХХ століття» [5]. На жаль, сьогодні вкрай тяжке становище в Україні. На території нашої держави немає систематизованих даних щодо розповсюдження антибіотикорезистентності серед мікроорганізмів, які одночасно поширені серед диких, сільськогосподарських та тварин-компаньйонів. Крім того, особливо у період військового часу, існує високий ризик застосування ворогом резистентних, вірулентних, стійких у зовнішньому середовищі штамів як біологічної зброї, для яких відсутні засоби специфічної профілактики та лікування.

Здебільшого інфекційні хвороби тварин нині займають значну частку від усієї кількості захворювань. В Україні, як і в усьому світі, поширена значна кількість мікроорганізмів, які спричиняють захворювання й призводять до суттєвих економічних збитків у тваринництві [6–8]. Особливо актуальним на часі є питання щодо вивчення резистентності бактеріальних збудників сибірки, туляримії, сапу, мелоїдозу, сальмонельозу, туберкульозу, дизентерії, *E. coli* O157:H7, мікроорганізмів групи *Staphylococcus*, *Proteus*, груп мікробного генезу [9]. Саме групи мікроорганізмів можуть слугувати патогенами та деструкторами клонованими хімерами, які несуть ще більшу небезпеку як для тварин так і людей.

Вивчення змін механізмів чутливості, чи фенотипової стійкості мікроорганізмів до препаратів є необхідним і важливим аспектом для клінічних досліджень та лікування хворих. Наразі у мікроорганізмів є «фактор стійкості» до антибактеріальних препаратів, до якого належить синтез ферментів групи карбапенемази. До цієї групи входять: *Escherichia coli*,

*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* та ін.

У 1990-х роках у кількох країнах Середземномор'я виявляли резистентність, переважно у *Pseudomonas aeruginosa*. На початку 2000-х років Греція пережила епідемію веронської інтегрон-кодованої металоβ-лактамази *Klebsiella pneumoniae*, за якою поширилася епідемія, пов'язана з карбапенемазою. Фермент карбапенемазу синтезують переважно грамнегативні мікроорганізми, які гідролізують (руйнують бета-лактамане кільце) антибіотиків, зокрема пеніциліну, цефалоспирину, карбапену. До останнього часу групи карбапенем були препаратами вибору для лікування небезпечних для життя інфекцій. На сьогодні, синтез карбапенемази ОХА-48 у мікроорганізмів становить найшвидше зростання та поширення в Європі. Зокрема лише у Греції та Італії близько 62 і 33 %, відповідно, виявляють патогенні *K. pneumoniae*, які наразі нечутливі до карбапенемів. У 2015 році 13 із 38 країн повідомляли про міжрегіональне поширення, або ендемічну ситуацію, для бактерій *Enterobacteriaceae*. Лише три країни повідомили, що вони не виявили жодного випадку інфікування цими резистентними патогенами [9].

Дослідники встановили зростання поширеності в світі бактеріальної та змішаної етіології пневмоній у тварин, здебільшого причиною яких є патогенна (вневмококи) та умовно-патогенна мікрофлора [10]. За даними Christian G. Giske, Luis Martinez Martinez та інших науковців, близько 3 млн людей щорічно помирають від пневмококової інфекції. Це пов'язують із чутливістю низького рівня бактерій до антибіотиків, що зумовлює підвищену смертність. Зазначимо, що зазвичай менінгіт лікують бензилпеніциліном, із застосуванням вищих доз, це сприяє підвищенню чутливості до препарату у патогенів. З метою вирішення цієї проблеми, на сьогодні багато країн здійснюють програми вакцинації від кількох серотипів пневмококів і це може в майбутньому позитивно вплинути на резистентність завдяки її зниженню [9].

Однак є пеніцилінонечутливі *S. pneumoniae*, які надалі залишаються серйозною клінічною проблемою, з погляду громадського здоров'я та ветеринарної медицини. Резистентні мікроорганізми поширені в закладах охорони здоров'я, ветеринарних клініках, на відміну від багатьох інших збудників. Водночас проблема полягає в тому, що їх кількість поступово зростає [11].

У європейських країнах (Франція та ін.) проводять мікробіологічний скринінг чутливості мікроорганізмів до антибіотиків. Наприклад, результати щодо чутливості до таких

препаратів як цефотаксиму та цефтазидиму були призначені лише для цілей громадського здоров'я та інфекційного контролю за *E. coli* та *K. pneumoniae*. Скринінг щодо визначення карбапенемаз у *E. coli* та *K. pneumoniae* для епідеміологічних цілей є лише частиною визначення чутливості до антибіотиків. Керівництво організації Європейського комітету з визначення чутливості (EUCAST) проводить постійний моніторинг та вивчає механізми резистентності в світі, зокрема специфічної резистентності. Їх дані та рекомендації мають практичне клінічне і епідеміологічне значення щодо використання методик швидкого та точного визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків [12]. Система EUCAST на сьогодні визнана найдосконалішою всіма експертами організацій ВООЗ та Євросоюзу [7, 12].

У зв'язку з наявністю різних граничних значень за визначення чутливості бактерій до антибіотиків, застосуванням різних доз та накопиченням препаратів у різних концентраціях у тканинах тварин, у 2015 р. був створений підкомітет VetCAST (ветеринарний комітет визначення чутливості до антимікробних засобів) у складі EUCAST (Європейського комітету визначення чутливості до антимікробних засобів), який займається аспектами визначення антимікробної чутливості серед бактеріальних патогенів тваринного походження та тваринних збудників із зоонозним потенціалом. Його стратегія полягає в розробці глобальних стандартів тестування, визначенні антимікробної чутливості у бактеріальних збудників тваринного походження. Для цього проводять спільну роботу, яка основана на визнанні європейськими регуляційними органами: ЕМА (Європейське медичне агенство), ECDC (Європейський центр профілактики та контролю захворювань) і EFSA (Європейське агенство з безпеки продуктів харчування). З цією метою розроблено документ "Обґрунтування для клінічних контрольних точок" [13], в якому наведені результати визначення чутливості анонімними лабораторіями, з врахуванням доз, концентрацій накопичення препаратів у рідинах, МІК (мінімальної інгібуючої концентрації) та епідеміологічних граничних значень (мг/л) до антибіотиків таких патогенів як *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter aerogenes* та ін.

За даними авторів P. Lees, J. Шlambas та ін. [14–17] серед тварин відбувається поширення *M. haemolytica* та *P. multocida*, які спричиняють пневмонії з летальним завершенням захворювання. Вивчаючи питання зв'язування окситетрацикліну з білком сироватки *in vitro*, вчені довели наявність взаємозалежної знижувальної

дії антибактеріальних препаратів, що основане на пригніченні руйнівної дії окситетрацикліну сироватковими факторами тварин.

Крім того, все частіше стали виділяти ізоляти *Proteus mirabilis* за бактеріальних захворювань собак [18]. Вчені стверджують, що це найпоширеніший Кірбі-Бауера, встановлено стійкість до цефазоліну (75 %), триметоприму, сульфаметоксазолу (72 %), хлорамфеніколу (72 %), амоксицилін-клавуланату (63 %), ампіциліну (59 %), цефепіму (56 %), ципрофлоксацину (53 %), азтреонаму (50 %), цефтазидим авібактаму (50 %), гентаміцину (22 %) та амікацину (16 %). Водночас було виявлено, що 75 % поширених ізолятів є мультирезистентними бактеріями. Mausem Abd AL-Jassem Abbas зі співавторами довели 100 % стійкість до амоксициліну та цефотаксиму, 64,28 – амікацину, 50 – цефтазидиму, 28,57 – меропенему та 14,28 % – імепенему [19].

У 2013 р. стало відомо про бактерію *Staphylococcus pseudintermedius*, яка була ідентифікована як новий вид, у межах роду *Staphylococcus*. Цей мікроорганізм асоціюється з інфекціями шкіри та м'яких тканин у собак. На сьогодні зареєстровано кілька повідомлень про інфікування людей цією бактерією від собак. Небезпечність полягає у її резистентності до метициліну (22,2 %) та багатьох інших лікарських засобів [20].

Диверсифікація дослідницьких підходів і меж, за допомогою яких відбувається використання антибіотиків з метою лікування тварин-компаньйонів, є важливою рушійною силою антимікробної резистентності, що відображається на здоров'ї власника [21–22].

Виявлена також резистентність патогенів до антибактеріальних препаратів, виділених від свиней. Ізоляти *Streptococcus suis* від клінічно хворих свиней часто мають вищу поширеність резистентності, порівняно з ізолятами від здорових свиней, до тетрацикліну (84,2 %), тіамуліну (65,2 %) і спектиноміцину (40,4 %) [23].

Дослідники [24] стверджують, що більшість антибіотиків, вироблених у всьому світі, використовують для тваринництва. Тому для контролювання стійкості до антибіотиків у глобальному масштабі зокрема для ВРХ. Розроблена позначка сертифікованого відповідального використання антибіотиків (CRAU), яку нині застосовують у птахівництві. За даними вченого Robert Charles Schell [25], “позначка сертифікованого відповідального використання антибіотиків” (CRAU) обмежує використання важливих для медицини препаратів, що застосовують у птахівництві [24]. Це можливо приведе в майбутньому до значного зниження використання антибіотиків у світі.

Кількість штамів, які резистентні до одного антимікробного препарату, на сьогодні, за середньою оцінкою становить 70,7 %, до антибіотиків 2–3 класів – 37,5 % (*S. Aureus* – 31,4 %, *E. faecalis* – 37,5 %, *E. coli* – 34,9 %, *Enterobacter spp.* – 47,3 %, *P. aeruginosa* – 67,8 %), до антибіотиків 4 і більше класів – 34,4 % (*S. aureus* – 25,9 %, *E. faecalis* – 31,0 %, *E. coli* – 26,3 %, *Enterobacter spp.* – 30,3 %, *P. aeruginosa* – 50,2 %), до всіх антибактеріальних засобів – 29,6 %. Слід звернути увагу на зростання резистентності серед *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* [26–28].

**Обговорення.** Важливими заходами контролювання поширення антибіотикорезистентності також є фармакодинамічне обґрунтування дозування, використання, застосування локальних даних про антибіотикорезистентність мікроорганізмів у межах відділення, клініки. Водночас важливе значення має взаємодія мікробіологів, клінічних епідеміологів, фармакологів, їх даних щодо інфекційного контролю [28–34].

Стійкість до антимікробних препаратів – це глобальна проблема, яка виникла серед людей, тварин, рослин і навколишнього середовища, оскільки загрожує ефективному лікуванню бактеріальних інфекцій за допомогою антимікробних засобів. Контролювання та зниження рівня резистентності клінічно значимих патогенів до найбільш часто застосовуваних препаратів можливі лише за комплексного підходу до вирішення проблеми. Водночас, застосування у молочному тваринництві та птахівництві етикетки (RAU) викликає різні погляди у споживачів, оскільки відмова від застосування антибіотиків за вирощування тварин і птиці призводить (на сьогодні) до підвищення показника собівартості продукції [35].

**Висновки.** Аналізуючи інформацію, що доступна на сьогодні, стосовно проблеми антибіотикорезистентності, можна зробити наступні висновки: в нашій країні, як і загалом у світі зростає кількість антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів; лікування інфекцій, які зумовлені такими збудниками, створює значну медичну та економічну проблему; моніторинг формування антибіотикорезистентності у патогенів, які спричиняють інфекційні захворювання тварин на сьогодні недостатній; способи подолання розвитку антибіотикорезистентності серед збудників інфекційної патології і ускладнень необхідно удосконалювати та вивчати на рівні ветеринарних клінік. Отримані теоретичні дані обґрунтовують перспективність вивчення проблеми антибіотикорезистентності мікроорганізмів в Україні в межах ветеринарних клінік та господарств.

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори (Чемеровська І.О., Рубленко І.О.) статті “Проблема антибіотикорезистентності мікроорганізмів в Україні та світі” стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження. Матеріали статті можуть бути опубліковані.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Пеньков. А. (2020). Чим загрожує безконтрольний прийом ліків. Здоров'я. 11 (online). (Дата звернення 30 листопада). URL:lb.ua/society/2020/11/30/471854\_likar\_andriy\_penkov\_pro\_antibiotiki.html.

2. Свіжак В.К., Дейнека С.С. (2014). Антибіотикорезистентність: багатогранність проблеми. Буковинський державний медичний університет. 2014. № 2. С. 222–224. URL:www.researchgate.net/profile/Veronika-Svizhak/publication/315075342.

3. Ferri M., Ranucci E., Romagnoli P., Giaccone V. (2017). Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. (online). 2017. 57. P. 2857–2876. DOI:10.1080/10408398.2015.1077192.

4. Ruzantel J.M., Harris B., Plummer P. Surveillance of antimicrobial resistance in veterinary medicine in the United States: Current efforts, challenges, and opportunities. Sec. Veterinary Infectious Diseases. 2022. DOI:10.3389/fvets.2022

5. Антибіотикорезистентність умовно-патогенних мікроорганізмів: Актуальність, умови виникнення, шляхи подолання/Л.Б. Романюк та ін. Інфекційні хвороби. 2019. 3. С. 63–71. DOI:10.11603/1681-2727.2019.4.10965.

6. Андреева І.А., Чемерис О.Л. Роль мікробіологічної лабораторії в системі глобальної безпеки охорони здоров'я. Антибактеріальна терапія у XXI сторіччі: проблеми та досягнення: матеріали науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів в рамках реалізації глобальної кампанії ВООЗ «Антибіотики: використовуйте обережно!» та Другого Всесвітнього тижня правильного застосування антибіотиків. 2016. С. 4–7. URL:repo.knmu.edu.ua/bitstream/123456789/14899/1/C%D0%B1%D0%BE%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA\_%D0%90%D0%BD%D1%82%D0%.pdf.

7. Боровик І.В. Аналіз антибіотикорезистентності збудників бактеріальних захворювань тварин у Дніпропетровській області. Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. 2016. № 3. С. 49–53. URL:www.irbis-nbu.gov.ua/cgi-bin/irbis\_nbu/cgiirbis\_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21ST0.

8. Салманов А. Боротьба з антимікробною резистентністю: план дій України. Інфекційний контроль. 2019. № 11. URL:e.med-info.net.ua/praktika-upravlinnya-medichnim-zakladom-2019-11/borotba-z-antimikrobnouy-rezistentnistyu-plan-diy.

9. Giske C.G., Martinez L.M., Cantón R. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological

importance. 2017. Version 2.01. July. 43 p. URL:https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\_files/Resistance\_mechanisms/EUCAST\_detection\_of\_resistance\_mechanisms\_170711.pdf.

10. Dear J.D. (2020). Bacterial Pneumonia in Dogs and Cats. Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract (online). 2020. no. 50. 2. P. 447–465. DOI:10.1016/j.cvsm.2019.10.007.

11. Weiser J.N., Ferreira D.M., Paton J.C. Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion. Nat. Rev. Microbiol (online). 2018. no. 16. 6. P. 355–367. DOI:10.1038/s41579-018-0001-8.

12. Giske C.G., Martinez L.M., Cantón R. (2017). EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance (online). 2017. Version 2.01. 43 p. URL:www.eucast.org/resistance\_mechanisms.

13. VetCAST. Guideline VetCAST PK analysis. Guideline to collect, archive, handle and analyse pharmacokinetic data for VetCAST (online). 2018. URL:www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\_files/VetCAST/VetDocuments/2018/Guideline\_to\_collect\_handle\_and\_analyse\_PK\_data\_DRAFT7.pdf

14. Lees P., Illambas J., Pelligand L., Toutain P.L. Comparison of standardised versus nonstandardised methods for testing the in vitro potency of oxytetracycline against Mannheimia haemolytica and Pasteurella multocida. Vet J. Dec. (online). 2016. 218. P. 60–64. DOI:10.1016/j.tvjl.2016.11.006. Epub 2016 Nov 17.

15. Lees P., Potter T., Pelligand L., Toutain P.L. Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration and modelling of oxytetracycline for the calf pathogens Mannheimia haemolytica and Pasteurella multocida. J. Vet. Pharmacol. Ther. (online). 2018. no. 41. 1. P. 28–38. DOI:10.1111/jvp.12439.

16. En Route towards European Clinical Breakpoints for Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing: A Position Paper Explaining the VetCAST/ P.L. Toutain et al. Approach. Front Microbiol. (online). 2017. no. 15. 8. 2344 p. DOI:10.3389/fmicb.2017.02344.

17. Dorey L., Pelligand L., Cheng Z., Lees P. Pharmacokinetic/ pharmacodynamic integration and modelling of oxytetracycline for the porcine pneumonia pathogens Actinobacillus pleuropneumoniae and Pasteurella multocida. J. Vet. Pharmacol. Ther. (online). 2017. no. 40. 5. P. 505–516. DOI:10.1111/jvp.12385.

18. Antimicrobial Resistance and Virulence Factors of Proteus mirabilis Isolated from Dog with Chronic Otitis Externa/K. Jun et al. Pathogens (online). 2022. 11. P. 1111–1215. DOI:10.3390/pathogens11101215

19. AL-Jassem Abbas M.A., Anwar A.A., AL-Jabar M.A. Molecular Identification using PCR-Technique of Proteus mirabilis Associated with Urinary Tract Infection. Republic of Iraq. Ministry of Higher Education & Scientific Research University of Babylon College of Science Biology Department (online). 2022. 33 p. URL:cp.rdd.edu.iq/sci-day/prizes/graduate\_project/graduate\_project\_ftxt/5ddea2a0e29c05.66382238.pdf.

20. Somayaji R., Priyantha M.A., Rubin J., Church D. Human infections due to Staphylococcus pseudintermedius, an emerging zoonosis of canine origin: re-

port of 24 cases. *Diagn Microbiol Infect Dis.*(online). 2016. no. 85. 4. P. 471–6. DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2016.05.008.

21. Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals/C. Pomba et al. *J Antimicrob Chemother* (online). 2017. no. 72. P. 957–68. DOI:10.1093/jac/dkw481.

22. EMA. Reflection Paper on the Risk of Antimicrobial Resistance Transfer From Companion Animals. London: European Medicines Agency Understanding Antibiotic Use in Companion Animals: A Literature Review Identifying Avenues for Future Efforts/A.C. Tompson et al. *Sec. Veterinary Humanities and Social Sciences* (online). 2015. DOI:10.3389/fvets.2021.719547.

23. Arndt E.R., Farzan A., MacInnes J.I., Friendship R.M. Antimicrobial resistance of *Streptococcus suis* isolates recovered from clinically ill nursery pigs and from healthy pigs at different stages of production. *J. Can Vet.* (online). 2019. no. 60. 5. P. 519–522. URL: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6463947/

24. Cordova M.G. Limiting antibiotics for cows may create a new dairy market. Melanie Greaver Cordova. *College of Veterinary Medicine* (online). 2022. URL: news.cornell.edu/stories/2022/11/limiting-antibiotics-cows-may-create-new-dairy-market

25. Schell R.C. Responsible antibiotic use labeling and consumers willingness to buy and pay for fluid milk. *J. daire sance* (online). 2022. DOI:10.3168/jds.2022-21791

26. Zheng J., Huang S., Huang S. Colistin for pneumonia involving multidrug-resistant *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* (online). 2020. no. 53. 6. P. 854–865. DOI:10.1016/j.jmii.2019.08.007.

27. Lynch J.P., Nina M.C., Zhanel G.G. Infections Due to *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus Complex: Escalation of Antimicrobial Resistance and Evolving Treatment Options. (online). 2022. no. 43. 1. P. 97–124. DOI:10.1055/s-0041-1741019.

28. Koike S., Mackie R., Aminov R. Agricultural Use of Antibiotics and Antibiotic Resistance. School of Medicine and Dentistry, University of Aberdeen, Aberdeen, United Kingdom. (online). 2017. P. 3–33. URL: www.researchgate.net/publication/315613886\_Agricultural\_use\_of\_antibiotics\_and\_antibiotic\_resistance

29. Wollmuth E.M. A Survey of  $\beta$ -lactam Antibiotic Resistance Genes and Culturable Ampicillin Resistant Bacteria in Minnesota Soils. Hamline University (online). 2017. P. 6–28. URL: digitalcommons.hamline.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1068&context=dhp

30. Gurung M., Tamang M.D., Moon D.C. Molecular Basis of Resistance to Selected Antimicrobial Agents in the Emerging Zoonotic Pathogen *Streptococcus suis*. *Journal of Clinical Microbiology* (online). 2015. Vol. 53. no. 7. P. 332–336. DOI:10.1128/JCM.00123-15.

31. Schwendener S., Cotting K., Perreten V. Novel methicillin resistance gene mecD in clinical *Macrococcus caseolyticus* strains from bovine and canine sources. *Sci Rep.* (online). 2017. DOI:10.1038/srep43797

32. WHO. World leaders join forces to fight the accelerating crisis of antimicrobial resistance (online). 2020. P. 1–8. URL: www.who.int/news/item/20-11-2020-world-leaders-join-forces .

33. WHO. Antibiotic resistance threats in the United States (online). 2020. P. 3–5. URL: www.thermofisher.com/procalcitonin/wo/en/home.html?cid=0se\_gaw\_25052021\_DA7MGR

34. Thompson N.D., La Place L., Epstein L. Prevalence of Antimicrobial Use and Opportunities to Improve Prescribing Practices in U.S. Nursing Homes. *Journal of the American Medical Directors Association* (online). 2016. no. 17. 12. P. 1151–1153. URL: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6556772/

35. Responsible antibiotic use labeling and consumers' willingness to buy and pay for fluid milk/R.Ch. Schell et al. *J. Dairy Sci.* 2022. no. 106. P. 132–150. (online). DOI:10.3168/jds.2022-21791

## REFERENCES

1. Penkov. A. (2020). Chym zahrozhzhuie bezkontrolnyi pryiom likiv. *Zdorovia*. 11 (online). (Data zvernennia 30 lystopada) [What are the dangers of uncontrolled medication. *Health*. 11 (online). (Date of application November 30)]. Available at: lb.ua/society/2020/11/30/471854\_likar\_andriy\_penkov\_pro\_antibiotiki.html.

2. Svizhak, V.K., Deineka, S.Ie. (2014). Antybiotyko-rezystentnist: bahatostrannist problemy [Antibiotic resistance: multifaceted problem]. *Bukovynskyi derzhavnyi medychnyi universytet* (online) [Bukovina State Medical University], no. 2, pp. 222–224. Available at: www.researchgate.net/profile/Veronika-Svizhak/publication/315075342.

3. Ferri, M., Ranucci, E., Romagnoli, P., Giaccone, V. (2017). Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* (online), 57, pp. 2857–2876. DOI:10.1080/10408398.2015.1077192.

4. Ruzantel, J.M., Harris, B., Plummer, P. (2022). Surveillance of antimicrobial resistance in veterinary medicine in the United States: Current efforts, challenges, and opportunities. *Sec. Veterinary Infectious Diseases*. DOI:10.3389/fvets.2022

5. Romaniuk, L.B., Kravets, N.Ia., Klymniuk, S.I., Kopcha, V.S., Dronova, O.I. (2019). Antybiotyko-rezystentnist umovno-patohennykh mikroorhanizmiv: aktualnist, umovy vynyknennia, shliakhy podolannia [Antibiotic resistance of opportunistic pathogens: Relevance, conditions of occurrence, ways to overcome]. *Infektsiini khvoroby.* (online) [Infectious diseases]. 3, pp. 63–71. DOI:10.11603/1681-2727.2019.4.10965.

6. Andrieieva, I.A., Chemerys, O.L. (2016). Rol mikrobiolohichnoi laboratorii v systemi hlobalnoi bezpeky okhorony zdorovia [The role of the microbiological laboratory in the system of global health security]. *Antybakterialna terapiia u KhKhI storichchi: problemy ta dosiahnennia: materialy naukovopraktychnoi konferentsii za uchastiu mizhnarodnykh spetsialistiv v ramkakh realizatsii hlobalnoi kampanii VOOZ «Antybiotyky: vykorystovuite oberezhno!» ta Druhoho Vsesvitnoho tyzhnia pravylnoho zastosuvannia antybiotykyv* [Antibacterial therapy in the 21st century: problems and achievements: materials of a scientific and practical conference with the participation of international specialists within the framework of the WHO global campaign "An-

tibiotics: use carefully!" and the Second World Antibiotic Week]. pp. 4–7. Available at: [repo.knmu.edu.ua/bitstream/123456789/14899/1/C%D0%B1%D0%BE%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA\\_%D0%90%D0%BD%D1%82%D0%.pdf](http://repo.knmu.edu.ua/bitstream/123456789/14899/1/C%D0%B1%D0%BE%D1%80%D0%BD%D0%B8%D0%BA_%D0%90%D0%BD%D1%82%D0%.pdf).

7. Borovyk, I.V. (2016). Analiz antybiotykozystentnosti zbudnykiv bakterialnykh zakhvoriuvan tvaryn u Dnipropetrovskii oblasti [Analysis of antibiotic resistance of pathogens of bacterial diseases of animals in the Dnipropetrovsk region]. *Naukovo-tekhnichnyi biuletен NDTs biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK* (online) [Scientific and technical bulletin of the NDC of biosafety and ecological control of agricultural resources]. no. 3, pp. 49–53. Available at: [www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_64.exe?I21DBN=LINK&P21\\_DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21ST0](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21_DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21ST0).

8. Salmanov, A. (2019). Borotba z antimikrobnou rezystentnistiu: plan dii Ukrainy [Combating antimicrobial resistance: action plan of Ukraine]. *Infektsiyni kontrol* (online) [Infection control]. no. 11. Available at: [e.med-info.net.ua/praktika-upravlinnya-medichnim-zakladom-2019-11/borotba-z-antimikrobnou-rezistentnistyu-plan-diy](http://e.med-info.net.ua/praktika-upravlinnya-medichnim-zakladom-2019-11/borotba-z-antimikrobnou-rezistentnistyu-plan-diy).

9. Giske, C.G., Martinez, L.M., Cantón, R. (2017) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance (online). Version 2.01. July. 43 p. Available at: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Resistance\\_mechanisms/EUCAST\\_detection\\_of\\_resistance\\_mechanisms\\_170711.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf).

10. Dear, J.D. (2020). Bacterial Pneumonia in Dogs and Cats. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract* (online). no. 50, 2, pp. 447–465. DOI:10.1016/j.cvsm.2019.10.007.

11. Weiser, J.N., Ferreira, D.M., Paton, J.C. (2018). *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nat. Rev. Microbiol* (online). no. 16, 6, pp. 355–367. DOI:10.1038/s41579-018-0001-8.

12. Giske, C.G., Martinez, L.M., Cantón, R. (2017). EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance (online). Version 2.01. 43 p. Available at: [www.eucast.org/resistance\\_mechanisms](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms).

13. VetCAST. (2018). Guideline VetCAST PK analysis. Guideline to collect, archive, handle and analyse pharmacokinetic data for VetCAST (online). Available at: [www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/VetCAST/VetDocuments/2018/Guideline\\_to\\_collect\\_handle\\_and\\_analyse\\_PK\\_data\\_DRAFT7.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/VetCAST/VetDocuments/2018/Guideline_to_collect_handle_and_analyse_PK_data_DRAFT7.pdf)

14. Lees, P., Illambas, J., Pelligand, L., Toutain, P.L. (2016) Comparison of standardised versus nonstandardised methods for testing the in vitro potency of oxytetracycline against *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida*. *Vet J. Dec.* (online), 218, pp. 60–64. DOI:10.1016/j.tvjl.2016.11.006. Epub 2016 Nov 17.

15. Lees, P., Potter, T., Pelligand, L., Toutain, P.L. (2018). Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration and modelling of oxytetracycline for the calf pathogens *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida*. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*(online), no. 41, 1, pp. 28–38. DOI:10.1111/jvp.12439.

16. Toutain, P.L., Bousquet-Mélou, A., Damborg, P., Ferran, A.A., Mevius, D., Pelligand, L., Veldman, K.T., Lees, P. (2017). En Route towards European Clinical Breakpoints for Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing: A Position Paper Explaining the VetCAST Approach. *Front Microbiol.*(online), no. 15, 8, 2344 p. DOI:10.3389/fmicb.2017.02344.

17. Dorey, L., Pelligand, L., Cheng, Z., Lees, P. (2017). Pharmacokinetic/pharmacodynamic integration and modelling of oxytetracycline for the porcine pneumonia pathogens *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida*. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* (online), no. 40, 5, pp. 505–516. DOI:10.1111/jvp.12385.

18. Jun, K., Myoung-Hwan, Y., Hyoung-Joon, Ko., Sang-Guen, Kim., Chul, Park., Se-Chang, Park (2022). Antimicrobial Resistance and Virulence Factors of *Proteus mirabilis* Isolated from Dog with Chronic Otitis Externa. *Pathogens* (online), 11, pp. 1111–1215. DOI:10.3390/pathogens11101215

19. AL-Jassem, A.M.A., Anwar, A.A., AL-Jabar, M.A. (2022). Molecular Identification using PCR-Technique of *Proteus mirabilis* Associated with Urinary Tract Infection. Republic of Iraq. Ministry of Higher Education & Scientific Research University of Babylon College of Science Biology Department (online), 33 p. Available at: [ep.rdd.edu.iq/sci-day/prizes/graduate\\_project/graduate\\_project\\_ftxt/5d8ea2a0e29c05.66382238.pdf](http://ep.rdd.edu.iq/sci-day/prizes/graduate_project/graduate_project_ftxt/5d8ea2a0e29c05.66382238.pdf).

20. Somayaji, R., Priyantha, M.A., Rubin, J.E., Church, D. (2016). Human infections due to *Staphylococcus pseudintermedius*, an emerging zoonosis of canine origin: report of 24 cases. *Diagn Microbiol Infect Dis.*(online). no. 85, 4, pp. 471–6. DOI:10.1016/j.diag-microbio.2016.05.008.

21. Pomba, C., Rantala, M., Greko, C., Baptiste, K.E., Catry, B., van Duijkeren, E (2017). Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *J Antimicrob Chemother* (online), no. 72, pp. 957–68. DOI:10.1093/jac/dkw481.

22. Tompson, A.C., Mateus, A.L.P., Brodbelt, D.C., Chandler, C.I.R. (2015). EMA. Reflection Paper on the Risk of Antimicrobial Resistance Transfer From Companion Animals. London: European Medicines Agency Understanding Antibiotic Use in Companion Animals: A Literature Review Identifying Avenues for Future Efforts. Sec. Veterinary Humanities and Social Sciences (online). DOI:10.3389/fvets.2021.719547.

23. Arndt, E.R., Farzan, A., MacInnes, J.I., Friendship, R.M. (2019). Antimicrobial resistance of *Streptococcus suis* isolates recovered from clinically ill nursery pigs and from healthy pigs at different stages of production. *J. Can Vet.* (online), no. 60, 5, pp. 519–522. Available at: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6463947/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6463947/)

24. Cordova, M.G. (2022). Limiting antibiotics for cows may create a new dairy market. Melanie Greaver Cordova. College of Veterinary Medicine (online). Available at: [news.cornell.edu/stories/2022/11/limiting-antibiotics-cows-may-create-new-dairy-market](http://news.cornell.edu/stories/2022/11/limiting-antibiotics-cows-may-create-new-dairy-market)

25. Schell, R.C. (2022). Responsible antibiotic use labeling and consumers willingness to buy and pay for fluid milk. *J. daire sance* (online). DOI:10.3168/jds.2022-21791

26. Zheng, J., Huang, S., Huang, S. (2020). Colistin for pneumonia involving multidrug-resistant *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* (online), no. 53, 6, pp. 854–865. DOI:10.1016/j.jmii.2019.08.007.

27. Lynch, J.P. Clark, N.M., Zhanel, G.G. (2022). Infections Due to *Acinetobacter baumannii*-*calcoaceticus* Complex: Escalation of Antimicrobial Resistance and Evolving Treatment Options. (online). no. 43, 1, pp. 97–124. DOI:10.1055/s-0041-1741019.

28. Koike, S., Mackie, R., Aminov, R. (2017). Agricultural Use of Antibiotics and Antibiotic Resistance. School of Medicine and Dentistry, University of Aberdeen, Aberdeen, United Kingdom. (online), pp. 3–33. Available at: [www.researchgate.net/publication/315613886\\_Agricultural\\_use\\_of\\_antibiotics\\_and\\_antibiotic\\_resistance](http://www.researchgate.net/publication/315613886_Agricultural_use_of_antibiotics_and_antibiotic_resistance)

29. Wollmuth, E.M.A (2017). Survey of  $\beta$ -lactam Antibiotic Resistance Genes and Culturable Ampicillin Resistant Bacteria in Minnesota Soils. Hamline University (online), pp. 6–28. Available at: [digitalcommons.hamline.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1068&context=dhp](http://digitalcommons.hamline.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1068&context=dhp)

30. Gurung, M., Tamang, M.D., Moon, D.C. (2015). Molecular Basis of Resistance to Selected Antimicrobial Agents in the Emerging Zoonotic Pathogen *Streptococcus suis*. *Journal of Clinical Microbiology* (online), Vol. 53, no. 7, pp. 332–336. DOI:10.1128/JCM.00123-15.

31. Schwendener, S, Cotting, K, Perreten, V. (2017). Novel methicillin resistance gene *mecD* in clinical *Staphylococcus aureus* strains from bovine and canine sources. *Sci Rep.* (online). DOI:10.1038/srep43797

32. WHO (2020). World leaders join forces to fight the accelerating crisis of antimicrobial resistance (online). pp. 1–8. Available at: [www.who.int/news/item/20-11-2020-world-leaders-join-forces](http://www.who.int/news/item/20-11-2020-world-leaders-join-forces)

33. WHO (2020). Antibiotic resistance threats in the United States (online). pp. 3–5. Available at: [www.thermofisher.com/procalcitonin/wo/en/home.html?cid=0se\\_gaw\\_25052021\\_DA7MGR](http://www.thermofisher.com/procalcitonin/wo/en/home.html?cid=0se_gaw_25052021_DA7MGR)

34. Thompson, N.D., La Place, L., Epstein, L. (2016). Prevalence of Antimicrobial Use and Opportunities to Improve Prescribing Practices in U.S. Nursing Homes. *Journal of the American Medical Directors Association* (online), no. 17, 12, pp. 1151–1153. Available at: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6556772/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6556772/)

35. Schell, R.Ch., Bulut, E., Padda, H., Safi, A.G., Moroni, P., Ivanek, R. (2022). Responsible antibiotic use labeling and consumers' willingness to buy and pay for fluid milk. *J. Dairy Sci.*, no. 106, pp. 132–150. (online). DOI:10.3168/jds.2022-21791

## The problem of antibiotic resistance of microorganisms in Ukraine and the world

Chemerovska I., Rublenko I.

Basically, antibiotic resistance develops due to the incorrect use of antibiotics in various branches of animal husbandry, both during the treatment or prevention of diseases, and due to their long-term use as growth stimulants. As a result, costs for the treatment of farm animals and companion animals are increasing. Antibiotic resistance among microorganisms is a threat to every person, every patient, medical and veterinary worker. Also, this is a big challenge for the field of health care, veterinary medicine and agriculture as a whole. It is very difficult to solve the problem of resistance, because it is not one-sided.

Medicines that were effective a few years ago are losing their positions today, and their use is being forced to be limited. According to data from the World Health Organization, the rapid increase in the resistance of microorganisms to antibacterial drugs threatens the scientific gains made by scientists during the last 50–70 years.

The formation of antibiotic resistance is due to the genetic properties of microorganisms, as a result of their acquisition of new genetic information, or due to a change in the level of expression of the bacterial cell's own genes. An important factor in the fight against the spread of antibiotic resistance is the pharmacodynamic substantiation of the dosing regimens of antibacterial drugs and their use for specific microorganisms. There are guiding documents that control and recommend the reliability of determining the sensitivity of microorganisms to antibiotics, in particular - methodological recommendations of the European organization EUCAST, the data and material of which are periodically (annually) updated. These documents are developed primarily for routine use in clinical laboratories that do not cover technical procedures for identifying resistance mechanisms at the molecular level. However, a significant part of the given data, research on determining the sensitivity of microorganisms to antibiotics, is performed in national reference laboratories. There is a change in the sensitivity of the micro-flora to antibiotics, which is not covered by the screening of multi-resistant microorganisms, or the direct detection of resistance in clinical samples. Therefore, the study of the problem remains relevant and expedient.

**Key words:** microorganisms, resistance, antibiotics, gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, control, disease, spread, problem, treatment, animals.



Copyright: Чемеровська І.О., Рубленко І.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.



ORCID iD:

Чемеровська І.О.

<https://orcid.org/0000-0002-7291-6400>

Рубленко І.О.

<https://orcid.org/0000-0002-1401-0969>

## ПАРАЗИТАРНІ ХВОРОБИ

УДК 636.92.09:616.98-07:578

### Діагностика та диференційна діагностика вірусної геморагічної хвороби та еймеріозу кролів

Царенко Т.М.<sup>1</sup>, Папченко І.В.<sup>1</sup>, Антіпов А.А.<sup>1</sup>,

Мазанний О.В.<sup>2</sup>, Корнієнко Л.Є.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква

<sup>2</sup> Державний біотехнологічний університет, м. Харків

<sup>3</sup> Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ

✉ Кореспондентний автор: taras.m.tsarenko@gmail.com



Царенко Т.М., Папченко І.В., Антіпов А.А., Мазанний О.В., Корнієнко Л.Є. Діагностика та диференційна діагностика вірусної геморагічної хвороби та еймеріозу кролів. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 42–54.

Tsarenko T., Papchenko I., Antipov A., Mazannyi O., Korniienko L. Diagnosis and differential diagnosis of viral hemorrhagic disease and eimeriosis of rabbits. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 42–54.

Рукопис отримано: 15.12.2022 р.

Прийнято: 23.12.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-42-54

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Галузь кролівництва є поширена в усьому світі і нині нараховує понад 80 порід кролів різного напрямку продуктивності – хутрові, м'ясні тощо. В Україні розводять 12 порід кролів м'ясо-хутрового, хутрового та пухового напрямів [1].

Кролівництво є однією з перспективних галузей тваринництва з великим потенціалом до розвитку у агропромисловому секторі та у приватних, присадибних господарствах України. Кролівництво характеризується високими темпами відтворення поголів'я та швидкою окупністю інвестицій. Продукцією кролівництва є м'ясо кролів та цінні хутро і пух. Водночас

Галузь кролівництва в Україні є важливим сектором тваринництва, однак значну частину поголів'я кролів утримують у присадибних господарствах громадян. За умови відсутності системного ветеринарного обслуговування важливим є точна посмертна діагностика причин загибелі кролів у присадибних господарствах.

Еймеріоз кролів повсюдно виявляють в Україні і за змішаної кишкової та печінкової форми еймеріозу на тлі незадовільної годівлі й утримання у молодих кролів може стати причиною загибелі. Вірусна геморагічна хвороба кролів також поширена в Україні і є причиною загибелі кролів всіх вікових груп.

Було поставлено за мету вивчити патоморфологічні зміни за еймеріозу і вірусної геморагічної хвороби кролів та застосування лабораторних методів для підтвердження діагнозу.

Представлено результати патоморфологічної, копрологічної та лабораторної діагностики еймеріозу кролів. Полімеразну ланцюгову реакцію застосовували для підтвердження діагнозу на вірусну геморагічну хворобу кролів з одночасним визначенням генотипу збудника хвороби.

Встановлено ефективність використання додаткових методів посмертної діагностики еймеріозу (копрологічний, мікроскопічний) та вірусної геморагічної хвороби кролів (полімеразна ланцюгова реакція). У кролів, які загинули від геморагічної хвороби кролів інфекція була зумовлена вірусом першого типу.

**Ключові слова:** патолого-анатомічна діагностика, копроскопія, ПЛР, ураження печінки, *Eimeria* spp., RHDV.

кролі невибагливі до кормової бази та технології утримання [1]. Традиційно кролі займають свою нішу серед інших видів продуктивних тварин, яких утримують у присадибних господарствах. Згідно з даними Державної служби статистики України [7], у період з 2011 до 2021 рр. у господарствах населення утримували від 5279,9 до 4365,5 тис. голів кролів. Тенденція до зниження поголів'я проявилась починаючи з 2015 року, водночас у промисловому кролівництві показник поголів'я за цей період зростає з 75,6 до 112,9 тис. голів. Попри тенденцію до скорочення загального поголів'я кролівництво залишається важливою галуззю агропромислового комплексу України.

Нині в Україні чисельність поголів'я кролів нараховує близько 5 млн, основна їх кількість зосереджена в підсобних господарствах населення, що обумовлює екстенсивні умови ведення галузі, за яких ветеринарне обслуговування не має систематичного прояву [7].

Еймеріоз (кокцидіоз) (англ. *Rabbit eimeriosis*) – це повсюдна протозойна інвазія тварин, що може негативно впливати на їх ріст і розвиток та спричинити значну смертність серед домашніх кролів [6, 11]. Питання збудника хвороби у кролів остаточно не вивчено, однак відомо що це внутрішньоклітинні паразити *Eimeria spp.* Зокрема у кролів розпізнають дві форми еймеріозу: печінковий та кишковий. Кишковий еймеріоз у дорослих кролів перебігає переважно легко, у яких формується носійство паразита, а у кролів до 6 міс. віку кишковий еймеріоз може мати значний вплив на здоров'я і зумовлювати їх загибель. Цьому сприяють ряд несприятливих чинників, зокрема незадовільні умови утримання, неповноцінна годівля тощо. Печінковий еймеріоз зумовлюють *Eimeria stiedae*, які спричиняють важкі пошкодження печінки, що зрідка можуть призводити до смерті кролів [2, 8, 15].

Прижиттєву діагностику еймеріозу зазвичай проводять за допомогою дослідження фекалій підозрюваних у захворюванні тварин. Рутинна діагностика кокцидіозу печінки у живих тварин може бути проведена за дослідження зразка фекалій та подальшого лабораторного дослідження для підтвердження виду еймерій [3, 17]. Дослідження мазків-відбитків є традиційним методом діагностики печінкового еймеріозу. Посмертна діагностика еймеріозу передбачає патолого-анатомічний метод із додатковим дослідженням фекалій та вмісту із осередків ураження еймеріями є печінки. Також пропонують використовувати молекулярно-генетичне типування еймерій, виділених з печінки методом ПЛР для уточнення посмертного діагнозу [12].

Вірусна геморагічна хвороба кролів (ВГХК) (англ. *Rabbit hemorrhagic disease – RHD*) – висококонтагіозна вірусна хвороба, зумовлена РНК вірусом геморагічної хвороби кролів (англ. *Rabbit hemorrhagic disease virus – RHDV*) роду *Lagovirus* родини *Caliciviridae*. Хворіють домашні кролі та інші види європейських кролів *Oryctolagus cuniculus* у багатьох країнах світу, зокрема в Україні. За спалаху ВГХК рівень смертності кролів зазвичай коливається від 70 до 100 відсотків. Епізоотологічне значення мають два типи вірусу збудника геморагічної хвороби кролів – RHDV і RHDVa (перший тип) та RHDV2 (другий тип) [10].

Серологічна та генетична класифікація вірусу геморагічної хвороби кролів нині є предметом вивчення і в літературі зустрічається кілька підходів. Важливо зазначити, що раніше відомий і розповсюджений на території України штаб RHDV та його варіанти (перший тип) у генетичному, антигенному, імунологічному і патогенному значенні значно відрізняється від штабу RHDV2 (другий тип), який вперше був виявлений у 2010 році у Франції та поширився по всьому світу. Між вірусами першого і другого типів немає перехресного імунітету і вакцини розроблені від першого типу вірусу геморагічної хвороби кролів не захищають тварин від захворювання у разі інфікування другим типом вірусу [3, 10].

Діагноз на ВГХК ставлять комплексно, на основі епізоотологічних даних, клінічних ознак, патолого-анатомічного розтину з обов'язковим лабораторним підтвердженням [9].

**Мета роботи** – вивчити патоморфологічні зміни за еймеріозу та вірусної геморагічної хвороби кролів та застосування методу ПЛР для уточнення діагнозу.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проводили у період 2020–2022 рр. на базі секційної зали лабораторії патологічної анатомії кафедри ветеринарно-санітарної експертизи, гігієни продуктів тваринництва та патологічної анатомії імені Й.С. Загаєвського, лабораторії паразитології кафедри паразитології та фармакології, науково-дослідної лабораторії новітніх методів (ІФА та ПЛР) Білоцерківського національного аграрного університету.

У дослідах використовували трупи кролів, які надходили на дослідження від приватних власників Київської області. Для досліджень було відібрано 10 трупів кролів, віком від 2 до 24 місяців з патолого-анатомічними ознаками, характерними для печінкового еймеріозу та вірусної геморагічної хвороби кролів.

Розтин трупів проводили за К.І. Скрябіним (1928) [4, 5] у загальноприйнятій послідовності. Під час проведення патолого-анатомічного розтину для гістологічних досліджень від кролів відбирали невеликі, товщиною не більше 2 см шматочки дванадцятипалої та голодної кишок. Відібраний патологічний матеріал фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації і заключали у целоїдин. Серійні целоїдинові зрізи товщиною 5–15 мкм зафарбовували гематоксиліном і еозином та заключали у бальзам. Всього було виготовлено і проаналізовано 3 десятки гістопрепаратів. Мікрофотографування проводили з використанням мікроскопа «OLIMPUS CX 41» за збільшень  $\times 30$ ,  $\times 60$ ,  $\times 100$ ,  $\times 200$ .

Для копрологічного дослідження на еймеріоз від трупів відбирали фекалії та вміст характерних утворень у печінці. Для дослідження на вірусну геморагічну хворобу кролів відбирали проби печінки у кількості 200–300 мкг.

Інтенсивність еймеріозної інвазії визначали підрахунок через кількості ооцист еймерій в 1 г фекалій за допомогою камери для копрологічних досліджень, розробленої науково-педагогічними працівниками Білоцерківського НАУ.

Загалом досліджено 10 проб фекалій. Належність видів ооцист еймерій встановлювали за таблицею (1965) та визначником Є.М. Хейсіна (1967) з урахуванням їх форми, кольору, довжини та ширини, наявності чи відсутності мікропіле, полярної гранули, залишкового тіла, а також тривалості перебігу препатентного і патентного періодів [5].

Дослідження наявності РНК вірусу геморагічної хвороби кролів у тканинах печінки проводили у Науково-дослідній лабораторії новітніх методів (ІФА та ПЛР) БНАУ. Проби печінки у кількості 200–300 мкл суспендували у стерильних пластикових пробірках за допомогою вортекса із додаванням 100–200 мкл стерильного ізотонічного розчину. Отриману суспензію використовували для виділення РНК за допомогою набору Pathogen Kit (Indical Bioscience, Німеччина) за протоколом виробника. Одержували 50 мкл розчину нуклеїнових кислот з кожного зразка, які використовували для отримання кДНК за допомогою протоколу із застосуванням реактиву Thermo Scientific RevertAid Reverse Transcriptase (#EP0441) (США). Зразки кДНК зберігали за температури –20 °С в умовах лабораторії.

Реакційну суміш для проведення ампліфікації готували на основі комерційного ПЛР-міксу OneTaq NEB QuikLoad Master Mix (#M0486) (New England Biolabs, США). До 10 мкл Master Mix додавали по 2,5 мкл праймерів (F та R), 7 мкл деіонізованої води та 3 мкл до-

сліджуваної кДНК, робочий об'єм ампліфікації становив 25 мкл.

Для постановки ПЛР використовували пару праймерів для ідентифікації генів вірусу геморагічної хвороби кролів спільних для першого і другого типів (RHDV-F/RHDV-R) та пару праймерів специфічних лише для другого типу вірусу (Fra109F/Fra567R). Праймери обирали згідно з рекомендаціями референтної лабораторії МЕБ п геморагічної хвороби кролів (Istituto Zooprofilattico Sperimentale Della Lombardia E Dell'emilia Romagna "Bruno Ubertini", Brescia, Італія) [18]. Для внутрішнього контролю наявності цільової ДНК у пробах додатково використовували праймери для ідентифікації видоспецифічної РНК кроля [14], позитивна реакція з цими праймерами підтверджувала коректне виділення РНК на першому етапі та утворення кДНК і наявність його у досліджуваній пробі. Олігонуклеотидні праймери були синтезовані фірмою Metabion (Німеччина) (табл. 1).

Для ампліфікації використовували термоциклер GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems, США), за наступних температурних режимів для всіх випадків: (94 °С – 1 хв) – 1 цикл, (94 °С – 30 с, 52 °С – 30 с, 68 °С – 30 с.) – 40 циклів, (68 °С – 5 хв) – 1 цикл. Детекцію результатів ампліфікації проводили у 1X TBE буфері в 2 % агаровому гелі з додаванням 0,5 % етидіюму броміду. До першої та останньої лунки гелю додавали маркер молекулярної маси від 1517 до 100 п.н. з кроком у 100 п.н. (New England Biolabs, США) (NEB #B7025). Аналіз реакції проводили враховуючи наявність специфічної смуги напроти лунки з позитивним контролем і відповідної кількості пар нуклеотидів та відсутністю відповідної смуги напроти лунки з негативними контролями. Як позитивні контролю використовували раніше досліджені позитивні проби кДНК від кролів. Як негативний контроль на етапі виділення і внесення використовували проби, у яких розчин кДНК у реакційній суміші був замінений на деіонізовану воду.

Таблиця 1 – Олігонуклеотидні праймери використані у дослідженні

Праймер	Послідовність нуклеотидів	Температура плавлення (T <sub>m</sub> ), °С	Використана температура відпалу (T <sub>a</sub> ), °С	Розмір продукту ампліфікації, п.н.
RHDV-F	5'-CCTGTTACCATCACCATGCC -3'	60	52	348
RHDV-R <sub>new</sub>	5'-CAAGTTCCARTGSCTGTTGCA -3'	60		
Fra109-F	5'- ACTACTAGCGTGGTCACCACC -3'	63	52	481
Fra567-R	5'- TTGTTATAAACGCTCAGGACCAAC -3'	62		
RS_F	5'-CAAAAGTAAGCTCAATTACCACCGTA-3'	63	52	110
RS_R	5'- ATAAGGGCTTTCGTATATTCGGAA-3'	60		

**Результати дослідження.** В результаті проведених досліджень було встановлено патолого-анатомічні зміни, що відповідають печінковому еймеріозу та вірусній геморагічній хворобі кролів, виявлені еймерії у фекаліях і печінці кролів та встановлено інфікування кролів вірусом геморагічної хвороби кролів.

**Патолого-анатомічні зміни.** За результатами патолого-анатомічного дослідження у 5 трупів кролів із 10 були виявлені ознаки вірусної геморагічної хвороби кролів. Водночас у 3 із них спостерігали печінкову форму еймеріозу. У двох трупах виявили кишкову форму еймеріозу, ще у двох – асоційований кишковий і печінковий еймеріоз, у одного – катаральний риніт і двосторонню гостру катаральну бронхопневмонію без ознак еймеріозу і вірусної геморагічної хвороби кролів (табл. 2).

Трупи кролів, які загинули від кишкової форми еймеріозу були незадовільної вгодованості або виснажені. Шерстний покрив скуйовджений, тьмяний, а в ділянці анального отвору забруднений рідкими фекаліями. Слизові оболонки мали переважно сірий колір. Жирові відкладення в підшкірній клітковині були відсутні, а скелетні м'язи значною мірою піддалися атрофії.

Легені мали червонувато-сіре забарвлення, еластичні, місцями виділялись невеликі світліші вирячування альвеолярної емфіземи (наслідок загальної анемії). На розрізі легені такого ж кольору як ззовні, помірно вологі, мало кровні, малюнок виражений.

Серце збільшене через розширення правої половини. Епікард гладенький, блискучий. Серце не однотонно забарвлене в сіро-черво-

ний, а місцями в сірий колір. В порожнині серця містилась невелика кількість згорнутої крові темно-червоного кольору. Міокард зів'ялої консистенції, дещо сухуватий, забарвлений, як і зовні, малюнок стертий.

Печінка не збільшена, не однотонно забарвлена в коричневий, світло-коричневий і червоно-коричневий колір. На розрізі вона забарвлена як і ззовні, помірно волога, малюнок не виражений. Жовчний міхур містив невелику кількість густої жовчі темно-зеленого кольору.

Селезінка не збільшена, капсула її злегка зморшкувата, на розрізі паренхіма темно-червона, помірно волога, малюнок не виражений.

Нирки не збільшені, злегка зів'ялої консистенції, не однотонно забарвлені в коричневий і світло-коричневий колір. На розрізі кіркова речовина забарвлена, як і зовні, а мозкова – сіро-червонувата, помірно волога, малюнок стертий.

Шлунок містив невелику кількість корму кашоподібної консистенції. Слизова оболонка шлунка сірого кольору, вкрита значною кількістю сірого слизу.

Тонкий кишечник, меншою мірою товстий – наповнені газами. Стінка тонкого кишечника потоншена, особливо в передній її частині. В просвіті тонкого кишечника містилась невелика кількість рідкого хімусу сірого кольору з домішками слизу. Слизова оболонка в передній частині майже позбавлена епітеліального покриву, а в міру віддалення від шлунка набула нерівного злегка горбистого рельєфу. Колір слизової оболонки був сірий або сіро-червонуватий. В товстому кишечнику містились не сформовані фекалії сіро-зеленого кольору, а слизова оболонка мала сіре забарвлення.

Таблиця 2 – Патолого-анатомічні зміни у досліджених трупах кролів

Номер трупа кроля	Патзміни характерні для кишкового еймеріозу	Патзміни характерні для печінкового еймеріозу	Патзміни характерні для вірусної геморагічної хвороби кролів
1	наявні	відсутні	відсутні
2	відсутні	наявні	наявні
3	відсутні	наявні	наявні
4	наявні	наявні	відсутні
5	наявні	наявні	відсутні
6	відсутні	відсутні	наявні
7	відсутні	наявні	наявні
8	відсутні	відсутні	наявні
9	наявні	відсутні	відсутні
10	відсутні	відсутні	відсутні

За асоційованого кишкового і печінкового еймеріозу у трупів кролів спостерігали додатково специфічні вclusions у печінці, печінка була помірно збільшена. У трьох трупів, які загинули від вірусної геморагічної хвороби під капсулою печінки також виявили поодинокі сіро-жовтуваті вузлики різної форми, які мали чіткі контури. Видаливши їх з паренхіми печінки кінчиком скальпеля, виявили, що вони інкапсульовані. Такі утворення були відібрані для мікроскопічного дослідження (рис. 1).

Однак, у цих трупів патолого-анатомічна картина відрізнялась від попередньо описаної. Трупи кролів були доброї вгодованості без ознак виснаження та атрофії скелетної мускулатури, про що свідчили відкладання жиру у підшкірній клітковині, сальнику, брижі кишечника та під епікардом. Характерною була поза трупа кроля, а саме кінцівки випрямлені, голова завернута на спину (явище опістотону), що проявляється внаслідок впливу вірусу на нервову систему (рис. 2).

У двох кролів шерстяний покрив у ділянці мордочки був забруднений кров'янистими виділеннями із носових отворів. Це пов'язано ймовірно, з інтенсивним застоєм крові в слизовій оболонці носової порожнини, розривом стінок кровоносних судин та проявом носової кровотечі.

Типовими змінами для усіх досліджених трупів з підозрою на вірусну геморагічну хво-

робу кролів були виражений застій крові в легенях, трахеї, у нирках, печінці і селезінці (рис. 3).

Легені забарвлені в темно-червоний колір різної інтенсивності, тістоподібної консистенції, на розрізі такого ж кольору, вологі, за натискання на них із судин виділяється кров, а із бронхів світла піниста рідина. Часто така піниста рідина заповнює просвіт трахеї. Слизова оболонка трахеї набуває різної інтенсивності темно-червоного кольору, як наслідок застою венозної крові в судинах підслизової основи. У двох кролів у діафрагмальних частинах легень були виявлені плямисті крововиливи (рис. 4).

Серце загіблх кролів мало ознаки зернистої дистрофії. Воно було збільшене через розширення правої половини і набувало округлої форми. Як ззовні, так і на розрізі змінилось забарвлення від сіро-червоного до сірого кольору. Сірі ділянки мали не чіткі, розмиті контури. Природний малюнок міокарда не виражений. В порожнинах серця містилась значна кількість темно-червоної крові.

Печінка у кролів була не збільшена, пружної або злегка зів'ялої консистенції. За інтенсивного застою крові вона набувала темно-червоного кольору, за менш інтенсивного – була не однотонно забарвлена в темно-червоний, коричневого і світло-коричневий колір (рис. 5). На розрізі печінка волога або помірно волога і мала такий колір як ззовні, малюнок не виражений. Жовчний міхур містив помірну кількість жовчі темно-зеленого кольору.



Рис. 1. Инкапсульовані некрози в печінці кролів за печінкового еймеріозу (вказані стрілками).



Рис. 2. Положення трупа кроля (явище опістотону), який загинув від вірусної геморагічної хвороби кролів.



Рис. 3. Інтенсивно виражений застій крові в трахеї (1), легенях (2), нирках (3), селезінці (4).

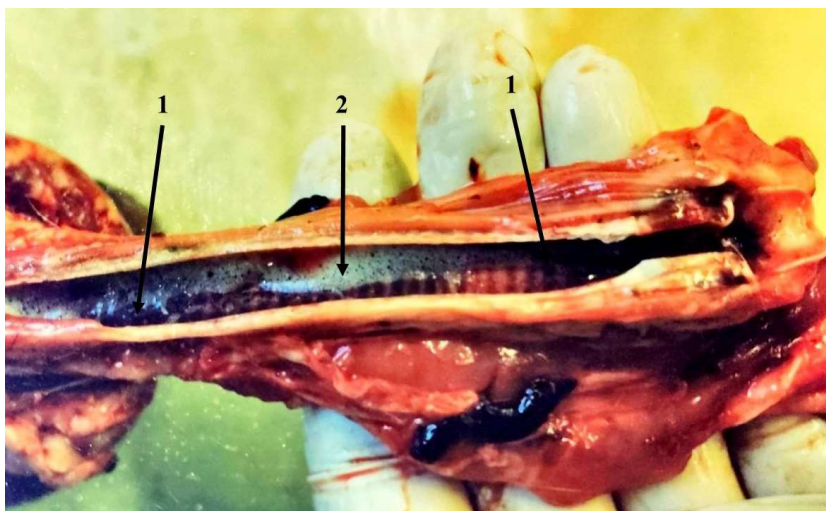


Рис. 4. Застій крові в трахеї (1) і наявність у ній пінистої рідини (2).



Рис. 5. Застій крові в печінці кроля.

Нирки не збільшені, пружної консистенції, забарвлені в темно-коричневий колір. На розрізі помірно вологі, кіркова речовина темно-коричнева, а мозкова – темно-червона, малюнок не виражений. Селезінка не збільшена, краї її загострені, злегка зів'ялої консистенції, на розрізі темно-червона, волога, малюнок не виражений.

Під час дослідження головного мозку і носової порожнини спостерігали інтенсивне кровонаповнення судин оболонок мозку і слизової оболонки носової порожнини (рис. 6).

Зміни у шлунку та кишечнику у більшості кролів з ознаками вірусної геморагічної хвороби кролів були відсутні.

**Гістологічні зміни.** Для виявлення прояву деструктивних змін за еймеріозу кролів на мікроскопічному рівні було відібрано фрагменти тонкого кишечника в передній, середній і задній його частинах. Результати дослідження показали, що найбільш деструктивних змін зазнала передня частина тонкого кишечника. Епітеліальний покрив повністю відсутній, залишились лише розпушені підслизова і м'язова оболонки (рис. 7).

У середній і задній частинах тонкого кишечника епітеліальний покрив також був повністю зруйнований, але на його місці розташовані нашарування фібрину, інфільтровані клітинами крові (лейкоцитами) і сполучнотканного походження.

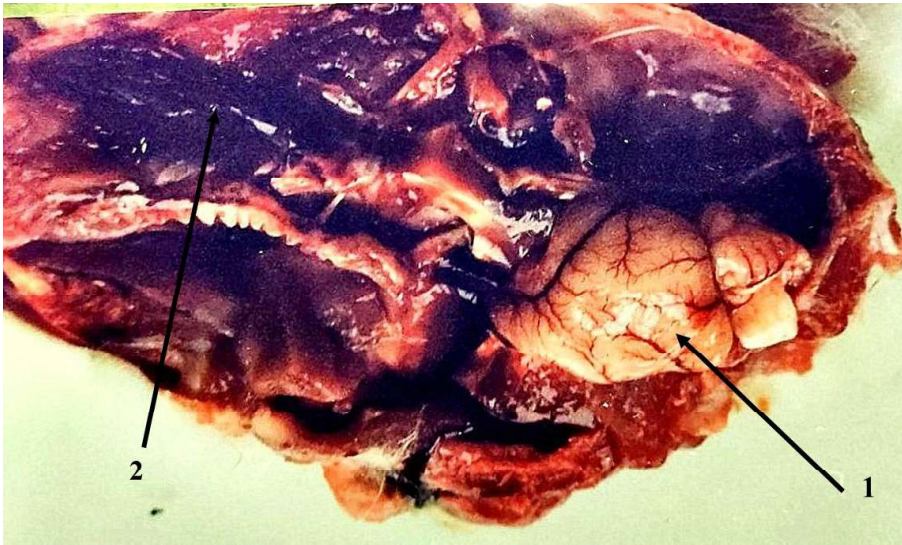


Рис. 6. Застій крові в оболонках мозку (1) та слизовій оболонці носової порожнини (2).

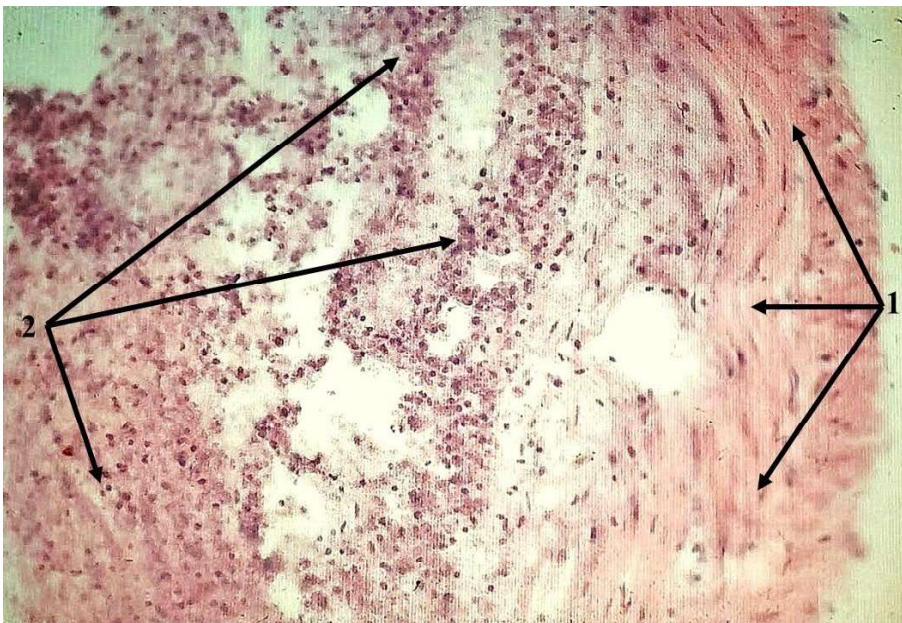


Рис. 7. Повне руйнування слизової оболонки тонкого кишечника кроля за еймеріозу (1 – м'язова оболонка; 2 – білково-некротичний детрит, збільшення 10 x 20).

**Копрологічні та мікроскопічні дослідження.** Проведені дослідження копрологічного матеріалу, відібраного від трупів 2 кролів з ознаками кишкової форми еймеріозу виявили ооцисти еймерій (рис. 8). Видовий склад представлено трьома видами еймерій, а саме: *Eimeria stiedae*, *Eimeria perforans*, *Eimeria magna*. Серед еймерій були ідентифіковані види *Eimeria stiedae* у більше ніж 80,0 % проб та *Eimeria perforans* і *Eimeria magna* менішою

мірою. Інтенсивність інвазії коливалась від 0,5 до 15 тис. ооцист в 1 г фекалій.

У 3 кролів, які загинули з ознаками вірусної геморагічної хвороби в інкапсульованих утвореннях вилучених із печінки виявили масу ооцист (рис.9).

За мікроскопії вмісту некротичних вузликів також виявили наявність еймерій переважно виду *Eimeria stiedae*.

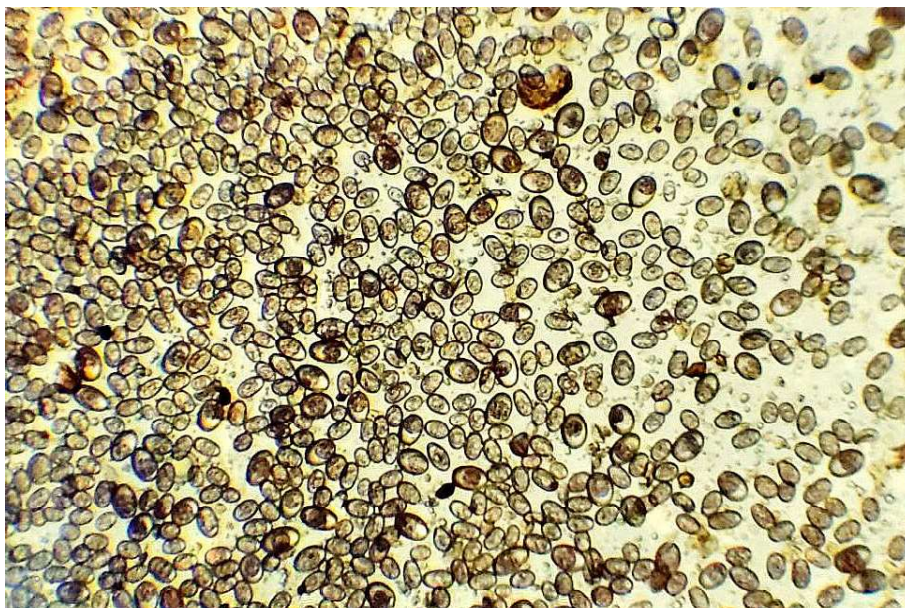


Рис. 8. Ооцисти еймерій в нативному мазку із фекалій з прямої кишки трупа кроля (збільшення 7x20).



Рис. 9. Ооцисти еймерій у інкапсульованій некротичній масі з печінки кроля (збільшення 7x40).

**Молекулярно-генетичні дослідження.** Виявлення РНК вірусу в печінці кролів методом ПЛР дозволило встановити остаточний діагноз на вірусну геморагічну хворобу кролів.

На першому етапі молекулярно-генетичних досліджень було проведено ПЛР з праймерами специфічними до 12S мітохондріальної rRNA гена кроля (*Oryctolagus cuniculus*) з кДНК отриманих із зразків печінки від трупів кролів. В усіх 10 досліджуваних зразках на електрофореграмі було ідентифіковано специфічні смужки на рівні 110 пар нуклеотидів, що свідчить

про задовільне виділення нуклеїнових кислот, зокрема РНК із зразків (рис. 10).

Результати ПЛР із праймерами специфічними до ділянки гена VP60 вірусу геморагічної хвороби кролів (RHDV-F/RHDV-Rnew), які ампліфікують всі відомі варіанти відповідного вірусу, першого типу (RHDVa, RHDV) і другого типу (RHDV2) показали наявність РНК вірусу у пробах від трупів № 6-10, та її відсутність у пробах №1-5, відповідно за наявністю і відсутністю специфічної смужки довжиною 348 п.н. (рис. 11).

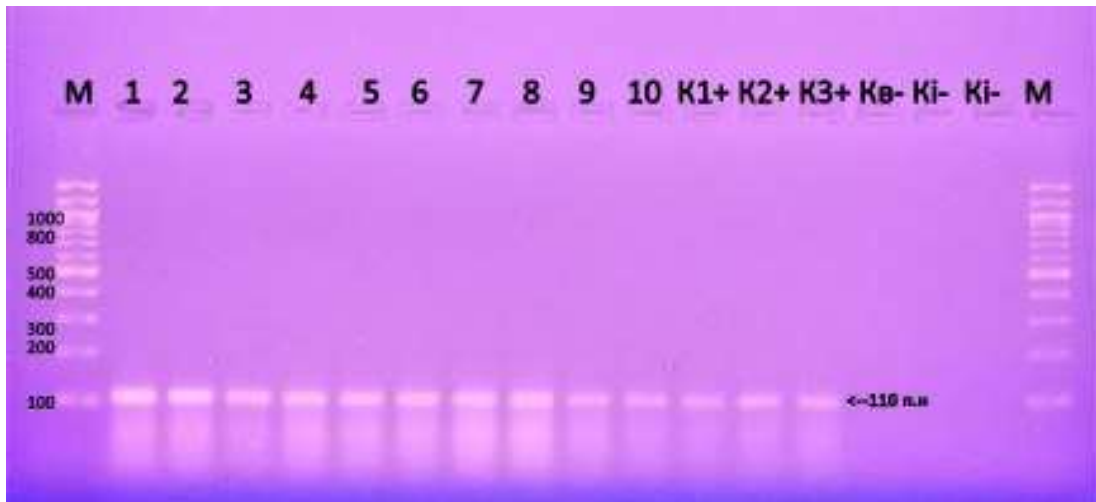


Рис. 10. Електрофореграма продуктів ампліфікації специфічної для кролів РНК (1–10 – досліджувані проби; K1, K2, K3 – позитивні контролі, Kв- – негативний контроль внесення; Ki- – негативний контроль виділення РНК).

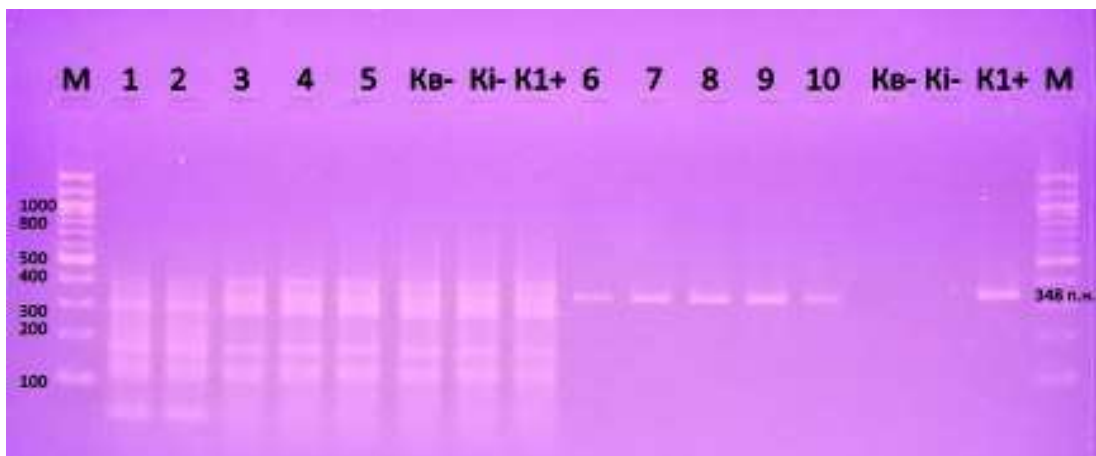


Рис. 11. Електрофореграма продуктів ампліфікації ділянки гена VP60 вірусу геморагічної хвороби кролів (1–10 – досліджувані проби; Kв- – негативний контроль внесення; Ki- – негативний контроль виділення РНК; K1+ – позитивний контроль).

Дослідження у ПЛР проб кДНК із праймерами Fga109F/Fga567R, які ампліфікують лише специфічну ділянку вірусу геморагічної хвороби кролів другого типу (RHDV2), показало відсутність у всіх пробах специфічних продуктів ампліфікації (фрагмент у 481 п.н.).

**Обговорення.** Особливості присадибного кролівництва в Україні визначають відсутність системного ветеринарного обслуговування і невчасної профілактики хвороб кролів. У таких умовах посмертна діагностика хвороб кролів набуває особливого значення. Патолого-анатомічний метод дослідження є достатньо інформативним, щоб встановити підозру на інфекційні інвазійні хвороби кролів. Разом із

знанням епізоотичної ситуації у регіоні це дає змогу комплексно встановлювати попередній діагноз, однак у будь-якому випадку діагноз на інфекційні та інвазійні хвороби потребує лабораторного підтвердження з ідентифікацією збудника хвороби [3].

Хвороби кролів, які розглянуто у цьому дослідженні, повсюдно поширені у присадибних господарствах з вирощування кролів в Україні, також зустрічаються у дикій природі [13]. Водночас із патолого-анатомічним розтином для встановлення посмертного діагнозу важливо використовувати додаткові методи дослідження [16].

Дослідження трупів кролів, які надходили до секційної зали ФВМ БНАУ показали, що попередньо встановлений патолого-анатомічний діагноз на кишковий і печінковий еймеріоз підтверджується копрологічними дослідженнями та дослідженнями вмісту інкапсульованих некротичних осередків, у яких мікроскопічно ідентифіковано еймерії.

Еймеріоз більше небезпечний для молодих кролів, особливо за незадовільної годівлі та утримання. Кишковий еймеріоз зумовлює ураження кишечника, поглиблює виснаження кролів та в кінцевому результаті призводить до загибелі тварини, яка знаходиться у стані виснаження та інтоксикації. За значної інтенсивності інвазії та ураження *Eimeria stiedae* у кролів розвивається печінковий еймеріоз, який виражається в утворенні некротичних інкапсульованих осередків під капсулою печінки, які містять велику кількість еймерій. У дорослих кролів печінковий еймеріоз може не призводити до загибелі.

Вірусна геморагічна хвороба кролів уражує невакцинованих кролів і найчастіше призводить до їх загибелі. Патолого-анатомічні зміни за цієї хвороби характеризуються ураженням органів дихання та внутрішніх органів і нервової системи. Хоча здебільшого такі зміни є характерними і їх легко ідентифікувати, за блискавичного перебігу хвороби або з інших причин патолого-анатомічні ознаки можуть бути виражені слабо. У таких випадках особливо важливим є диференційна діагностика від хвороб, які перебігають із ураженням органів дихання та внутрішніх органів, зокрема печінки. Дослідження вказують, що метод ПЛР є швидким і точним методом посмертної діагностики геморагічної хвороби кролів. Водночас за використання апробованих праймерів можливо не лише встановити остаточний діагноз, а також диференціювати перший і другий типи збудника, що має важливе епізоотологічне значення. У наших дослідженнях встановлено лише наявність у позитивних пробах РНК вірусу геморагічної хвороби кролів першого типу.

Інвазія дорослих кролів печінкової форми еймеріозу рідко призводить до загибелі тварин, про що свідчить наявність таких осередків у печінці частини кролів, що загинули від вірусної геморагічної хвороби, яка слугувала причиною загибелі.

#### **Висновки.**

1. Дослідження трупів кролів виявили характерні патолого-анатомічні зміни для кишкової й печінкової форм еймеріозу та вірусної геморагічної хвороби кролів, а також їх асоційований перебіг. Методами копрологічних, мі-

кроскопічних і молекулярно-генетичних досліджень відповідні діагнози були підтверджені та показано їх ефективність за комплексного використання.

2. Вірусну геморагічну хворобу кролів діагностують посмертно за результатами патолого-анатомічного розтину та методом ПЛР. Важливим для з'ясування епізоотичної ситуації та перспективи використання відповідних вакцин є встановлення за результатами молекулярно-генетичних досліджень належності збудника хвороби до 1-го або 2-го типів. У дослідженні трупів кролів був виявлений вірус геморагічної хвороби кролів лише 1-го типу, що вказує на його циркуляцію у присадибних господарствах Київської області.

3. Мікроскопічні дослідження вмісту кишечника і уражених тканин печінки трупів кролів у комплексі із патолого-анатомічними дослідженнями дозволяють встановити остаточний діагноз на еймеріоз у кишковій або печінковій формах прояву.

4. Виявлення еймерій у фекаліях або печінці кролів не завжди вказують на причину смерті, а лише за наявності характерних для еймеріозу патолого-анатомічних змін у кишечнику та виснаження. Зокрема, наявність печінкової форми еймеріозу у кролів задовільної вгодованості не слід вважати за причину їх загибелі, якщо інші патолого-анатомічні зміни і результати ПЛР-дослідження підтверджують вірусну геморагічну хворобу кролів.

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Власенко І.В. Кролівництво – резерв в забезпеченні продовольчої безпеки держави. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Жицького. 2012. № 2–4. С. 15–18.
2. Гаврилівна О.Г., Колесник А.О. Особливості лабораторної діагностики еймеріозу кролів. Науково-технічний бюлетень Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. 2016. № 4. С. 55–58.
3. Інфекційні та інвазійні хвороби кролів/Л.Є. Корнієнко та ін. Біла Церква. 2003. 288 с.
4. Патолого-анатомічний розтин трупів сільськогосподарських тварин з основами судової ветеринарії: методичні рекомендації для студентів освітнього рівня – магістр та слухачів Інституту післядипломного навчання/І.В. Папченко та ін. Біла Церква. 2019. 47 с.
5. Папченко І.В. та ін. Патолого-анатомічні зміни за еймеріозу кролів: матеріали II Міжнародної наукової конференції «Традиційні та інноваційні підходи до наукових досліджень» м. Одеса (10 вересня 2021 р.). Вінниця: «Європейська наукова платформа». 2021. С. 89–92.

6. Розповсюдження та клінічна картина при еймеріозі кролів/ М.В. Сімоненко та ін. Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту: зб. наук. праць. Біла Церква. 2002. Вип. 21. С. 196–198.

7. Тваринництво України 2020. Статистичний збірник. Держана служба статистики. 2021. С. 53–59.

8. Франчук Л.О. Поширення та форми перебігу змішаної еймеріозної інвазії у кролів. Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки: зб. наук. пр. 2010. Вип. 56. С. 148–153.

9. Abrantes J., Lopes A.M. A Review on the Methods Used for the Detection and Diagnosis of Rabbit Hemorrhagic Disease Virus (RHDV). *Microorganisms*. 2021. Vol. 9, no. 5. P. 972–982. DOI:10.3390/microorganisms9050972.

10. Abrantes J., van der Loo W., Le Pendu J., Esteves P.J. Rabbit haemorrhagic disease (RHD) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV): a review. *Vet. Res.* 2012. Vol. 43, no.1. P. 12–22. DOI:10.1186/1297-9716-43-12.

11. El-Akabawy L.M., Zayan K.A., Tantawy A.A., Omar Rem. Anticoccidial efficacy of propolis and toltrazuril against *Eimeria stiedae* in New Zealand white rabbit's. *Zag. Vet. J.* 2004. Vol. 32, no.1. P. 129–145.

12. Molecular diagnosis of *Eimeria stiedae* in hepatic tissue of experimentally infected rabbits/K.M. Hassan et al. *Exp. Parasitol.* 2016. no. 169. P. 1–5. DOI:10.1016/j.exppara.2016.07.001.

13. Kim D.Y., Reilly T.J., Schommer S.K., Spagnoli S.T. Rabbit tularemia and hepatic coccidiosis in wild rabbit. *Emerg. Infect. Dis.* 2010. Vol. 16, no. 12. P. 2016–2017. DOI:10.3201/eid1612.101013.

14. Polymerase chain reaction detection of rabbit DNA in food and animal feed/I. Martin et al. *World Rabbit Science.* 2009. no.17. P. 27–34. DOI:10.4995/wrs.2009.667.

15. Oncel, T. Gulegen, E. Senlik, B. Bakirci S. Intestinal coccidiosis in angora rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) caused by *Eimeria intestinalis*, *Eimeria perforans* and *Eimeria coecicola*. *YYU Vet. Fak. Derg.* 2011. no. 22. P. 27–29.

16. Sivajothi S., Reddy B.S., Rayulu V.C. Study on impression smears of hepatic coccidiosis in rabbits. *Journal of parasitic diseases: official organ of the Indian Society for Parasitology.* 2016. Vol. 40, no. 3. P. 906–909. DOI:10.1007/s12639-014-0602-8.

17. Sivajothi S., Reddy B.S., Rayulu V.C. Intestinal coccidiosis infection in domestic rabbits. *Inter. J. Biol. Res.* 2013. Vol. 2, no. 2. P. 48–50.

18. Spillover Events of Infection of Brown Hares (*Lepus europaeus*) with Rabbit Haemorrhagic Disease Type 2 Virus (RHDV2) Caused Sporadic Cases of an European Brown Hare Syndrome-Like Disease in Italy and Spain/R. Velarde et al. *Transboundary and Emerging Diseases.* 2017. Vol. 64, no. 6. P. 1750–1761. DOI:10.1111/tbed.12562.

## REFERENCE

1. Vlasenko, I.V. (2012). Krolivnytstvo – rezerv v zabezpecheni prodovolchoi bezpeky derzhavy [Rabbit breeding – a reserve in ensuring food security of

the state]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Gzhytskoho* [Scientific Bulletin of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S.Z. Grzycki]. no. 2-4, pp. 15–18. (in Ukrainian).

2. Gavrylina, O.G., Kolesnyk, A.A. (2016). Osoblyvosti laboratornoi diahnostryky eimeriozu kroliv [Features of laboratory diagnosis of rabbit eimeriosis]. *Naukovo-tekhnichnyi biuletyn Naukovo-doslidnoho tsentru biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK* [Scientific and Technical Bulletin of the Research Center for Biosafety and Environmental Control of Agricultural Resources]. no. 4, pp. 55–58. (in Ukrainian).

3. Kornienko, L.E. (2003). Infektsiini ta invaziini khvoroby kroliv [Infectious and invasive diseases of rabbits]. *Bila Tserkva*, 288 p. (in Ukrainian).

4. Papchenko I.V. (2019). Patoloho-anatomichni roztytn trupiv silskohospodarskykh tvaryn z osnovamy sudovoi veterynarii: metodychni rekomendatsii dlia studentiv osvithnoho rivnia – mahistr ta slukhachiv Instytutu pisljadiplomnoho navchannia [Pathological and anatomical autopsy of farm animals with the basics of forensic veterinary medicine: methodical recommendations for students of educational level - master and students of the Institute of Postgraduate Studies]. *Bila Tserkva*, 47 p. (in Ukrainian).

5. Papchenko, I.V. (2021). Patoloho-anatomichni zminy za eimeriozu kroliv: Materialy II Mizhnarodnoi naukovoï konferentsii «Tradytiini ta innovatsiini pidkhody do naukovykh doslidzhen» [Pathological and anatomical changes in eimeriosis of rabbits: proceedings of the II International Scientific Conference "Traditional and innovative approaches to scientific research"]. *Odesa* (September 10, 2021): "European Scientific Platform". pp. 89–92. (in Ukrainian).

6. Simonenko, M.V. (2002). Rozpovsiudzhennia ta klinichna kartyna pry eimeriozi kroliv [Distribution and clinical picture of rabbit eimeriosis]. *Visnyk Bilotserkiv. derzh. ahrar. un-tu: zb. nauk. Prats* [Bulletin of Bila Tserkva State Agrarian University: collection of scientific works]. *Bila Tserkva*, Issue 21, pp. 196–198. (in Ukrainian).

7. Tvarynnytstvo Ukrainy 2020 [Livestock of Ukraine 2020]. *Statystychnyi zbirnyk* [Statistical collection]. *Derzhana sluzhba statystyky* [State Statistics Service]. 2021, pp. 53–59. (in Ukrainian).

8. Franchuk, L.O. (2010). Poshyrennia ta formy perebihu zmishanoi eimerioznoi invazii u kroliv [Distribution and forms of mixed eimeria infection in rabbits]. *Ahrarnyi visnyk Prychornomia. Veterynarni nauky: zb. nauk. pr.* [Agrarian Herald of the Black Sea region. Veterinary Sciences: collection of scientific articles]. Issue 56, pp. 148–153. (in Ukrainian).

9. Abrantes, J., Lopes, A.M. (2021). A Review on the Methods Used for the Detection and Diagnosis of Rabbit Hemorrhagic Disease Virus (RHDV). *Microorganisms*. Vol. 9, no. 5, pp. 972–982. DOI:10.3390/microorganisms9050972.

10. Abrantes, J., van der Loo, W., Le Pendu, J., Esteves, P.J. (2012). Rabbit haemorrhagic disease (RHD) and rabbit haemorrhagic disease virus

(RHDV) a review. *Vet. Res.* Vol. 43, no. 1, pp. 12–22. DOI:10.1186/1297-9716-43-12.

11. El-Akabawy, L.M., Zayan, K.A., Tantawy, A.A., Omar, Rem. (2004). Anticoccidial efficacy of propolis and toltrazuril against *Eimeria stiedae* in New Zealand white rabbit's. *Zag. Vet. J.* Vol. 32, no.1, pp. 129–145.

12. Hassan, K.M. (2016). Molecular diagnosis of *Eimeria stiedae* in hepatic tissue of experimentally infected rabbits. *Exp. Parasitol.* Vol. 169, pp. 1–5. DOI:10.1016/j.exppara.2016.07.001.

13. Kim, D.Y., Reilly, T.J., Schommer, S.K., Spagnoli, S.T. (2010). Rabbit tularemia and hepatic coccidiosis in wild rabbit. *Emerg. Infect. Dis.* Vol. 16, no. 12, pp. 2016–2017. DOI:10.3201/eid1612.101013.

14. Martin, I. (2009). Polymerase chain reaction detection of rabbit DNA in food and animal feed. *World Rabbit Science.* no. 17, pp. 27–34. DOI:10.4995/wrs.2009.667.

15. Oncel, T., Gulegen, E., Senlik, B., Bakirci, S. (2011). Intestinal coccidiosis in angora rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) caused by *Eimeria intestinalis*, *Eimeria perforans* and *Eimeria coecicola*. *YYU Vet. Fak. Derg.* no. 22, pp. 27–29.

16. Sivajothi, S., Reddy, B.S., Rayulu, V.C. (2016). Study on impression smears of hepatic coccidiosis in rabbits. *Journal of parasitic diseases: official organ of the Indian Society for Parasitology.* Vol. 40, no. 3, pp. 906–909. DOI:10.1007/s12639-014-0602-8.

17. Sivajothi, S., Reddy, B.S., Rayulu, V.C. (2013). Intestinal coccidiosis infection in domestic rabbits. *Inter. J. Biol. Res.* Vol. 2, no. 2, pp. 48–50.

18. Velarde, R. (2017). Spillover Events of Infection of Brown Hares (*Lepus europaeus*) with Rabbit Haemorrhagic Disease Type 2 Virus (RHDV2) Caused Sporadic Cases of an European Brown Hare Syndrome-Like Disease in Italy and Spain. *Transboundary and Emerging Diseases.* Vol. 64, no.6, pp. 1750–1761. DOI:10.1111/tbed.12562.

## Diagnosis and differential diagnosis of viral hemorrhagic disease and eimeriosis of rabbits

Tsarenko T., Papchenko I., Antipov A., Mazanyni O., Korniienko L.

The rabbit breeding industry in Ukraine is an important element of animal husbandry, most of the rabbits are in private households. In the absence of systematic veterinary care, accurate postmortem diagnosis of the causes of death of rabbits in households is important.

Rabbit eimeriosis is widespread in Ukraine and with mixed intestinal and hepatic forms of eimeriosis against the background of unsatisfactory feeding and maintenance in young rabbits can cause death. Viral hemorrhagic disease of rabbits is also common in Ukraine and causes the death of rabbits of all ages.

The aim was to study the pathomorphological changes in eimeria and viral hemorrhagic disease of rabbits and the use of other methods to confirm the diagnosis.

The article presents the results of pathological, coprological and microbiological diagnosis of rabbit eimeriosis. Polymerase chain reaction was used to confirm the diagnosis of viral hemorrhagic disease of rabbits with the simultaneous establishment of the genotype of the pathogen.

The effectiveness of the use of additional methods of postmortem diagnosis of eimeria (coprological, microscopic) and viral hemorrhagic disease of rabbits (polymerase chain reaction) was established. In rabbits that died from rabbit hemorrhagic disease the infection was caused by the virus of the first type.

**Key words:** pathological and anatomical diagnosis, coproscopy, PCR, liver damage.



Copyright: Царенко Т.М. 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.



ORCID iD:

Царенко Т.М.

Папченко І.В.

Антипов А.А.

Мазанний О.В.

Корнієнко Л.Є.

<https://orcid.org/0000-0003-4373-5958>

<https://orcid.org/0000-0003-2476-8770>

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

<https://orcid.org/0000-0002-4442-4011>

<https://orcid.org/0000-0002-6962-8272>


## ТЕРАПІЯ ТА КЛІНІЧНА ДІАГНОСТИКА

УДК 636.3.09:616.36/.6:615.356

## Оцінка змін показників функціонального стану печінки та нирок у овець під впливом препарату “Абетка для тварин”

Вовкотруб Н.В. , Мельник А.Ю. , Піддубняк О.В. ,Харченко А.В. , Чуб О.В. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: vona76@ukr.net

Вовкотруб Н.В., Мельник А.Ю., Піддубняк О.В., Харченко А.В., Чуб О.В. Оцінка змін показників функціонального стану печінки та нирок у овець під впливом препарату “Абетка для тварин”. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 55–65.

Vovkotrub N., Melnyk A., Piddubnyak O., Kharchenko A., Chub O. Evaluation of changes in indicators of the liver and kidneys functional state in sheep under the influence of the drug "Alphabet for animals". *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 55–65.

Рукопис отримано: 14.12.2022 р.  
Прийнято: 23.12.2022 р.  
Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-55-65

У статті наведено дані щодо аналізу змін метаболічного профілю печінки і нирок під час та після застосування вівцематкам вітамінно-амінокислотного комплексного препарату, що містить незамінні амінокислоти та біологічно активні речовини, такі як вітаміни А, D, Е, К, В<sub>1</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>12</sub>. Наявний дефіцит поживних та біологічно активних речовин у раціонах овець спонукає науковців і практиків проводити постійний пошук використання нетрадиційних місцевих кормів і добавок найрізноманітнішого походження. Зокрема важливе значення відводиться мінеральним елементам, ферментам, амінокислотам і вітамінам. Застосування цих біологічно активних нутрієнтів дозволяє найбільш ефективно використовувати поживні речовини раціону, забезпечує максимально можливу генетично обумовлену продуктивність тварин, високу відтворювальну здатність. Однак, ці питання на сьогодні є ще маловивченими і потребують фундаментальних досліджень, причому конкретно в окремих регіонах країни. Отже, у контексті зазначеного вище, виникає потреба у проведенні досліджень, пов'язаних зі збільшенням трансформації поживних речовин корму у продукцію вівцематок завдяки оптимізації амінокислотного та вітамінного живлення з метою максимального прояву їх продуктивних якостей. У процесі проведених досліджень встановлено позитивний вплив препарату Абетка для тварин на функціональний стан печінки та нирок вівцематок, оскільки біомаркери, які характеризують роботу цих органів, такі як вміст загального протеїну, холестеролу, сечовини, креатиніну, активність гепатоіндикаторних ензимів не мали негативних зрушень, а навпаки, проявили стабілізуювальну динаміку. Складові вітамінно-амінокислотного комплексу мали позитивний вплив щодо стимулювання альбуміносинтезувальної функції печінки в овець.

**Ключові слова:** вівці, вітамінно-амінокислотний комплекс, гепаторенальний статус, білково-ліпідний метаболізм, гепатоіндикаторні ензими.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Одним із чинників підвищення рентабельності галузі вівчарства є пошук способів зниження собівартості одного центнера її продукції, яка на 58–60 % визначається вартістю кормів. Пріоритетним напрямом цього питання є уточнення потреби тварин у необхідних поживних та біологічно активних речовинах із урахуванням наявності їх у кормах і доступності поїдання, засвоєння й трансформації у продукцію. Розвинені країни

впроваджують підходи щодо більш ефективного використання ресурсів у тваринництві, намагаючись зменшити «коефіцієнт конверсії корму» (FCR: кількість корму, необхідного для виробництва однієї одиниці продукції тваринництва) через підвищення ефективності корму тварин у системах інтенсивного виробництва. Слід зазначити що ефективність перетворення поживних речовин у приріст в овець частково знаходиться під генетичним контролем. Водночас, інші чинники, такі як стан здоров'я,

засвоюваність кормів, обмін білка в організмі або мікробний фон рубця, також можуть мати важливе значення [1]. Відомо, що найбільший вплив на продуктивні якості овець та ефективність конверсії корму має не лише рівень енергетичного і протеїнового живлення, а також забезпеченість раціонів біологічно активними нутрієнтами, а саме макро- й мікроелементами, вітамінами та незамінними амінокислотами. Для вирішення питання подолання дефіциту біологічноактивних речовин використовують різні підходи. Найбільш ефективним є включення необхідних мінералів та вітамінів, а за необхідності й інших компонентів (ферменти, пробіотики, пребіотики, симбіотики, амінокислоти) до складу преміксів, які використовують для приготування комбікормів. Нині в Україні прийнята та використовується рецептура преміксів для овець південного регіону, яка розроблена ще за часів Радянського Союзу. Однак стандартні рецепти не повною мірою дають змогу балансувати раціони овець, відповідно до їх потреби, у необхідних макро- та мікроелементах і вітамінах, оскільки вони розроблені без урахування хімічного складу кормів степової зони, який з роками значно змінився, та генетичного потенціалу тварин. Включення до складу раціонів овець вітамінно-мінеральних преміксів сприяє покращенню перетравності кормів [2].

Водночас важливе значення має забезпечення тварин повноцінним протеїном, адже він відіграє головну роль щодо життєдіяльності клітинних елементів [3]. Новий підхід у нормуванні потреби жуйних, зокрема овець, у протеїні ґрунтується не лише на вмісті в раціоні його розчинних і нерозчинних фракцій, а також наявності в ньому незамінних амінокислот, які обов'язково мають надходити до тонкого кишечника тварин для забезпечення потенціалу їх продуктивності [4]. Аналіз доступних джерел свідчить, що в кормах різних регіонів України дефіцит протеїну збільшився на 20–25 %. На фоні цього простежується нестача в раціонах незамінних амінокислот. Нестача, або відсутність останніх, чи їх неоптимальне співвідношення, часто призводить до порушення обміну речовин у тварин, затримки їх росту й розвитку та зниження продуктивності. Це стосується й високопродуктивних овець та молодняку, де, крім концентрації у сухій речовині протеїну, важлива його біологічна повноцінність, тобто наявність незамінних амінокислот – лізину, метіоніну, цистину [5]. Фізіологічне значення амінокислот визначається їх унікальною функцією, що пов'язана з участю в побудові та проміжному синтезі

основних структурних компонентів клітин організму, зокрема, білків, нуклеїнових кислот, низькомолекулярних нітрогено- і сірковмісних сполук [6]. Введення до раціону синтетичних незамінних амінокислот сприяє підвищенню синтезу мікробного протеїну без додаткових витрат енергії. Проте, важливо, щоб лізин та метіонін із цистином споживалися вівцями у захищених від розщеплення в рубці формах, що збільшить їх надходження до сичуга та тонкого відділу кишечника тварин для подальшого метаболізму [7, 8].

М.М. Свістула зі співавт. [8] встановили, що підвищення концентрації лімітуючих незамінних амінокислот у раціонах баранців на 10–20 %, у порівнянні з діючими нормами годівлі для цієї статеві-вікової групи овець, забезпечувало зростання коефіцієнтів перетравності сухої речовини на 0,5–1,1 %, сирого протеїну – 0,9–1,8, жиру – 1,5–2,0 %, порівняно із контролем. Також відмічали збільшення на 1,4–2,6 % рівня засвоєння зольних речовин раціонів годівлі молодняку овець. Зазначається, що за оптимізації амінокислотного живлення у баранців дослідних груп покращується, відповідно, на 2,4–5,1 % ретенція азоту від спожитої кількості з кормом та на 3–6 % від перетравленої. Інтенсивний перебіг метаболізму поживних речовин у організмі молодняку овець, яким до раціонів додавали незамінні амінокислоти, підтверджувався змінами біохімічних показників крові, які за певними складовими переважали результати в контрольній групі. Автори вважають, що концентрацію лізину, метіоніну та цистину в раціонах баранців на відгодівлі м'ясного напрямку продуктивності доцільно збільшувати, відповідно, до 8,6 та 7,0 г/кг сухої речовини, що забезпечує посилення метаболізму в організмі тварин і позитивно відображається на рівні перетравності та засвоєнні поживних речовин кормів і загалом на інтенсивності росту молодняку овець.

За даними П.В. Шарандака, у 30,9 % вівцематок діагностували гепатодистрофію, у 19,7 % – гепаторенальний синдром, 14,8 % – мікроелементози, 9,6 % – остеодистрофію, 5,2 % – нефроз. Комплексна терапія вівцематок за гепато-остеодистрофічного синдрому із застосуванням препарату Мінерол, 10 % розчину глюкози, препаратів Е-селен та Інтровіту сприяла нормалізації обміну білків та збільшенню вмісту в сироватці крові кальцію на 24,5 %, фосфору – 18,9 % на 30-у добу, зниженню активності ГГТП на 55,1 %, АсАТ – 22,9 % порівняно з початковими показниками. Ефективність лікування становила 86,7 % [9].

Однак вирішення зазначених проблем неможливе без ґрунтового вивчення та аналізу глибинних обмінних процесів, які відбуваються в організмі тварин, тому виникає потреба щодо проведення досліджень у напрямі підвищення біоконверсії поживних речовин корму з метою подальшої оптимізації процесів метаболізму через корекцію амінокислотного та вітамінного живлення овець для максимального прояву їх продуктивних якостей.

**Метою дослідження** було вивчити зміни біохімічних маркерів функціонального стану печінки та нирок у овець за умов використання комплексного вітамінно-амінокислотного препарату Абетка для тварин.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проведені на кітних вівцематках віком 2–3 роки, що належать НВЦ Білоцерківського НАУ, добовий раціон яких включав: зелену масу (пасовище), сіно (0,5 кг), дерть (ячмінну, вівсяну, пшеничну, 0,2 кг), шрот соняшниковий (13 %), сіль-лизунець (1 %), дикальційфосфат (1 %).

Для проведення досліду тварин поділили на 2 групи – контрольну та дослідну по 8 голів у кожній. Овець досліджували клінічно, при цьому змін загального стану та порушень функцій органів і систем виявлено не було, водночас у тварин відібрали кров для морфологічного та біохімічного дослідження з яремної вени у вакуумні пробірки. Після цього вівцям дослідної групи задавали вітамінно-амінокислотний комплекс для перорального застосування Абетка для тварин (виробник ПрАТ “Технолог”, м. Умань, Черкаська обл., Україна)

із розрахунку 2 мл/л води упродовж 7 днів, двічі з тижневою перервою. До складу 1 мл препарату входять: вітамін А – 5000 МО, вітамін D<sub>3</sub> – 1000 МО, вітамін Е – 10 мг, вітамін В<sub>1</sub> – 2,0 мг, вітамін В<sub>3</sub> – 20 мг, вітамін В<sub>5</sub> – 5,0 мг, вітамін В<sub>6</sub> – 3,0 мг, вітамін В<sub>12</sub> – 30,0 мкг, вітамін К<sub>3</sub> – 1,0 мг, L-карнітин – 25 мг, DL-метіонін – 10 мг, аргінін – 3,0 мг. Допоміжні речовини: пропіленгліколь, метилпарабен, пропілпарабен, твін 80, вода очищена.

Кров для дослідження відбирали після першого та другого задавання препарату. У сироватці крові визначали вміст загального протеїну біуретовою реакцією, альбумінів – з бромкрезоловим зеленим (ТУ У 24.4-24607793-019-2003, реєстр. свідоцтво № 2217/2003), сечовини – за реакцією з уреазою, креатиніну – за кінетичною реакцією Яффе, загального холестеролу – в реакції з 4-амінофеназоном, активність аспарагінової та аланінової амінотрансфраз – кінетичним методом (ТУ У 24.4-24607793-017-2003, реєстр. свідоцтво № 2216/2003). Всі перераховані методики виконували за допомогою реактивів НВО «Філісіт-діагностика» з використанням напіваавтоматичного біохімічного аналізатора Stat Fax 1904+ (серійний номер 1904-5040). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistica 10 (StatSoft Inc., США, 2011).

**Результати дослідження.** Після першого застосування препарату вміст загального протеїну в крові овець дослідної групи мав тенденцію до підвищення, проте така динаміка була невірогідною (72,1±2,46 г/л, p<0,1; рис. 1).

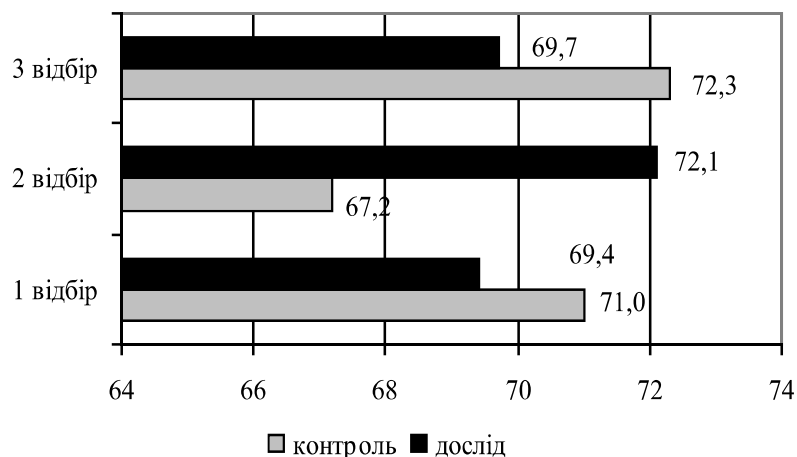


Рис. 1. Зміни вмісту загального протеїну в сироватці крові овець за використання препарату Абетка для тварин.

Після повторного задавання препарату вміст його в крові овець дослідної групи незначно зменшився до вихідного рівня ( $69,7 \pm 1,24$  г/л), причому ці зміни також були невірогідні. Слід відмітити, що у 87,5 % тварин цієї групи відмічали нормопротеїнемію, лише в однієї – гіпопротеїнемію (уміст загального білка був меншим за 65 г/л). Отже, встановлено, що препарат Абетка для тварин чинить незначний вплив на вміст загального білка в сироватці крові овець, що, ймовірно, пов'язано з недостатньою збалансованістю їх раціонів за перетравним і сири́м протеїном.

Середні значення кількості альбумінів у крові овець обох дослідних груп на початку досліду були в межах норми, проте, у тварин дослідної групи вміст їх був вірогідно меншим ( $40,4 \pm 0,59$  %,  $p < 0,05$ ) порівняно із групою контролю, оскільки у 37,5 % відмічали гіпоальбумінемію (рис. 2).

Після застосування препарату відмітили поступову позитивну тенденцію до збільшення вмісту альбумінів у овець дослідної групи в середньому до  $40,8 \pm 0,57$  %, тимчасом у тварин контрольної групи, навпаки, кількість альбумінів у крові вірогідно зменшувалася до  $39,2 \pm 0,59$  % ( $p < 0,001$  порівняно з початком досліду).

Рівень сечовини в сироватці крові овець контрольної групи на початку досліду був у межах норми і становив  $4,3 \pm 0,31$  ммоль/л, у дослідній – вірогідно не відрізнявся і дорівнював  $4,9 \pm 0,25$  ммоль/л ( $p < 0,1$ ). Після першого застосування препарату вміст сечовини в сироватці крові обох груп зменшувався до майже однакового рівня (рис. 3), проте лише в дослідній групі ці зміни були вірогідні ( $p < 0,001$ ). Водночас слід зазначити, що у всіх тварин обох груп вміст сечовини в сироватці крові був у межах фізіологічних лімітів (3,0–6,0 ммоль/л).

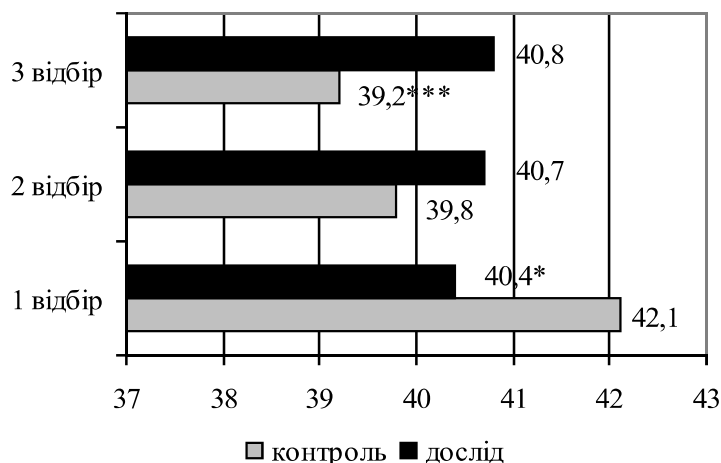


Рис. 2. Зміни кількості альбумінів в сироватці крові овець за використання препарату Абетка для тварин.

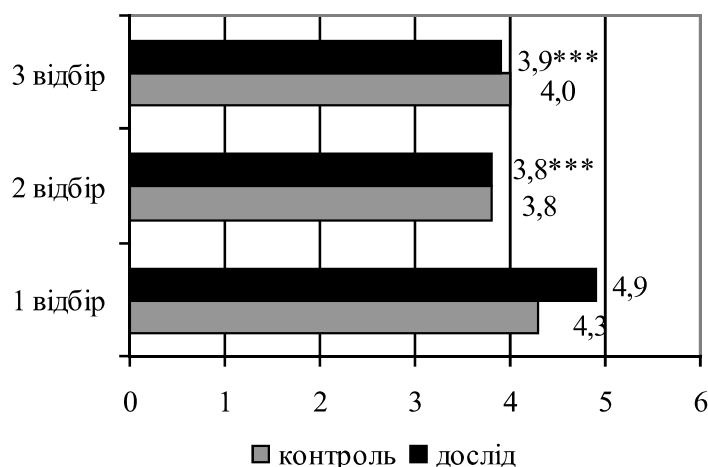


Рис. 3. Зміни вмісту сечовини в сироватці крові овець за використання препарату Абетка для тварин.

Після останнього застосування препарату встановили, що вміст сечовини в сироватці крові мав незначну тенденцію до збільшення, проте, між контрольною та дослідною групами вірогідної різниці не відмічено ( $p < 0,5$ ) – концентрація сечовини в обох групах овець знаходилася на рівні 3,9–4,0 ммоль/л (рис. 3).

Ранньою ознакою деструкції гепатоцитів є збільшення активності гепатоіндикаторних ензимів у сироватці крові тварин, зокрема аспарат- та аланінамінотрансфераз. На початку дослідження активність АсАТ в сироватці крові овець обох груп була в межах норми та в жодній тварини не перевищувала показник 35 Од/л. Вірогідної різниці між показниками контрольної та дослідної груп не спостерігали, хоча в останній активність ферменту була на 6,5 % меншою (рис. 4). Після першого застосування препарату відмічали тенденцію до зниження активності індикаторного для печінки ферменту АсАТ

до  $28,2 \pm 1,51$  в контролі та  $25,5 \pm 1,91$  Од/л в досліді (рис. 4), після повторного введення препарату активність ензиму незначно зроста.

Наприкінці дослідження активність АсАТ в сироватці крові овець дослідної групи була вірогідно меншою, ніж у контролі ( $p < 0,01$ ).

Протягом дослідного періоду більш вираженими були зміни активності іншого індикаторного для печінки ферменту – АлАТ. Слід зазначити, що на початку дослідження сироваткова активність АлАТ у овець дослідної групи була вірогідно вищою, ніж у тварин контрольної групи ( $p < 0,01$ ). У 62,5 % овець дослідної групи спостерігали гіперферментемію АлАТ (активність ензиму перевищувала показник 15 Од/л). Після першого випоювання препарату активність АлАТ у сироватці крові овець контрольної групи майже не змінювалася й залишалася на рівні  $13,6 \pm 0,50$  Од/л, тимчасом в дослідній – відмічали вірогідне зменшення активності ензиму до  $12,6 \pm 1,27$  Од/л ( $p < 0,05$ , рис. 5).

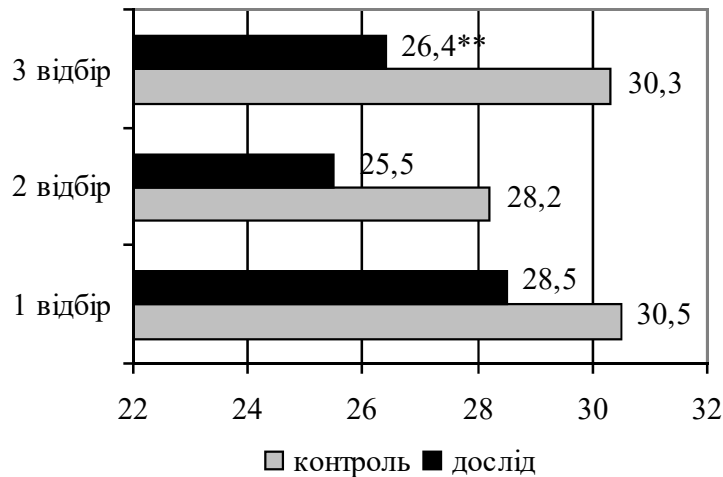


Рис. 4. Зміни активності АсАТ в сироватці крові овець за використання препарату Абетка для тварин.

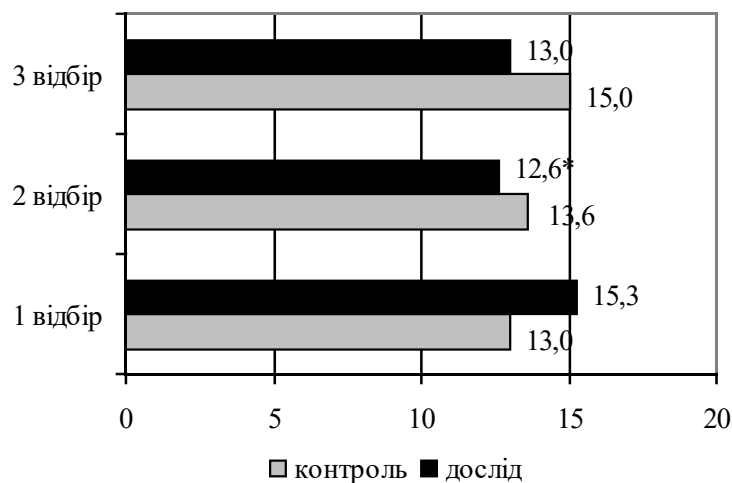


Рис. 5. Зміни активності АлАТ в сироватці крові овець за використання препарату Абетка для тварин.

Наприкінці дослідження активність ферменту АлАТ у сироватці крові овець дослідної групи залишалась стабільною, тимчасом у тварин в групі контролю підвищувалася в середньому до  $15,0 \pm 0,86$  Од/л, у 50 % з них відмічали гіперферментемію АлАТ.

Печінка бере активну участь у обміні ліпідів, саме в ній відбуваються процеси етерифікації холестеролу. На початку дослідження вміст загального холестеролу в сироватці крові овець обох груп вірогідно не відрізнявся та знаходився в межах норми і становив  $2,3 \pm 0,16$  (контроль) та  $2,5 \pm 0,22$  ммоль/л (дослід). Встановили, що після першого застосування препарату вміст загального холестеролу в контрольній групі мав тенденцію до збільшення (рис. 6), тимчасом у дослідній, навпаки, – вірогідно зменшувався до  $2,1 \pm 0,17$  ммоль/л, що, очевидно, вказує на покращення процесів метаболізму та використання холестеролу печінкою з метою синтезу жовчних кислот.

Після другого етапу випоювання препарату між показниками вмісту загального холестеролу в овець контрольної та дослідної груп відмічали вірогідну різницю ( $p < 0,01$ ). Вміст холестеролу в крові тварин, які отримували препарат, залишався на стабільному рівні в середньому дорівнював  $2,2 \pm 0,13$  ммоль/л, тимчасом у контрольних овець був на 24 % більшим.

Показник функціонального стану нирок – вміст креатиніну в сироватці крові овець на початку дослідження знаходився в межах фізіологічних лімітів і не мав вірогідної різниці між групами ( $p < 0,5$ ). За результатами дослідження після другого відбору крові встановили, що рівень креатиніну в крові тварин обох груп практично не змінювався та залишався на вихідному рівні (рис. 7).

За результатами дослідження після другого відбору крові встановили, що рівень креатиніну в крові тварин обох груп практично не змінювався та залишався на вихідному рівні (рис. 7).

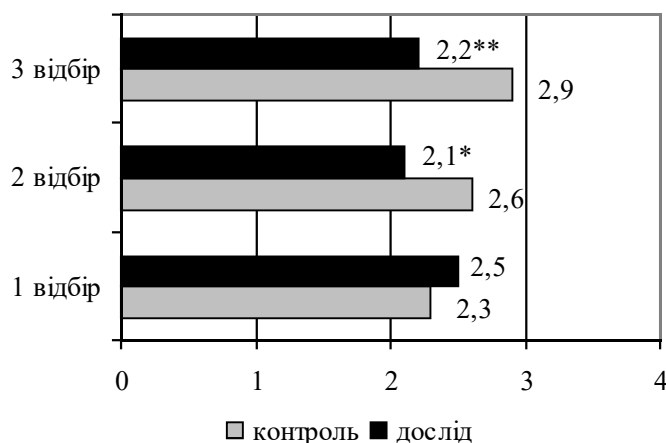


Рис. 6. Зміни вмісту загального холестеролу в сироватці крові овець за використання препарату Абетка для тварин.

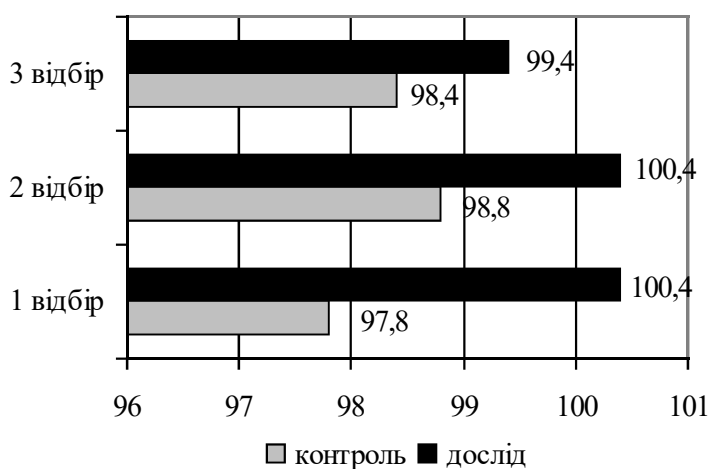


Рис. 7. Зміни вмісту креатиніну в сироватці крові овець за використання препарату Абетка для тварин.

Наприкінці досліду, після другого випоювання препарату, відмічали незначну тенденцію до зменшення вмісту креатиніну в сироватці крові овець обох груп, проте концентрація його залишалася в межах норми й не мала вірогідної різниці між дослідною та контрольною групами ( $p < 0,5$ ), що свідчить про достатньо толерантну дію препарату Абетка для тварин на функціональний стан нирок.

**Обговорення.** Зазвичай оцінка метаболічного профілю тварин дає можливість з'ясувати їх реакцію на склад раціону, коли можна виявити ймовірні розлади в годівлі ще до того, як це вплине на продуктивність стада [10]. Частота і час тестування залежать від тривалості й цілей дослідження, біологічної активності досліджуваного матеріалу та виду [11]. Більшість отар овець і кіз утримують задля того, щоб переробляти фуражні та зернові культури на товарні продукти, такі як м'ясо, молоко, вовна та шкури. Таке управління ускладнюється як економікою виробництва, так і необхідністю забезпечення відповідних стандартів добробуту. Один із принципів вдалого управління здоров'ям стада є використання раціональних діагностичних підходів для виявлення будь-яких втрат продуктивності [12].

Моніторинг метаболічного профілю в дрібних жуйних тварин прийнято проводити у разі оновлення складу їх раціону, а саме, введення нових кормових компонентів, добавок, зміни його якості, при цьому слід визначити, чи правильно адаптований новий раціон відповідно до метаболічних потреб тварин. За введення нового компонента або добавки необхідно з'ясувати, чи добре вони метаболізуються, чи мають вплив на інші поживні речовини, чи впливають на стан здоров'я тварин. Незбалансована годівля призводить до дефіциту поживних речовин або надмірної ваги.

Зазвичай біохімічна панель жуйних включає кілька аналітів і ферментів: глюкозу, лактат, нітроген сечовини сироватки крові, креатинін, електроліти (натрій, хлор, калій), парціальний тиск вуглекислого газу, печінкові ферменти (АлАТ, ГГТП), білірубін, мінерали (кальцій, фосфор, і магній), сироваткові білки (загальний протеїн і альбумін) та м'язові ферменти (КК, АсАТ) [13]. Більшість із цих параметрів включено до так званої «загальної панелі», що надає інформацію не лише про здоров'я тварини, а також про наявність різних патологій [14]. Для овець і кіз розроблено метаболічну панель, яка включає визначення в сироватці крові наступних метаболітів: глюкози, азоту сечовини, креатиніну та активності ферментів, таких як АсАТ, АлАТ, ГГТП, креатинкінази;

загального протеїну (включаючи фракції альбумінів і глобулінів), натрію, калію, кальцію, фосфору і магнію [15]. Загалом, також у дрібних жуйних тварин рекомендовано визначення концентрації неестерифікованих жирних кислот і бета-гідроксибутирату [16]. Для кращої інтерпретації результатів цю панель прийнято поділяти на три основні групи: 1) енергетичну (глюкоза, жирні кислоти,  $\beta$ -гідроксибутират); 2) білкову (сечовина, протеїнограма) і 3) мінеральну (Са, Р і Mg).

За даними Braun et al., Castillo et al., стандартна печінкова панель у дрібних жуйних тварин включає визначення активності АсАТ, ГЛДГ (глутаматдегідрогенази) і ЛДГ, враховуючи, що гепатоцити мають високу активність щодо цих ферментів, їх відносять до «ферментів елімінації» [15, 16]. Іншими біомаркерами, які розглядають у межах цієї панелі є сечовина, білірубін, глюкоза, загальні білок і альбумін.

Оцінювання функціонального стану печінки проводили за результатами визначення в сироватці крові вмісту загального протеїну, альбумінів, сечовини, загального холестеролу та активності індикаторних для печінки ферментів (АсАТ і АлАТ).

За даними літератури, вміст загального білка в сироватці крові здорових овець коливається в межах 65–75 г/л [17]. На початку досліду середні значення цього показника у всіх групах тварин були в межах норми, лише у двох овець контрольної та однієї дослідної відмічали гіперпротеїнемію (уміст загального білка був більшим за 75 г/л). Слід відмітити, що у 87,5 % тварин дослідної групи наприкінці досліду відмічали нормопропротеїнемію, лише в одній – гіпопротеїнемію (уміст загального білка був меншим за 65 г/л). Отже, встановлено, що препарат Абетка для тварин не мав чітко вираженого впливу на вміст загального протеїну в сироватці крові тварин, що, вочевидь, пов'язано із недостатньою збалансованістю їх раціонів щодо перетравного та сирого протеїну.

Поряд із наявністю вітамінів А, D, Е, К і групи В, застосований препарат проявляє свої властивості завдяки наявності амінокислот DL-метіоніну та аргініну. Дослідженнями О.С. Тютюнника встановлено, що додаткове введення до раціону овець метіоніну, сприяє збільшенню надходження амінокислоти до сичуга. Частина метіоніну в рубці використовується мікрофлорою, проте частина надходить до сичуга в кількості 1,3–1,5 г протягом доби, що майже вдвічі більше, ніж під час утримання овець на основному раціоні. Додаткове введення до основного раціону 2 г метіоніну сприяє збільшенню вмісту білкового нітроге-

ну в рубці [3]. Додавання до зернових раціонів овець метіоніну в кількості 11 г/кг корму, стимулювало розвиток популяцій найпростіших у передшлунках. Отже, метіонін чинить позитивний вплив на активність і стимулювання рубцевої мікрофлори та процеси синтезу мікробіального протеїну [18], проте вагомим змін щодо вмісту загального білка в крові тварин, яким застосовували препарат не було відмічено, що також відображається в результатах наших досліджень.

Крім того, метіонін належить до ліпотропних речовин, які попереджують розвиток жирової гепатодистрофії. Його метильні групи беруть участь у синтезі фосfolіпідів, частина яких використовується печінкою для процесів регенерації, а основна їх кількість із течією крові постійно надходить до інших органів і тканин. Водночас метіонін сприяє синтезу холіну, який із триацилгліцерами утворює холінфосфатиди, що забезпечує постійний відтік ліпідів із печінки до кров'яного русла, попереджуючи розвиток її жирової дистрофії [19]. П.В. Шарандаком встановлено, що гепатодистрофія у вівцематок характеризується здебільшого розвитком диспротеїнемії (63 %), гіпоальбумінемії (55,5 %) і гіпергаммаглобулінемії (47,1 %) та поєднанням обох диспротеїнемії (39,5 %), підвищеною активністю в сироватці крові 50 % кітних вівцематок аспарагінової амінотрансферази, а в 47,3 % неплідних – гаммаглутаміл-транспептидази. За даними автора, найбільш інформативними критеріями діагностики гепатодистрофії у овець є гіпоальбумінемія, гіпергаммаглобулінемія та їх поєднання [9].

Проведені нами дослідження підтверджують поширення в овець ознак диспротеїнемії, оскільки у 75 % тварин контрольної групи відмічали гіпоальбумінемію, порівняно із 25 % у досліді після повторного застосування препарату, що є прямим свідченням позитивного впливу вітамінно-амінокислотного комплексу на стимулювання альбуміносинтезувальної функції печінки в овець.

Апробований препарат завдяки наявності в його складі незамінних амінокислот чинив позитивний вплив на обмін холестеролу в організмі дослідних овець, що проявлялось вірогідним зменшенням його вмісту в крові наприкінці досліді порівняно з контрольною групою і, вочевидь, свідчило про поліпшення процесів метаболізму та посилення використання холестеролу печінкою з метою синтезу жовчних кислот.

Часто молочні вівці та кози споживають більше сирого протеїну, ніж необхідно, що небезпечно утворенням надлишкової кілько-

сті нітрогену, це негативно позначається на функції нирок. Водночас, надмірна кількість азоту виділяється в навколишнє середовище, що провокує появу респіраторних розладів у тварин, яких утримують в закритих стайнях із недостатньою вентиляцією [20]. Доведено, що екскреція нітрогену з молоком призводить до збільшення кількості соматичних клітин, що пояснюється вищим бактеріальним навантаженням [20]. Відомо, що рівень сечовини в молоці вище 40 мг/дл (6,6 ммоль/л) пов'язаний зі зниженням репродуктивної функції [21]. Наразі відомо, що кисень є потужним продуцентом вільних радикалів або прооксидантів, що спричинює окислювальний стрес, останніми роками встановлено, що нітроген також відіграє фундаментальну роль у пошкодженні різних біологічних структур через утворення його активних форм, які негативно впливають на гладку мускулатуру, кардіоміоцити, тромбоцити, нервові та ниркові клітини, зумовлюючи деструкцію органів.

Окрім білоксинтезувальної, печінці належить детоксикаційна функція щодо утилізації аміаку в організмі завдяки утворенню сечовини. Тому вміст її у крові є важливим індикатором знешкоджувальної роботи гепатоцитів. За результатами проведених досліджень можна підсумувати, що функція печінки щодо детоксикації аміаку через синтез сечовини під час застосування препарату Абетка для тварин залишалась відносно стабільною. Вірогідне зменшення вмісту сечовини ( $p < 0,001$ ) в сироватці крові овець дослідної групи після прийому досліджуваного препарату можна пояснити, напевно, зменшенням утворення вільного амоніаку в передшлунках тварин через активізацію його використання в процесі синтезу мікробіального протеїну завдяки наявності в препараті незамінних амінокислот, особливо метіоніну, адже встановлено, що включення до раціону синтетичних амінокислот, забезпечує підвищений синтез білка мікробного походження без додаткових витрат енергії [22].

Активність аланінамінотрансферази, яка використовується для виявлення гепатоцелюлярних ушкоджень у дрібних тварин, в жуйних є низькою, тому, за даними Russell; Kaneko et al., показник її активності не рекомендують використовувати для оцінки ступеня ураження печінки [23, 24].

Дослідження сироваткового ензимного профілю щодо активності АсАТ і АлАТ дало змогу встановити позитивний вплив препарату на морфологічний стан гепатоцитів у овець, оскільки активність обох зазначених ензимів мала тенденцію до зниження протягом періо-

ду випоювання вітамінно-амінокислотного комплексу, порівняно з тваринами контрольної групи, у частини яких діагностували гіперферментемію цих гепатоіндикаторних ферментів. На противагу даним літератури, більш виразні зміни відмічали щодо активності аланінової аміотрансферази в крові дослідних овець.

За даними К.Е. Russell, А.Ж. Roussel для діагностики нефропатій у овець доцільним є дослідження їх біохімічного профілю крові та сечі [23]. Визначення як сироваткових білкових і небілкових сполук (креатиніну, загального білка, альбуміну), так і мінеральних компонентів (кальцію і фосфору) полегшить діагностику хвороб нирок [15]. З практичного погляду слід враховувати, що на концентрацію креатиніну в сироватці більше впливає м'язова маса, а не рівень годівлі чи катаболізму білків. Розглядаючи зовнішні чинники, які можуть змінювати обидва параметри, було зазначено, що креатинін є золотим стандартом для оцінки функції нирок у жуйних [15, 23]. Азотемія – це стан, який діагностують за підвищенням концентрації нітрогену сечовини та креатиніну в сироватці крові в нирковій панелі. Азотемію прийнято класифікувати на преренальну, ниркову та постренальну. Поширені причини преренальної азотемії включають: зниження ниркової перфузії внаслідок дегідратації, гіповолемії або шоку. Ниркова – розвивається за гострої або хронічної ниркової недостатності. Постренальна азотемія пов'язана із розвитком сечокам'яної хвороби, спричиненої утворенням та затримкою конкрементів у нирках, сечоводах або уретрі [25, 26]. За даними П.В. Шарандака, характерними ознаками нефрозу у вівцематок були збільшення концентрації в сироватці крові вмісту сечовини та креатиніну (45 і 60 % тварин). У кітних вівцематок найбільш інформативним критерієм діагностики нефрозу автор вважає збільшений вміст у сироватці крові креатиніну (100 % хворих), неплідних – сечовини (80 %) [9].

Випоювання вівцям вітамінно-амінокислотного комплексу Абетка для тварин не спричинило виразного впливу на функціональний стан нирок, оскільки вміст креатиніну в крові тварин дослідної групи залишався на стабільному рівні в межах встановлених фізіологічних лімітів норми.

**Висновки.** Вітамінно-амінокислотний комплекс Абетка для тварин не спричиняє гепатотоксичного та нефротоксичного впливу в організмі вівцематок, оскільки вміст загального білка, сечовини, холестеролу, креатиніну, активність індикаторних для печінки ферментів АсАТ і АЛАТ суттєво не змінювалися. Слід

відмітити позитивний вплив препарату щодо стимулювання альбуміносинтезувальної функції печінки в овець.

**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 відповідно до основних принципів “Європейської конвенції із 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. Review: biological determinants of between animal variation in feed efficiency of growing beef cattle/G. Cantalapiedra-Hijar et al. *Animal*. 2018. 12. P. 321–335. DOI:10.1017/S175 1731118001489.
2. Єфремов Д.В., Гноєвий І.В. Метаболізм поживних речовин в організмі вівцематок при використанні у їх годівлі нових преміксів. *Наук.-техн. бюл. ІТ НААН України*. 2010. № 102. С. 270–275.
3. Вплив амінокислот лізину, метіоніну та сульфору на м'ясну і вовнову продуктивність молодяку овець/ П.В. Стапай та ін. *Збірник наукових праць Харківської державної зооветеринарної академії*. Харків, 2014. Вип. 28. Ч. 2. С. 105–108.
4. Беженар І.М. Організаційно-економічні заходи розвитку вівчарства в Україні: історичний ракурс. *Економіка АПК*. 2011. № 9. С. 65–67.
5. Стапай П.В., Гавриляк В.В., Ткачук В.М. Протеїнове живлення овець. Ефективні корми та годівля. 2011. № 2. С. 24–29.
6. Застосування незамінних амінокислот при вирощуванні різних видів тварин/ М.П. Ніщенко та ін. *Науково-технічний бюлетень ІБТ НААН*. 2012. Вип. 3–4. С. 437–443.
7. Фізико-хімічні властивості вовни вівцематок і ягнят за умов використання лізину, метіоніну та сульфату натрію/ П. Стапай та ін. *Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. 2016. 4(1). С. 256–259.
8. Свістула М.М., Єфремов Д.В., Горб С.В. Особливості метаболізму поживних речовин в організмі баранців на відгодівлі за корекції амінокислотного складу раціонів. *Вівчарство та козівництво*. 2021. Вип. 5. С. 211–221.
9. Sharandak P., Levchenko V. Results analysis of ewes' blood on the basis of anthropogenic pollution. *European Journal of Scientific Research*. 2016. no 1 (13). Vol. 2. P. 548–554.
10. Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds/ A.I. Macrae et al. *Vet Rec*. 2006. 159. P. 655–661. DOI:10.1136/vr.159.20.655

11. Evans G.O. Animal clinical chemistry a practical guide for toxicologists and biomedical researchers., 2nd ed. Taylor & Francis, London, UK. 2009. 368 p. DOI:10.1201/9781420080124

12. Gruner T.M. Studies of Vitamin B12 Metabolism in Sheep. Ph.D. Thesis, Lincoln University, Philadelphia, PA, USA. 2001.

13. Russell K.E., Roussel A.J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2007. 23. P. 403–426. DOI:10.1016/j.cvfa.2007.07.003

14. Smith B.P. Large animal internal medicine, 5th ed. Elsevier Mosby, St. Louis, USA. 2015. 1712 p.

15. Castillo C., Abuelo A., Hernández J. Usefulness of metabolic profiling in the assessment of the flock's health status and productive performance. *Small Rumin Res.* 2016. 142. P. 28–30. DOI:10.1016/j.smallrumres.2016.02.019

16. Braun J.P., Trumel C., Bézille P. Clinical biochemistry in sheep: A selected review. *Small Rum Res.* 2010. 92. P. 10–18. DOI:10.1016/j.smallrumres.2010.04.002

17. Hernández J., José L., Benedito J.L., Castillo C. Relevance of the study of metabolic profiles in sheep and goat flock. Present and future: A review. *Spanish Journal of Agricultural Research.* 2020. 18 (3). 14 p. eISSN: 2171-9292 DOI:10.5424/sjar/2020183-14627

18. Fagundes M.A. Investigation of Methionine and Lysine Derivatives as a Source of Rumen-Protected Amino Acids for Lactating Dairy Cows. All Graduate Theses and Dissertations. 2021. 8031 p. URL:https://digitalcommons.usu.edu/etd/8031

19. Mota-Martorell N., Jové M., Berdún R., Pamplona R. Plasma methionine metabolic profile is associated with longevity in mammals. *Communications biology.* 2021. 4. 725 p. DOI:10.1038/s42003-021-02254-3

20. Celi P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharm Immunot.* 2011. 33. P. 233–240. DOI:10.3109/08923973.2010.514917

21. Cannas A. Feeding of lactating ewes. In: *Dairy sheep feeding and nutrition/ G. Pulina, (ed). Avenue Media, Bolonia, Italy.* 2002. P. 123–166.

22. Abdou M.M., Abd El Tawab A.M. The relationship between nutritional strategies and ruminants disorders: A review. *Int. Res. J. Anim. Vet.* 2020. 2. P. 1–7.

23. Russell K.E., Roussel A.J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2007. 23. P. 403–426. DOI:10.1016/j.cvfa.2007.07.003

24. Kaneko J.J., Harvey J.W., Bruss M.L. Clinical biochemistry of domestic animals, 6th ed. Academic Press, San Diego, USA. 2008. 928 p.

25. Milne E. Scott. Cost-effective biochemistry and haematology in sheep. In *Practice.* 2006. P. 454–461. DOI:10.1136/inpract.28.8.454

26. Metabolic profile and histopathology of kidneys and liver of lambs fed silages of forages adapted to a semi-arid environment/ F.S. Campos et al. *Magalhães South African Journal of Animal Science.* 2019. 49 (no. 3). DOI:10.4314/sajas.v49i3.16

## REFERENCES

1. Cantalapiedra-Hijar, G., Abo-Ismael, M., Carstens, G.E., Guan, L.L., Hegarty, R., Kenny, D.A. (2018). Review: biological determinants of between animal variation in feed efficiency of growing beef cattle. *Animal.* 12, pp. 321–335. DOI:10.1017/S1751731118001489.

2. Yefremov, D.V., Hnoievyi, I.V. (2010). Metabolizm pozhyvnykh rechovyn v orhanizmi vivtsematok pry vykorystanni u yikh hodivli novykh premiksiv [Metabolism of nutrients in the body of ewes when new premixes are used in their feeding]. *Nauk.-tekhn. biul. IT NAAN Ukrainy [Scientific and technical Bull. IT of the National Academy of Sciences of Ukraine]*, no. 102, pp. 270–275.

3. Stapai, P.V., Druzhyna, O.S., Tkachuk, V.M., Sydir, N.P., Havryliak, V.V., Paraniak, N.P., Skorokhid, A.V. (2014). Vplyv aminokyslot lizynu, metioninu ta sulfuru na miasnu i vovnovu produktyvnist molodniaku ovets [Effect of amino acids lysine, methionine and sulfur on meat and wool productivity of young sheep]. *Zbirnyk naukovykh prats Kharkivskoi derzhavnoi zooveterynarnoi akademii [Collection of scientific works of the Kharkiv State Zooveterinary Academy]. Kharkiv, Issue 28, Part 2, pp. 105–108.*

4. Bezhenar, I.M. (2011). Orhanizatsiino-ekonomichni zasady rozvytku vivcharstva v Ukraini: istorichni rakurs [Organizational and economic foundations of the development of sheep breeding in Ukraine: a historical perspective]. *Ekonomika APK [Economy of agro-industrial complex]*, no. 9, pp. 65–67.

5. Stapai, P.V., Havryliak, V.V., Tkachuk, V.M. (2011). Proteinove zhyvlennia ovets [Protein nutrition of sheep]. *Efektivni kormy ta hodivlia [Effective feed and feeding]*. no. 2, pp. 24–29.

6. Nishchemenko, M.P., Samorai, M.M., Prokopishyna, T.B., Poroshynska, O.A., Stovbetska, L.S. (2012). Zastosuvannia nezaminnykh aminokyslot pry vyroshchuvanni riznykh vydiv tvaryn [The use of essential amino acids in the cultivation of various types of animals]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten IBT NAAN [Scientific and technical bulletin of IBT of the National Academy of Sciences]*, Issue 3-4, pp. 437–443.

7. Stapay, P., Paranyak, N., Havryliak, V., Stahiv, N., Skorokhid, A. (2016). Fyzyko-khimichni vlastyivosti vovny vivtsematok i yahniat za umov vykorystannia lizynu, metioninu ta sulfatu natriiu [Physico-chemical properties of wool of ewes and lambs under conditions of use of lysine, methionine and sodium sulfate]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten NDTs biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK [Scientific and technical bulletin of the NDC of biosafety and ecological control of agricultural resources]*, 4(1), pp. 256–259.

8. Svistula, M.M., Yefremov, D.V., Horb, S.V. (2021). Osoblyvosti metabolizmu pozhyvnykh rechovyn v orhanizmi barantsiv na vidhodivli za korektsii aminokyslotnoho skladu ratsioniv [Peculiarities of the metabolism of nutrients in the body of fattening lambs for correction of the amino acid composition of diets]. *Vivcharstvo ta kozivnytstvo [Sheep breeding and goat breeding]*. Issue 5, pp. 211–221.

9. Sharandak, P., Levchenko, V. (2016). Results analysis of ewes' blood on the basis of anthropogenic pollution. *European Journal of Scientific Research*, no. 1 (13), Vol. 2, pp. 548–554.

10. Macrae, A.I., Whitaker, D.A., Burrough, E.,

Dowell, A., Kelly, J.M. (2006). Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds. *Vet Rec.* 159, pp. 655–661. DOI:10.1136/vr.159.20.655

11. Evans, G.O. (2009). *Animal clinical chemistry a practical guide for toxicologists and biomedical researchers.*, 2nd ed. Taylor & Francis, London, UK. 368 p. DOI:10.1201/9781420080124

12. Gruner, T.M. (2001). *Studies of Vitamin B12 Metabolism in Sheep.* Ph.D. Thesis, Lincoln University, Philadelphia, PA, USA.

13. Russell, K.E., Roussel, A.J. (2007). Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 23, pp. 403–426. DOI:10.1016/j.cvfa.2007.07.003

14. Smith, B.P. (2015). *Large animal internal medicine*, 5th ed. Elsevier Mosby, St. Louis, USA. 1712 p.

15. Castillo, C., Abuelo, A., Hernández, J. (2016). Usefulness of metabolic profiling in the assessment of the flock's health status and productive performance. *Small Rumin Res.* 142, pp. 28–30. DOI:10.1016/j.smallrumres.2016.02.019

16. Braun, J.P., Trumel, C., Bézille, P. (2010). Clinical biochemistry in sheep: A selected review. *Small Rum Res.* 92, pp. 10–18. DOI:10.1016/j.smallrumres.2010.04.002

17. Hernández, J., José, L., Benedito, J.L., Castillo, C. (2020). Relevance of the study of metabolic profiles in sheep and goat flock. Present and future: A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 18 (3), 14 p. eISSN: 2171-9292 DOI:10.5424/sjar/2020183-14627

18. Fagundes, M.A. (2021). *Investigation of Methionine and Lysine Derivatives as a Source of Rumen-Protected Amino Acids for Lactating Dairy Cows.* All Graduate Theses and Dissertations. 8031 p. Available at: <https://digitalcommons.usu.edu/etd/8031>

19. Mota-Martorell, N., Jové, M., Berdún, R., Pamplona, R. (2021). Plasma methionine metabolic profile is associated with longevity in mammals. *Communications biology.* 4, 725 p. DOI:10.1038/s42003-021-02254-3

20. Celi, P. (2011). Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharm Immunot.* 33, pp. 233–240. DOI:10.3109/08923973.2010.514917

21. Cannas, A. (2002). *Feeding of lactating ewes.* In: *Dairy sheep feeding and nutrition*; Pulina G, (ed). Avenue Media, Bolonia, Italy. pp. 123–166.

22. Abdou, M.M., Abd El Tawab, A.M. (2020). The relationship between nutritional strategies and ruminants disorders: A review. *Int. Res. J. Anim. Vet.*, 2, pp. 1–7.

23. Russell, K.E., Roussel, A.J. (2007). Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 23, pp. 403–426. DOI:10.1016/j.cvfa.2007.07.003

24. Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th ed. Academic Press, San Diego, USA. 928 p.

25. Milne, E.S. (2006). Cost-effective biochemistry and haematology in sheep. In *Practice.* pp. 454–461. DOI:10.1136/inpract.28.8.4

26. Campos, F.S., Carvalho, G.G.P., Santos, E.M., Araújo, G.G.L., Rebouças, R.A., Estrela-Lima, A., Ara-ujo, M.L.G.M.L., Oliveira, J.S., G.C. Gois & A.L.R. (2019). Metabolic profile and histopathology of kidneys and liver of lambs fed silages of forages adapted to a semi-arid environment. *Magalhães South African Journal of Animal Science*, 49 (no. 3). DOI:10.4314/sajas.v49i3.16

### Evaluation of changes in indicators of the liver and kidneys functional state in sheep under the influence of the drug "Alphabet for animals"

Vovkotrub N., Melnyk A., Piddubnyak O., Kharchenko A., Chub O.

The article provides data on the analysis of changes in the metabolic profile of the liver and kidneys during and after the use of a vitamin-amino acid complex containing essential amino acids and biologically active substances, such as vitamins A, D, E, K, B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>12</sub>. The existing shortage of nutrients and biologically active substances in the diets of sheep prompts scientists and practitioners to conduct a constant search for the use of non-traditional local feeds and additives of a wide variety of origins. An important role in this plan is given to mineral elements, enzymes, amino acids and vitamins. The use of these biologically active nutrients allows the most effective use of nutrients in the diet, which in turn ensures the maximum possible genetically determined productivity of animals, high reproductive capacity. However, these issues are still poorly studied and require fundamental research, specifically in certain regions of the country. So, in the context of the above, there is a need to conduct research related to increasing the transformation of feed nutrients into the products of ewes by optimizing amino acid and vitamin nutrition in order to maximize their productive qualities. In the conducted research, the positive effect of the drug "Alphabet for animals" on the functional state of the liver and kidneys of ewes was established, since biomarkers that characterize the work of these organs, such as the content of total protein, cholesterol, urea nitrogen, creatinine, the activity of hepatoindicative enzymes, did not show negative changes. on the contrary, they had stabilizing dynamics. The components of the vitamin-amino acid complex had a positive effect on stimulating the albumin-synthesizing function of the liver in sheep.

**Key words:** sheep, vitamin-amino acid complex, hepatorenal status, protein-lipid metabolism, hepatoindicative enzymes.



Copyright: Вовкотруб 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.

ORCID iD:

Вовкотруб Н.В.

Мельник А.Ю.

Піддубняк О.В.

Харченко А.В.

Чуб О.В.

<https://orcid.org/0000-0003-3297-454X>

<https://orcid.org/0000-0001-9129-4814>

<https://orcid.org/0000-0001-9071-2041>

<https://orcid.org/0000-0002-5262-243X>

<https://orcid.org/0000-0002-6049-1206>




## ТЕРАПІЯ ТА КЛІНІЧНА ДІАГНОСТИКА

УДК 619:616. 153.284:636.2:612.015.6

### Метаболізм протеїнів у глибокотільних корів та нетелей

Білик Б.П., Сахнюк В.В.

Білоцерківський національний аграрний університет

 Сахнюк В.В. E-mail: volodymyr.sakhniuk@gmail.com



Білик Б.П., Сахнюк В.В. Метаболізм протеїнів у глибокотільних корів та нетелей. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 66–75.

Bilyk B., Sakhniuk V. Protein metabolism in deep-bodied cows and heifers. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 66–75.

Рукопис отримано: 18.12.2022 р.  
Прийнято: 23.12.2022 р.  
Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-66-75

Системи управління здоров'ям і продуктивністю мають бути зосереджені на ранньому виявленні та подальшому запобіганні фізіологічних дисбалансів у молочних стадах. Тому актуальною є необхідність постійного моніторингу стану здоров'я корів різних фізіолого-технологічних груп, зокрема маркерів білкового обміну. Уміст загального протеїну в сироватці крові глибокотільних корів і нетелей встановлено в межах 58,3–102,7 г/л ( $77,2 \pm 0,48$  г/л). Порушення його метаболізму діагностували в 35,4 % тварин, причому у більшості із них (20,4 %), переважно у нетелей, воно проявлялось гіпопротеїнемією. Оптимальний уміст альбумінів встановлено у 81,2 % дослідженого поголів'я за середнього значення  $41,1 \pm 0,26$  %, зокрема у 74,6 % сухостійних корів та у 91,7 % нетелей. Гіпоальбумінемію діагностували в середньому у 18,8 % тварин, зокрема у 25,4 % корів та у 8,3 % нетелей. У сухостійних корів патологія виникала переважно унаслідок розвитку дистрофічних процесів у печінці у попередні лактаційні періоди, у нетелей, передусім, за дефіциту протеїну в раціоні.

У 72,2 % досліджених тварин за 40–10 діб до передбачуваних родів відсутні порушення колоїдної стійкості грубодисперсних протеїнів. У 14,1 % зразків сироватки крові тест був слабопозитивний (++) , в 11,5 % – позитивний (+++) і різкопозитивний (++++). У 2,2 % корів утворення у пробірці щільного згустку молочно-білого забарвлення констатували вже через 4–7 год після постановки реакції (тест гіперпозитивний – +++++).

Оптимальні значення метаболізму сечовини в сироватці крові встановлені у 48,1 % сухостійних корів та в 55,0 % нетелей ( $3,53 \pm 0,043$  ммоль/л; 1,82–6,80). Зниження її вмісту діагностували, відповідно, у 49,7 і 45,0 % тварин. Метаболізм креатиніну в сироватці крові 94,8 % досліджених сухостійних корів та у 94,1 % нетелей був оптимальний, а його значення знаходились у межах референтних величин. Гіперкреатинінемію діагностували у 5,4 % дослідженого поголів'я тварин, що, ймовірно, може бути спричинене розвитком дистрофічних процесів у клубочках нирок.

**Ключові слова:** метаболізм, діагностика, протеїни, альбуміни, сечовина, креатинін, печінка, глибокотільні корови, нетелі.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Висока молочна продуктивність корів потребує створення і дотримання технологічної дисципліни їх експлуатації та годівлі. Зокрема, у корів з надоем 8–12 тис. кг молока за лактацію сухої речовини виділяється значно більше, ніж надходить в організм. Забезпечення такого високого рівня обміну речовин у тварин

неможливе без організації і дотримання технологічної дисципліни їх експлуатації та повноцінної годівлі, адже високі добові надой молока забезпечуються значно більшою інтенсивністю обмінних процесів організму. Балансування раціонів високопродуктивних корів за 24–30 показниками поживності відповідно до науково обґрунтованих норм є головним чинником

високої продуктивності, відтворної здатності і продовженого до 4–5 лактацій їх продуктивного довголіття [1–4].

Для високопродуктивних корів найбільш повноцінними є корми з низькою розщеплюваністю протеїну в рубці. Зокрема, чим вища продуктивність тварин, тим більшу кількість важкорозщеплюваного протеїну вони мають отримувати. Розщеплюваний у рубці білок є джерелом азоту для мікроорганізмів, які використовують його для синтезу необхідних амінокислот і високоякісного мікробіального протеїну [3, 5–8].

Системи управління здоров'ям і продуктивністю мають бути зосереджені на ранньому виявленні та подальшому запобіганні фізіологічних дисбалансів у молочних стадах. Отже, актуальним є необхідність постійного моніторингу стану здоров'я корів різних фізіологічних і технологічних груп, зокрема маркерів білкового метаболізму [1, 2, 4, 9–13].

**Метою дослідження** є моніторинг метаболізму протеїнів у сироватці крові глибокотільних корів і нетелей за допомогою загальноприйнятих маркерів білкового метаболізму.

**Матеріал і методи дослідження.** Роботу виконували на поголів'ї голштинської чорно-рябої та української чорно-рябої молочних порід у високотехнологічних господарствах різних форм власності. Об'єктом дослідження були глибокотільні корови і нетелі. Продуктивність корів за попередню лактацію становила у середньому 8–12 тис. кг молока. Утримання тварин секційне, годівлю проводять загальнозмішаним раціоном із кормових столів.

У сироватці крові визначали загальний протеїн (за біуретовою реакцією), альбуміни (за реакцією з бромкрезоловим зеленим), загальну кількість імуноглобулінів (за реакцією з натрію сульфідом), сечовину (за колірною реакцією з діацетилмонооксимом), креатинін (за колірною реакцією Яффе, метод Поппера)

за уніфікованими методиками [14, 15] з використанням напівавтоматичного біохімічного аналізатора Stat Fax-4500. Результати формолового тесту оцінювали за загальноприйнятою методикою [14–16]. Проводили аналіз раціонів годівлі глибокотільних корів і нетелей щодо забезпеченості за поживними та біологічно активними речовинами [3–5]. Отримані результати лабораторного дослідження крові обробляли статистичними методами за допомогою програми “Statistika” з використанням навчально-методичного посібника [17].

**Результати дослідження.** Досвід роботи з високопродуктивними стадами молочних корів голштинської породи свідчить про те, що хвороби обміну речовин залишаються одними з найбільш поширених.

Рівень продуктивності високоудійних корів безпосередньо залежить від інтенсивності обміну речовин. Швидкість і спрямованість синтетичних процесів значною мірою визначаються генетичним потенціалом і залежать, зокрема, від ефективного використання поживних речовин раціону, умов утримання, а також функціонального стану внутрішніх органів [1, 2, 16, 18–22].

Одним із показників, за яким проводять моніторинг метаболізму протеїнів і білоксинтезувальної функції печінки, є загальний протеїн. Проведено дослідження сироватки крові 313 глибокотільних корів і нетелей. Встановлено, що рівень загального протеїну в сироватці крові всіх тварин у загальному був варіабельним, знаходився в межах від 58,3 до 102,7 г/л і становив у середньому 77,2±0,48 г/л із деякими відмінностями по окремих групах: у сухостійних корів – 79,4± 0,61 г/л (59,2–102,7), у нетелей – 73,60,63 г/л (58,3–91,4) (p < 0,2; табл. 1).

Таблиця 1 – Метаболізм простих протеїнів у глибокотільних корів і нетелей

Показник	Біометричні показники	Група тварин			
		глибокотільні корови	нетелі	p <	глибокотільні корови+нетелі
Загальний протеїн, г/л	n	193	120	0,05	313
	M ± m	79,4±0,61	73,6±0,63		77,1±0,48
	Lim	59,2–102,7	58,3–91,4		58,3–102,7
Альбуміни, у відсотках	n	193	120	0,1	313
	M ± m	40,2±0,34	42,5±0,35		41,1±0,26
	Lim	20,6–49,2	27,9–47,9		20,6–49,2
Заг. кількість Ig, г/л	n	193	120	0,05	313
	M ± m	18,3±0,36	15,4±0,41		17,2±0,28
	Lim	9,0–33,7	8,4–26,4		8,4–33,7

**Примітка.** p < глибокотільні корови порівняно з нетелями.

Порушення метаболізму загального протеїну (гіпер- і гіпопротеїнемія) встановлено у 111 гол. (35,4 %), зокрема підвищення його вмісту – у 15,0 %, зниження – у 20,4 % корів і нетелей. Аналіз результатів досліджень засвідчує, що серед поголів'я нетелей гіпопротеїнемію (< 70,0 г/л) діагностували у третини досліджених (30,8 %). Переважно це були тварини на 7–8 міс. тільності, а вміст протеїну у їх раціонах годівлі становив 69,7–82,3 % від потреби. Зменшення концентрації загального протеїну діагностували у 14,0 % сухостійних корів. Отже, є висока ймовірність негативного впливу дефіциту протеїну на розвиток плода.

Збільшення вмісту загального білка – гіперпротеїнемію – виявили у 5,83 % нетелей та 20,7 % корів, передусім у 3–6-річних. Отже, за моніторингу 313 сухостійних корів і нетелей порушення обміну загального протеїну діагностували в 111 тварин, що становило 35,4 %, причому у більшості із них (20,4 %), переважно у нетелей, виявили гіпопротеїнемію, що може бути наслідком недостатнього протеїнового живлення тварин за дисбалансу раціонів.

Оцінку білоксинтезувальної функції печінки у корів і нетелей проводили також за вмістом у сироватці крові окремих фракцій простих білків, зокрема альбумінів. За результатами досліджень уміст дрібнодисперсних білків у сироватці крові 313 тварин (сухостійні корови і нетелі) знаходився у межах від 20,6 до 49,2 % за середнього значення  $41,1 \pm 0,26$  %. Відмічали тенденцію до збільшення частки дрібнодисперсних білків у сироватці крові нетелей ( $42,5 \pm 0,35$  %), порівняно з групою глибокотільних тварин ( $40,2 \pm 0,34$  %;  $p < 0,1$ ; див. табл. 1).

Оптимальна концентрація альбумінів встановлена у 81,2 % дослідженого поголів'я (254 гол.), зокрема в 74,6 сухостійних корів (144 гол.) та у 91,7 % нетелей (110 гол.). Гіпоальбумінемію діагностували у 59 тварин (у середньому – 18,8 %), зокрема у 49 корів (25,4 %) і 10 нетелей (8,3 %). Отже, виражена різниця між порушенням синтезу дрібнодисперсних білків у гепатоцитах корів і нетелей на 8–9 міс. тільності. Проте, якщо у нетелей патологія, передусім, аліментарного походження (виникає на тлі дефіциту протеїну в раціоні), то у 90 % досліджених сухостійних корів – унаслідок розвитку дистрофічних процесів (жирова або білкова дистрофія), найімовірніше, у попередній лактації.

Проведена структуризація метаболізму зразків сироватки крові на вміст загального протеїну та альбумінів у сухостійних корів і нетелей засвідчує наступне: а) поєднання опти-

мальних значень обох показників встановлено у 62,0 % тварин (194 гол.). Між оптимальним умістом загального протеїну та альбумінів встановлено позитивний (прямий) корелятивний зв'язок ( $r = + 0,23$ ); б) незначну гіпопротеїнемію (67,5–69,7 г/л) за оптимальних значень альбумінів діагностували у 17,9 % (56 гол.); в) поєднання гіперпротеїнемії та гіпоальбумінемії – в 11,2 % (35 гол.); г) одночасне зниження обох показників виявлено в 3,2 % досліджених зразків (10 гол.). У незначній частці тварин (5,7 %) діагностували гіперпротеїнемію за оптимальних значень альбумінів або гіпоальбумінемію за фізіологічних величин загального протеїну.

Зниження вмісту загального білка та альбумінів в сироватці крові корів і нетелей за 10–3 доби до родів, очевидно, є фізіологічним явищем, що пов'язано зі збільшенням об'єму периферичної крові у руслі і підвищеною потребою плода в замісних та незамінних амінокислотах.

Фракція  $\gamma$ -глобулінів є однією з найбільших у структурі загального протеїну. Вони містять основну масу антитіл (імуноглобулінів) і виконують функцію неспецифічного (гуморального) захисту організму. Тому їх кількість у сироватці крові тварин залежить від функціональної активності імунокомпетентних клітин – В-лімфоцитів. Відомо [23], що нагромадження імуноглобулінів у секреті молочної залози корів починається за 30–35 днів до фізіологічно детермінованих пологів, а найбільш інтенсивне воно в останні дні перед отеленням.

Встановлено, що концентрація імуноглобулінів у сироватці крові всіх досліджених тварин (сухостійні корови і нетелі) знаходилася в досить великому діапазоні величин – від 8,35–9,0 г/л (min) до 26,4–33,7 г/л (max) за середнього значення  $17,2 \pm 0,28$  г/л ( $n = 313$ ; див. табл. 1). Слід вказати на різницю середніх значень Ig по окремих групах: у групі сухостійних корів –  $18,3 \pm 0,36$  г/л, у нетелей –  $15,4 \pm 0,39$  г/л, що в 1,2 рази менше ( $p < 0,05$ ; табл. 1).

У 32,6 % тварин (102 гол.) значення імуноглобулінів знаходились у межах 18,0–23,0 г/л, що вважаються референтними величинами [16], причому серед поголів'я корів таких було 37,8 %, що в 1,6 рази більше, ніж у нетелей. Зниження вмісту Ig діагностували в середньому у 55,6 % досліджених тварин, зокрема, в 46,1 % сухостійних корів та у 70,8 % нетелей. Динаміка гіперімуноглобулінемії мала абсолютно іншу спрямованість: концентрацію Ig у сироватці крові понад 23 г/л встановлено в 5,0 % нетелей із максимальними значеннями 25,5–26,4 г/л та у 16,1 % (31 гол.) досліджених

корів із значно вищими, порівняно з нетелями, максимальними величинами (31,8–33,7 г/л).

Стан метаболізму протеїнів у сухостійних корів і нетелей оцінювали також за наявністю і ступенем розвитку диспротеїнемії. Інформативними в цьому значенні є колоїдно-осадові тести з розчинами сулеми, міді сульфату, формолова, тимолова, глютаральдегідна, Вельтмана, Гайєма, кадмієва та ін., які можуть вказувати на зниження стабільності сироваткових білків унаслідок збільшення вмісту грубодисперсних глобулінів і білків, не властивих здоровому організму [14–16, 24].

Формоловий тест, що ґрунтується на желатинуванні білків сироватки крові за підвищеного вмісту глобулінів, особливо  $\gamma$ -фракції, та фібриногену, був негативним (–) або сумнівним (+) у 174 і 52 тварин, що становить, відповідно, 55,6 та 16,6 % від загальної кількості досліджених зразків (табл. 2).

Отже, за отриманими середніми значеннями у 72,2 % досліджених глибокотільних корів і нетелей за 40–10 діб до передбачуваних родів порушення колоїдної стійкості грубодисперсних протеїнів сироватки крові не виявлено.

У 14,1 % зразків сироватки крові (44 гол.), що були отримані від сухостійних корів і нетелей, через 24 год після постановки реакції відмічали утворення нещільного згустку без зміни природного забарвлення сироватки крові, що вважається слабопозитивним тестом (++) , зокрема, у 20,7 % (40 гол.) серед корів та у 3,3 % (4 гол.) у нетелей (див. табл. 2).

Позитивні (+++) і різко позитивні (++++) значення формолової реакції діагностували в 11,5 % (36 гол.) досліджених тварин, причому частка диспротеїнемій у сироватці крові сухостійних корів була в 3,4–4,0 рази більшою, ніж у нетелей (див. табл. 3). У 58,8 % досліджених тварин за показників формолового

тесту у +++ і ++++ діагностували виражену гіперпротеїнемію (89,3–96,7 г/л), гіпоальбумінемію (29,3–32,1%) та гіпер- $\gamma$ -глобулінемію (25,9–29,0 г/л; див. табл. 2).

Слід звернути особливу увагу дослідників на ймовірність утворення у пробірці щільного згустку молочно-білого забарвлення вже через 4–6 год після постановки формолового тесту. Така реакція гіперактивної взаємодії глобулінових фракцій протеїнів із розчином формальдегіду встановлена лише у сухостійних корів 3–6-річного віку (7 гол. – 2,2 %) із 193 досліджених. Зміни метаболізму білків супроводжувались значним збільшенням у сироватці крові тварин загального протеїну (97,4–102,7 г/л), імуноглобулінів – (27,2–33,7 г/л) і зниженням частки дрібнодисперсних протеїнів (до 30,7–20,6 %), що може свідчити про розвиток вираженої диспротеїнемії та утворення патологічних білків. Оскільки в опрацьованих нами літературних джерелах такий тип реакції не описаний, пропонуємо до оцінки результатів формолового тесту додати термін гіперпозитивний і позначати його.

Отже, диспротеїнемію різного ступеня діагностували у 38,9 % сухостійних корів (75 гол.) та 8,3 % (12 гол.) нетелей.

За результатами досліджень уміст сечовини в сироватці крові сухостійних корів і нетелей знаходився у межах від 1,82 до 6,80 ммоль/л за середнього значення  $3,53 \pm 0,043$  ммоль/л з максимально подібними середніми величинами по кожній окремій групі (табл. 3).

Оптимальні значення метаболізму сечовини в сироватці крові встановлені у 48,1% сухостійних корів та 55,0 % нетелей (у середньому в 50,8 % – 159 гол.) і різниця у статистичних показниках між групами корів і нетелей була невірогідною ( $p < 0,5$ ). Зниження її вмісту діагностували, відповідно, у 49,7 і 45,0 % (у 96 із 193 корів та у 54 із 120 нетелей).

Таблиця 2 – Характеристика результатів формолового тесту у сухостійних корів і нетелей

Оцінка результатів тесту	Досліджено зразків сироватки крові					
	глибокотільні корови (n=193)		нетелі (n=120)		глибокотільні корови+ нетелі (n=313)	
	гол.	%	гол.	%	гол.	%
Негативний, (–)	87	45,1	87	72,5	174	55,6
Сумнівний, (+)	31	16,1	21	17,5	52	16,6
Слабопозитивний, (++)	40	20,7	4	3,3	44	14,1
Позитивний, (+++)	17	8,8	5	4,2	22	7,0
Різкопозитивний, (++++)	11	5,7	3	2,5	14	4,5
Гіперпозитивний, (+++++)	7	3,6	–	–	7	2,2
Разом	193	100,0	120	100,0	313	100,0

Таблиця 3 – Метаболізм деяких небілкових азотовмісних речовин у глибокотільних корів і нетелей\

Показник	Біометричні показники	Група тварин			
		глибокотільні корови	нетелі	p <	глибокотільні корови+нетелі
Сечовина, ммоль/л	n	193	120	0,5	313
	M ± m	3,53±0,054	3,52±0,070		3,53±0,043
	Lim	1,90–6,80	1,82–6,0		1,82–6,80
Креатинін, мкмоль/л	n	193	120	0,5	313
	M ± m	115,1±1,45	112,3±1,49		114,0±1,06
	Lim	76,0–198,0	78,4–171,0		76,0–198,0

**Примітка.** p < – глибокотільні корови порівняно з нетелями.

Метаболізм креатиніну у сироватці крові глибокотільних корів і нетелей характеризувався максимально подібними мінімальними, максимальними та середніми значеннями (див. табл. 3). За даними літератури [16], референтні значення креатиніну у високопродуктивних корів знаходяться у межах 80,0–150,0 мкмоль/л. Встановлено, що у 94,8 % досліджених сухостійних корів та 94,1 % нетелей концентрація креатиніну в сироватці крові була оптимальною.

Гіперкреатинінемію діагностували у 5,4 % (17 гол.) дослідженого поголів'я тварин. Зниження концентрації креатиніну до 77,3–73,5 мкмоль/л виявлене у незначній кількості тварин, яке, за даними літератури [16, 27], є маліформативним.

**Обговорення.** Загальновідомо, що створення високопродуктивних молочних стад неможливе без диспансеризації худоби з постійним моніторингом стану метаболізму. У країнах із розвиненим молочним скотарством розроблені системи і норми годівлі високопродуктивних корів, використання яких дозволяє оптимально забезпечувати потреби тварин в енергії, протеїні, вітамінах та мінеральних елементах залежно від фізіологічного стану і рівня продуктивності [28–30]. Вітчизняні вчені також доклали зусиль для розробки нових систем їх годівлі, технології утримання, діагностики, лікування і профілактики хвороб [1–5, 31–35].

Вимірювання метаболітів сироватки крові, що відображають стан обміну протеїнів, жирів, вуглеводів, вітамінів, мінеральних сполук дозволяє оцінити адекватність основних метаболічних процесів, що пов'язані з енергією, протеїном та мінеральними речовинами, є інформативною для оцінки стану живлення та здоров'я тварин із подальшою інтерпретацією індивідуальних значень [9, 36–38].

Одним із маркерів білкового метаболізму є загальний протеїн сироватки крові, збільшення концентрації якого діагностували, зокрема, у 20,7 % сухостійних корів, передусім, у 3–6-річних. Можливо це є наслідком порушення ме-

таболізму в організмі корів упродовж попередніх лактацій, зокрема надмірне протеїнове живлення, або ж за дефіциту сухої речовини, обмінної енергії, перетравного протеїну, легкоферментованих вуглеводів у перші 30–60 днів після отелення, що призводить до розвитку негативного енергетичного балансу [16, 28–31].

Порушення обміну альбумінів діагностували у 18,8 % дослідженого поголів'я. Розвиток гіпоальбумінемії у тварин може бути спричинений як аліментарними чинниками, зокрема низькою якістю протеїну в кормах, недостатністю білків у раціоні, так і внаслідок хвороб печінки, зокрема гепатодистрофії чи гепатиту. Оскільки у корів зі зниженим умістом альбумінів у сироватці крові не встановлено жодних клінічних ознак, які б характеризували розвиток хвороб, зокрема кетозу, патології серця та органів дихання, за яких настає вторинне ураження печінки, найбільш ймовірним є те, що ця патологія має субклінічний перебіг і свідчить про початковий етап розвитку деструктивних процесів у гепатоцитах [2, 8, 9, 18, 19, 39, 40, 41–44].

Розщеплення білків у передшлунках та кишечнику великої рогатої худоби супроводжується утворенням значної кількості аміаку, який у печінці перетворюється в сечовину, що є одним із основних компонентів фракції небілкових азотовмісних речовин [6, 25–27].

Концентрація сечовини в сироватці крові є об'єктивним маркером розщеплення протеїну мікроорганізмами рубця, вмісту та якості кормового протеїну. Оскільки печінка має значні функціональні резерви, тому синтез сечовини зберігається навіть тоді, коли уражено 85 % її паренхіми. У досліджуваних тварин не встановлено видимих ознак патології органа, тому зменшення концентрації сечовини в сироватці крові сухостійних корів і нетелей було спричинене, передусім, недостатнім умістом протеїну в раціонах (менше 90 г на 1 корм. од.), а також ураженням печінки і розвитком гепатодистрофії [2, 8, 9, 35, 41–44].

Унаслідок метаболізму амінокислот (аргініну, гліцину та метіоніну) утворюється ще один

продукт залишкового азоту – креатин. Початковий етап синтезу його проходить у нирках, а закінчується у печінці, звідки з течією крові надходить у м'язи. У м'язовій тканині креатин перетворюється у креатинін, який, будучи безпороговим метаболітом, у клінічно здорових тварин повністю фільтрується клубочковим апаратом нефрону, майже не реабсорбується в канальцях і виділяється із сечею [6, 27].

Порушення метаболізму креатиніну, зокрема, гіперкреатинінемію, діагностували у незначної кількості (5,4 %) дослідженого поголів'я, що, ймовірно, може бути спричинене розвитком дистрофічних процесів у клубочках нирок, а також за посиленого утворення креатиніну через зменшення синтезу креатинфосфату та за поєданого розвитку гострої ниркової недостатності і нефротичного синдрому [12, 16, 24, 27, 36, 39].

**Висновки. 1.** Системи управління здоров'ям стада мають бути спрямовані на ранню діагностику та профілактику дисбалансів у високопродуктивних корів. Тому актуальною є необхідність постійного моніторингу стану здоров'я корів різних фізіолого-технологічних груп, зокрема маркерів білкового обміну.

2. Порушення метаболізму загального протеїну діагностували в 35,4 % тварин, переважно у нетелей. Оптимальний уміст альбумінів встановлено у 81,2 % корів і нетелей, гіпоальбумінемію діагностували у 18,8 % тварин.

3. Порушення колоїдної стійкості грубодисперсних протеїнів діагностували у 27,8 % дослідженого поголів'я, зокрема у 2,2 % корів утворення у пробірці щільного згустку молочно-білого забарвлення констатували вже через 4–7 год після постановки реакції (тест гіперкоагуляції – +++++).

4. Оптимальні значення метаболізму сечовини в сироватці крові встановлені у 48,1 % сухостійних корів та 55,0 % нетелей. Зниження її вмісту діагностували, відповідно, у 49,7 і 45,0 % тварин.

Метаболізм креатиніну в сироватці крові 94,8 % досліджених сухостійних корів та у 94,1 % нетелей був оптимальний, а його значення знаходились у межах референтних величин. Гіперкреатинінемію діагностували у 5,4 % дослідженого поголів'я тварин, що, ймовірно, може бути спричинене розвитком дистрофічних процесів у клубочках нирок.

**Відомості про дотримання біоетичних норм.** Експериментальні дослідження проводили із дотриманням вимог Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. “Про захист тварин від жорстокого поводження” та відповідно до основних принципів “Європейської конвенції

із 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. Кондрахін І.П., Левченко В.І. Фізіологічні основи профілактики внутрішніх хвороб тварин. Вісник аграр. науки. 1999. № 2. С. 33–35.
2. Левченко В.І., Сахнюк В.В. Етіологія, патогенез та діагностика внутрішніх хвороб у високопродуктивних корів. Вісник аграр. науки. 2001. № 10. С. 28–32.
3. Теорія і практика нормованої годівлі великої рогатої худоби: монографія / Г.О. Богданов та ін.; за ред. В.М. Кандиби, І.І. Ібатулліна, В.І. Костенка. Ж., 2012. 860 с.
4. Рубан С.Ю., Василевський М.В. Організація нормованої годівлі в молочному скотарстві: монографія. К., 2014. 136 с.
5. Довідник з повноцінної годівлі сільськогосподарських тварин / І.І. Ібатуллін та ін.; за ред. І.І. Ібатулліна та О.М. Жукорського. Київ, 2016. 300 с.
6. Остапенко Л.І., Рибальченко В.К. Біологічна і біоорганічна хімія: навч. посібник. 2 т. Т. 1. Молекулярна організація живого. Метаболізм і біоенергетика. Київ: ВПЦ «Київський університет», 2014. 1044 с.
7. Adaptation of some energetic parameters during transition period in dairy cows / E. Fiore et al. Journal of Applied Animal Research. 2018. 46. P. 402–405.
8. Weiss W. Estimating digestible and metabolizable energy concentrations of ruminant diets. EAAP Scientific Series. 2019. 138. P. 83–88.
9. Hussein H.A., Thurmann J.P. 24-h variation of blood serum metabolites in high yielding dairy cows and calves. BMC Vet. Res. 2020. Vol. 16. P. 327–340.
10. Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds / A.I. Macrae et al. Vet. Rec. 2016. 159. P. 655–61.
11. Cellini M., Hussein H.A., Elsaud H.K., Sued A.S. The association between metabolic profile indices, clinical parameters, and ultrasounds measurement of baskfat trickness during the periparturient period of dairy cows. Comp. Clin. Pathol. 2019. 28. P. 711–723.
12. Purrel K., Kuczynska B. Metabolic profiles of cow's blood a review. J. Sci. Food. Agric. 2016. 96. P. 4321–28.
13. Intraday variation of metabolic key indicators in serum of dairy cows between week 2 antepartum and week 12 postpartum / S. Wiedemann et al. Czech. J. Amin. Sci. 2013. 58. P. 343–350.
14. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин: навч. посібник / В.І. Левченко та ін.; за ред. В.І. Левченка. К.: Аграрна освіта, 2010. 437 с.

15. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В.В. Влізло та ін.; за ред. В.В. Влізла. Львів: СПО-ЛОМ, 2012. 764 с.
16. Сахнюк В.В. Поліморбідність внутрішньої патології у високопродуктивних корів (експериментальне та теоретичне обґрунтування патогенезу, методів діагностики, лікування і профілактики): дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.01. Біла Церква, 2009. 313 с.
17. Петровська І.Р., Салига Ю.Т., Вудмаска І.В. Статистичні методи в біологічних дослідженнях: навч.-метод. посіб. Київ, Аграрна наука, 2022. 172 с.
18. Влізло В., Хельтерскінкен М., Шолоц Г., Штейер М. Порухення годівлі корів – причина захворюваності. Вет. медицина України. 2001. № 5. С. 38–39.
19. Левченко В.І., Сахнюк В.В., Утеченко М.В. Морфо-функціональний стан печінки за множинної внутрішньої патології у високопродуктивних корів. Наук. вісник вет. медицини: зб. наук. праць. Біла Церква, 2009. Вип. 62. С. 45–51.
20. Variation in blood serum proteins and association with somatic cell count in dairy cattle from multi-breed herds / T. Bobbo et al. *Animal*. 2017. Vol. 11. Issue 12. P. 2309–2319.
21. Ghaffari M.H., MacPerguson J.A., Berends H., Steele M. Diurnal variation of NMR based blood metabolites in calves fed a high plane of milk replacer: a pilot study. *BMC Vet. Res.* 2017. 13. 271 p.
22. Pavol Mudron. Body condition score and health disorders in dairy cows. *Proceedings of the XX. Middle European Buiatric Congress. Slovenia, 2021.* P. 8–12.
23. Маслянюк Р.П., Флюнт Р.Б. Імунний статус телят з різними строками внутрішньоутробного розвитку. Наук. вісник Львів. держ. акад. вет. медицини ім. С.З. Гжицького. Львів, 2000. Т. 2 (№ 2). Ч. 1. С. 132–136.
24. Сахнюк В.В. Параметри оцінки клініко-функціонального стану печінки і нирок у клінічно здорових високопродуктивних корів. Вісник Білоцерків. держ. аграрн. ун-ту. Біла Церква, 2008. Вип. 51. С. 78–85.
25. Янович В.Г., Сологуб Л.І. Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин: монографія. Львів, 2000. 384 с.
26. Великая Н.В., Брюзгина Т.С. Газохроматографический анализ липидов сыворотки крови и желчи при токсических поражениях печени. *Клин. лабор. диагностика*. 2002. № 6. С. 50–51.
27. Вовкотруб Н.В. Нефротичний синдром у високопродуктивних корів і новонароджених телят (патогенез, діагностика і лікування): автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.01. Біла Церква, 2005. 22 с.
28. Milk metabolomics data reveal the energy balance of individual dairy cows in early lactation / W. Xu et al. *Sci. Rep.* 2018. 8. P. 1582–1588.
29. Metabolomics of milk reflects a negative energy balance in cows / W. Xu et al. *J. Proteome Res.* 2020. 19. 8. P. 2942–2949.
30. Changes in milk proteome and metabolome associated with dry period length, energy balance, and lactation stage in postparturient dairy cows / J. Lu et al. *J. Proteome Res.* 2013. 12. P. 3288–3296.
31. Левченко В.І., Сахнюк В.В., Чуб О.В. Поширення, етіологія, особливості перебігу та діагностики множинної внутрішньої патології у високопродуктивних корів. Наук. вісник вет. медицини. Біла Церква, Вип. 5 (78). 2010. С. 97–102.
32. Сахнюк В.В., Левченко В.І., Чуб О.В. Профілактика множинної внутрішньої патології у високопродуктивних корів. Наук. вісник ветеринарної медицини. 2015. № 1 (118). С. 30–37.
33. Гепатодистрофія високопродуктивних корів / В.В. Сахнюк та ін. Наук. вісник вет. медицини. 2017. № 1 (133). С. 32–384.
34. Левченко В.І. Внутрішні хвороби високопродуктивних корів (етіологія, діагностика, лікування і профілактика): метод. рекомендації / В.І. Левченко та ін. Біла Церква, 2007. 64 с.
35. Distribution, etiology, course and diagnosis specificity of polymorbid internal pathology in cows / V. Sakhniuk et al. *Hungary Veterinary Journal. Budapest*, 2018. P. 319–325.
36. Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds / A.I. Macrae et al. *Vet. Rec.* 2006. 159. P. 655–661.
37. Cellini M., Hussein H.A., Elsayed H.K., Sayed A.S. The association between metabolic profile indices, clinical parameters, and ultrasound measurement of backfat thickness during the periparturient period of dairy cows. *Comp. Clin. Pathol.* 2019. 28. P. 711–23.
38. Puppel K., Kuczyńska B. Metabolic profiles of cow's blood a review. *J. Sci. Food Agric.* 2016. 96. P. 4321–8.
39. Le Blanc S.J. Monitoring metabolic health of dairy cattle in transition period. *J. Reprod. Dev.* 2010. 56. P. 29–35.
40. Relationship between blood metabolic hormones, metabolites and energy balance in Simmental dairy cows during peripartum period and lactation / R. Djokovic et al. *Pak. Vet. J.* 2015. 35. P. 163–167.
41. Characterization of plasma metabolites in Holstein dairy cows during the periparturient period / A.F. Park et al. *Int J. Dairy Sci.* 2010. 5(4). P. 253–263. DOI:10.3923/ijds.2010.253.263.
42. Relationship between milk yield, stage of lactation, and some blood serum metabolic parameters of dairy cows / A. Jozwik et al. *Czech. J. Anim. Sci.* 2012. 57(8). P. 353–360. DOI:10.17221/6270-CJAS
43. Kessel A. Bovine haematology and biochemistry / P. Cockcroft editor. Bovine medicine. Hoboken, NJ-USA: Wiley Blackwell. 2015. P. 146–60.
44. Puppel K., Kuczynska B. Metabolic profiles of cow's blood: A review. *J Sci Food Agric.* 2016. 96(13). P. 4321–8. DOI:10.1002/jsfa.7779

## REFERENCES

1. Kondrakhin, I.P., Levchenko, V.I. (1999). Fiziologichni osnovy profilaktyky vnutrishnih hvorob tvaryn [Physiological basis of prevention of internal diseases of animals]. *Visnyk agrar. nauky [Visnyk agrar. sci. ence]*. no. 2, pp. 33–35.
2. Levchenko, V.I., Sakhniuk, V.V. (2001). Etiologija, patogenez ta diagnostyka vnutrishnih hvorob u vysokoproduktyvnyh koriv [Etiology, pathogene-

- sis and diagnosis of internal diseases in high-yielding cows]. *Visnyk agrar. nauky* [Visnyk agrar. science]. no. 10, pp. 28–32.
3. Bohdanov, G.O. (2012). *Teoriya i praktyka normovanoi' godivli velykoi' rogoi' hudoby: monografija/za red. V.M. Kandyby, I.I. Ibatullina, V.I. Kostenka* [Theory and practice of rationed feeding of cattle: monograph/ under the editorship V.M. Kandyby, I.I. Ibatullina, V.I. Kostenko]. Zh., 860 p.
  4. Ruban, S.Yu., Vasylevskyi, M.V. (2014). *Organizacija normovanoi' godivli v molochnomu skotarstvi: monografija* [Organization of rationed feeding in dairy farming: monograph]. K., 136 p.
  5. Ibatullina, I.I. Zhukorskyi, O.M. (2016). *Dovidnyk z povnocinnoi' godivli sil's'kogospodars'kyh tvaryn* [Handbook on complete feeding of farm animals]. Kyiv, 300 p.
  6. Ostapenko, L.I., Rybalchenko, V.K. (2014). *Biologichna i bioorganichna himija: navch. posibnyk. 2 t. T. 1.* [Biological and bioorganic chemistry: teaching manual. 2 vols. Vol. 1.]. Molekuljarna organizacija zhyvogo [Molecular organization of living things]. *Metabolizm i bioenergetyka* [Metabolism and bioenergetics]. Kyiv: VOC "Kyiv University", 1044 p.
  7. Fiore, E., Piccine, G., Rizzo, M. (2018). Adaptation of some energetic parameters during transition period in dairy cows. *Journal of Applied Animal Research*, 46, pp. 402–405.
  8. Weiss, W. (2019). Estimating digestible and metabolizable energy concentrations of ruminant diets. *EAAP Scientific Series*, 138, pp. 83–88.
  9. Hussein, H.A., Thurmann J.P. (2020). 24-h variation of blood serum metabolites in high yielding dairy cows and calves. *BMC Vet. Res.* Vol. 16, pp. 327–40.
  10. Macrae, A.I., Whitaker, D.A., Burrough, E., Dowell, A., Kelly, J.M. (2016). Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds. *Vet. Rec.* 159, pp. 655–61.
  11. Cellini, M., Hussein, H.A., Elsaied, H.K., Saied, A.S. (2019). The association between metabolic profile indices, clinical parameters, and ultrasounds measurement of baskfat trickness during the periparturient period of dairy cows. *Comp. Clin. Pathol.* 28, pp. 711–23.
  12. Purrel, K., Kuczynska, B. (2016). Metabolic profiles of cow's blood a review. *J. Sci. Food. Agric.* 96, pp. 4321–4328.
  13. Wiedemann, S., Horsmann, K., Piechotta, M., Meyer, U., Flachowsky, G., Kaske, M. (2013). Intraday variation of metabolic key indicators in serum of dairy cows between week 2 antepartum and week 12 postpartum. *Czech. J. Amin. Sci.*, 58, pp. 343–50.
  14. Levchenko, V.I. (2010). *Metody laboratornoi' klinichnoi' diagnostyky hvorob tvaryn: navch. posibnyk* [Methods of laboratory clinical diagnosis of animal diseases: teaching. Manual]. K.: Agrarian education, 437 p.
  15. Vlizlo, V.V. (2012). *Laboratorni metody doslidzhen' u biologii', tvarynnyctvi ta veterynarnij medycyni: dovidnyk* [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine: a handbook]. Lviv: SPOLOM, 764 p.
  16. Sakhnyuk, V.V. (2009). *Polimorbidnist' vnutrishnoi' patologii' u vysokoproduktyvnyh koriv (eksperymental'ne ta teoretychne obgruntuvannja patogenezu, metodiv diagnostyky, likuvannja i profilaktyky): dys. ...d-ra vet. nauk: 16.00.01.* [Polymorbidity of internal pathology in high-yielding cows (experimental and theoretical justification of pathogenesis, methods of diagnosis, treatment and prevention): thesis. ... Dr. Vet. Sciences: 16.00.01.]. Bila Tserkva, 313 p.
  17. Petrovska, I.R., Saliga, Y.T., Vudmaska, I.V. (2022). *Statystychni metody v biologichnyh doslidzhenнях: navch.-metod. posib.* [Statistical methods in biological research: teaching-method. manual]. Kyiv, Agrarian Science, 172 p.
  18. Vlizlo, V., Helterskinken, M., Sholots, G., Steyer, M. (2001). *Porushennja godivli koriv – prychna zahvorjuvanosti* [Violation of cow feeding - a cause of morbidity]. *Vet. medycyna Ukrainy* [Vet. medicine of Ukraine]. no. 5, pp. 38–39.
  19. Levchenko, V.I., Sakhniuk, V.V., Utechenko, M.V. (2009). *Morfo-funkcional'nyj stan pechinky za mnozhynnoi' vnutrishnoi' patologii' u vysokoproduktyvnyh koriv* [Morpho-functional state of the liver with multiple internal pathologies in high-yielding cows]. *Nauk. visnyk vet. medycyny: zb. nauk. prac'* [Science Herald of Vet. of medicine: Coll. of science works]. Bila Tserkva, Issue 62, pp. 45–51.
  20. Bobbo, T., Fiore, E., Ganesella, M. (2017). Variation in blood serum proteins and association with somatic cell count in dairy cattle from multi-breed herds. *Animal*. Vol. 11, Issue 12, pp. 2309–2319.
  21. Ghaffari, M.H., MacPgerson, J.A., Berends, H., Steele, M. (2017). Diurnal variation of NMR based blood metabolites in calves fed a high plane of milk replacer: a pilot stude. *BMC Vet. Res.* 13, 271 p.
  22. Pavol Mudron. (2021). Body condition score and health disorders in dairy cows. *Proceedings of the XX. Middle European Buiatric Congress. Slovenia*, pp. 8–12.
  23. Maslyanko, R.P., Flunt, R.B. (2000). *Imunnyj status teljat z riznymi strokamy vnutrish-n'outrobnogo rozvytku* [Immune status of calves with different periods of intrauterine development]. *Nauk. visnyk L'viv. derzh. akad. vet. medycyny im. S.Z. Gzhyck'kogo* [Science Herald of Lviv. state Acad. Vet. of medicine named after S.Z. Gzytsky]. Lviv, Vol. 2 (no. 2), Part 1, pp. 132–136.
  24. Sakhnyuk, V.V. (2008). *Parametry ocinky kliniko-funkcional'nogo stanu pechinky i nyrok u klinichno zdorovyh vysokoproduktyvnyh koriv* [Parameters of assessment of the clinical and functional state of the liver and kidneys in clinically healthy high-yielding cows]. *Visnyk Bilocerkev. derzh. agrarn. un-tu.* [Visnyk Belotserki. state agrarian university]. Bila Tserkva, Issue 51, pp. 78–85.
  25. Yanovych, V.G., Sologub, L.I. (2000). *Biologichni osnovy transformacii' pozhyvnyh rehovyn u zhujnyh tvaryn: monografija* [Biological basis of nutrient transformation in ruminants: monograph]. Lviv, 384 p.
  26. Velikaya, N.V., Bryuzgina, T.S. (2002). *Gazhromatograficheskij analiz lipidov syvorotki kro-*

vi i zhelchi pri toksicheskikh porazhenijah pecheni [Gas chromatographic analysis of lipids in blood serum and bile in toxic liver damage]. *Klin. labor. Diagnostika [Wedge. laboratory diagnostics]*. no. 6, pp. 50–51.

27. Vovkotrub, N.V. (2005). Nefrotychnyj syndrom u vysokoproduktyvnyh koriv i novonarodzhenyh teljat (patogenez, diagnostyka i likuvannja): avtoref. dys. ...kand. vet. nauk: 16.00.01. [Nephrotic syndrome in high-yielding cows and newborn calves (pathogenesis, diagnosis and treatment): autoref. thesis ... candidate Vet. Sciences: 16.00.01.]. *Bila Tserkva*, 22 p.

28. Xu, W., Vervoort, J., Saccenti, E., van Hoeij, R., Kemp, B., van Kneysel, A. (2018). Milk metabolomics data reveal the energy balance of individual dairy cows in early lactation. *Sci. Rep.* 8, pp. 1582–1588.

29. Xu, W., van Kneysel, A., Saccenti, E., van Hoeij, R., Kemp, B., Vervoort, J. (2020). Metabolomics of milk reflects a negative energy balance in cows. *J. Proteome Res.*, 19, 8, pp. 2942–2949.

30. Lu, J., Antunes, Fernandes, A.E., Paez, Cano, A.E., Vinitwatanakhun, J., Boeren, S., van Hooijdonk, T., van Kneysel, A., Vervoort, J., Hetingga, K.A. (2013). Changes in milk proteome and metabolome associated with dry period length, energy balance, and lactation stage in postparturient dairy cows. *J. Proteome Res.*, 12, pp. 3288–3296.

31. Levchenko, V.I., Sakhnyuk, V.V., Chub, O.V. (2010). Poshirennya, etiologija, osoblivosti perebigu ta diagnostiki mnozhinnoi vnutrishn'oi patologii u visokoproduktivnih koriv. [Distribution, etiology, features of the course and diagnosis of multiple internal pathology in high-yielding cows]. *Nauk. visnik vet. medicini [Science Herald of Vet. of medicine]*. *Bila Tserkva*, Issue 5 (78), pp. 97–102.

32. Sakhniuk, V.V., Levchenko, V.I., Chub, O.V. (2015). Gepatodystrofija vysokoproduktyvnyh koriv [Prevention of multiple internal pathology in high-yielding cows]. *Nauk. visnyk vet. medycyny [Science Herald of Veterinary Medicine]*, no. 1 (118), pp. 30–37.

33. Sakhniuk, V.V., Levchenko, V.I., Ivchenko, V.M. (2017). [Hepatodystrophy of high-yielding cows]. *Nauk. visnyk vet. medycyny [Science Herald of Vet. of medicine]*, 1 (133), pp. 32–384.

34. Levchenko, V.I., Kondrakhin, I.P., Sakhnyuk, V.V. (2007). Vnutrishni hvoroby vysokoproduktyvnyh koriv (etiologija, diagnostyka, likuvannja i profilaktyka): metod. rekomendacii' [Internal diseases of high-yielding cows (etiology, diagnosis, treatment and prevention): method. recommendations]. *Bila Tserkva*, 64 p.

35. Sakhniuk, V., Chub, O., Bobkotrub, N. (2018). Distribution, etiology, course and diagnosis specificity of polymorbid internal pathology in cows. *Hungary Veterinary Journal. Budapesht*, pp. 319–325.

36. Macrae, A.I., Whitaker, D.A., Burrough, E., Dowell, A., Kelly, J.M. (2006). Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds. *Vet. Rec.* 159, pp. 655–661.

37. Cellini, M., Hussein, H.A., Elsayed, H.K., Sayed, A.S. (2019). The association between metabolic profile indices, clinical parameters, and ultrasound measurement of backfat thickness during the peripar-

turient period of dairy cows. *Comp. Clin. Pathol.* 28, pp. 711–723.

38. Puppel, K., Kuczynska, B. (2016). Metabolic profiles of cow's blood a review. *J. Sci. Food. Agric.*, 96, pp. 4321–4328.

39. Le Blanc, S.J. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in transition period. *J. Reprod. Dev.*, 56, pp. 29–35.

40. Djokovic, R., Cincovic, M., Belic, B. (2015). Relationship between blood metabolic hormones, metabolites and energy balance in Simmental dairy cows during peripartum period and lactation. *Pak. Vet. J.*, 35, pp. 163–167.

41. Park, A.F., Shirley, J.E., Titgemeyer, E.C., Cochran, R.C., DeFrain, J.M., Wickersham, E.E., Johnson, D.E. (2010). Characterization of plasma metabolites in Holstein dairy cows during the periparturient period. *Int J. Dairy Sci.*, 5(4), pp. 253–263. DOI:10.3923/ijds.2010.253.263.

42. Jozwik, A., Strzalkowska, N., Bagnicka, E., Grzybek, W., Krzyzewski, J., Polawska, E., Kolataj, A., Horbanczuk, J.O. (2012). Relationship between milk yield, stage of lactation, and some blood serum metabolic parameters of dairy cows. *Czech. J. Anim. Sci.*, 57(8), pp. 353–360. DOI:10.17221/6270-CJAS

43. Kessel, A. (2015). *Bovine haematology and biochemistry* / P. Cockcroft editor. *Bovine medicine*. Hoboken, NJ-USA: Wiley Blackwell, pp. 146–160.

44. Puppel, K., Kuczynska, B. (2016). Metabolic profiles of cow's blood: A review. *J. Sci. Food. Agric.*, 96(13), pp. 4321–4328. DOI:10.1002/jsfa.7779

### Protein metabolism in deep-bodied cows and heifers

**Bilyk B., Sakhniuk V.**

Health and performance management systems should focus on early detection and subsequent prevention of physiological imbalances in dairy herds. Therefore, the need for constant monitoring of the state of health of cows of various physiological and technological groups, in particular markers of protein metabolism, is urgent. The content of total protein in blood serum of deep-bodied cows and heifers was established in the range of 58.3–102.7 g/l ( $77.2 \pm 0.48$  g/l). Disorders of its metabolism were diagnosed in 35.4% of animals, and in most of them (20.4%), mainly in heifers, it was manifested by hypoproteinemia. The optimal content of albumins was established in 81.2% of the studied herd with an average value of  $41.1 \pm 0.26\%$ , including in 74.6% of dry cows and in 91.7% of heifers. Hypoalbuminemia was diagnosed in an average of 18.8% of animals, including in 25.4% of cows and in 8.3% of heifers. In dry cows, the pathology arose mainly as a result of the development of dystrophic processes in the liver in the previous lactation periods, in heifers, primarily due to a protein deficiency in the diet.

In 72.2% of the studied animals, 40–10 days before the expected birth, there are no violations of the colloidal stability of coarsely dispersed proteins. In 14.1% of blood serum samples, the test was weakly positive (++) , in 11.5% - positive (+++) and strongly positive (++++). In another 2.2% of cows, the formation of a

dense clot of a milky white color in the test tube was ascertained already after 4–7 hours. after the reaction (the test is hyperpositive - +++++).

Optimal values of urea metabolism in blood serum were established in 48.1% of dry cows and in 55.0% of heifers ( $3.53 \pm 0.043$  mmol/l; 1.82–6.80). A decrease in its content was diagnosed in 49.7 and 45.0% of animals, respectively. The metabolism of creatinine in

blood serum was optimal in 94.8% of the examined dry cows and in 94.1% of the heifers, and its values were within the reference values. Hypercreatininemia was diagnosed in 5.4% of the studied animal population, which can probably be caused by the development of dystrophic processes in the glomeruli of the kidneys.

**Key words:** metabolism, diagnostics, proteins, albumins, urea, creatinine, liver, deep-bodied cows, heifers.



Copyright: Білик Б.П., Сахнюк 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.



## ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК: 619:636.1:591.424

### Особливості морфо архітекτονіки легень статевозрілого коня (*Equus Ferus caballus L.*, 1758)

Горальський Л.П.<sup>1</sup> , Глухова Н.М.<sup>2</sup> , Сокульський І.М.<sup>2</sup> , Колеснік Н.Л.<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Житомирський державний університет імені Івана Франка

<sup>2</sup> Поліський національний університет

 Кореспондентний автор Горальський Л.П. goralsky@ukr.net



Горальський Л.П., Глухова Н.М., Сокульський І.М., Колеснік Н.Л. Особливості морфо архітекτονіки легень статевозрілого коня (*Equus Ferus caballus L.*, 1758). Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 76–88.

Horalskyi L., Hlukhova N., Sokulskyi I., Kolesnik N. Peculiarities of morphoarchitectonics of the lungs of a sexually mature horse (*Equus Ferus caballus L.*, 1758). *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 76–88.

Рукопис отримано: 12.12.2022 р.

Прийнято: 21.12.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-76-88

Дихальна система є однією з найважливіших, яка здійснює газообмін організму між повітрям та кров'ю, у результаті чого в організм надходить Оксиген та виводиться з нього вуглекислий газ у навколишнє середовище.

Останніми роками, у переліку захворювань різноманітної етіології, спостерігається різке збільшення кількості захворювань, пов'язаних з органами дихання. Слід зазначити, що ефективне лікування цих патологій неможливе без знання породних і видових особливостей анатомії та гістології органів дихання, морфофункціональні параметри яких слід враховувати за проведення діагностичних та профілактичних заходів щодо попередження захворювань тварин, а також за надання їм лікувальної допомоги. Тому за планування досліджень органів дихання, до складу яких відносять легені, слід враховувати їх топографо-анатомічні видові особливості у свійських тварин, структурно-функціональні особливості мікроскопічної будови тощо.

Виконана морфологічна робота є фрагментом до науково-дослідної тематики кафедри нормальної та патологічної морфології, гігієни та експертизи, Поліського національного університету: «Розвиток, морфологія та гістохімія органів тварин у нормі та при патології» (номер державної реєстрації – № 0113V000900).

Публікація присвячена дослідженню морфофункціональних особливостей легень статевозрілого коня (*Equus Ferus caballus L.*, 1758). Методом анатомічного препарування, макроскопічними, гістологічними, морфометричними та статистичними методами досліджень з'ясовано макро- та мікроскопічну будову легень, визначено їх належність до певного анатомічного типу. В результаті проведених досліджень встановлено часточкову будову легень, проведено морфометричну оцінку їх морфологічних структур, коефіцієнт асиметрії тощо.

Для дослідження морфології клітини, проведення морфометричних досліджень та для отримання оглядових гістологічних препаратів застосовували фарбування гістозрізів гематоксиліном і еозином. Під час проведення морфологічних досліджень дотримувалися основних правил належної лабораторної практики GLP (1981), положень “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених I Національним конгресом з біоетики (м. Київ, 2001 р.) та вимог до “Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин”, затверджених наказом Міністерства охорони здоров'я № 281 від 1 листопада 2000 р. “Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин”.

Морфологічно досліджено, що макро- та мікроморфологія легень у статевозрілого коня має певні характерні морфологічні особливості, відповідно до класу, віку та виду тварин. Зокрема, науковими дослідженнями встановлено наявність індивідуальних морфологічних особливостей у часточковій будові легень. У лівій легені

коней є лише дві частки: краніальна та каудальна, у правій легені три частки: краніальна, каудальна та додаткова.

Гістологічна будова ацинусів, сформована альвеолярними ходами, альвеолярними мішечками та альвеолами. За результатами морфологічних досліджень, альвеолярне дерево у коней представлене укороченим типом, широке та має пухирчасту форму. Морфометричними дослідженнями встановлено, що середній об'єм легневих альвеол у клінічно здорових коней становить  $699,8 \pm 106,42$  тис.  $\mu\text{м}^3$ . Респіраторна частина легень у коней займає  $54,8 \pm 7,4$  % від загальної площі паренхіми легень, сполучнотканинна основа –  $45,2 \pm 7,4$  %.

**Ключові слова:** анатомія, свійські тварини, органи дихання, газообмін, морфометрія, морфотопографія, легеневі часточки, абсолютна маса, гістоструктура легень, бронхіальне дерево, респіраторні бронхіоли, асиметрія легень.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Клінічна анатомія тварини та людини, як фундаментальна дисципліна, поєднує дані суміжних, споріднених дисциплін: цитології, гістології, ембріології, фізіології тощо. Ця дисципліна досліджує будову організму тварини і людини, як об'єкт спадковості, що змінюється під впливом різноманітних чинників навколишнього середовища [1, 2]. Тому дослідження динаміки морфогенезу різних органів та їх систем організму за дії різних чинників довкілля, становить науковий інтерес для морфологічних досліджень. Водночас для правильної інтерпретації результатів досліджень важливо знати особливості макро- та мікроскопічної будови органа у порівняльному аспекті [3].

У системі органів дихання людини і тварин, як і загалом в органічній природі, проявляється морфофункціональна закономірність безперервної єдності та взаємозумовленості анатомічної структури і функції [4, 5]. Це пов'язано з тим, що існує чітко виражений зв'язок між морфологічною структурою органів дихання та іншими системами організму [6].

Органи дихання в організмі людини та тварин виконують надзвичайно важливі функції, основною з яких є легеневе дихання [7, 8]. У ссавців газообмін відбувається у легенях, через скорочення м'язів-вдихачів та видихачів, які по черзі розширюють та звужують грудну клітину, а разом із нею й легені. Це забезпечує надходження повітря (Оксиген) в організм через повітроносні шляхи в легені (вдих) та його (вуглекислий газ) зворотне виведення (видих) з організму у навколишнє середовище.

Легені являють собою м'яку компактну, паренхіматозну тканину, що лежать в плевральній порожнині в межах грудної клітини. Легені у ссавців, здебільшого, утворені легневими частками [9], що зумовлено необхідністю їх розтягування у різних напрямках [10]. Ступінь морфофункціональної складності організації легень у тварин різний: вона простіша у

нижчих наземних хребетних і ускладнюється в міру підвищення загальної організації тварин.

Легені, на думку багатьох науковців, належать до імунокомпетентних органів [11–13]. Зокрема, у захисті легень від пошкоджень, а також в патогенезі багатьох захворювань органів дихання, головне значення має легневий відділ системи мононуклеарних фагоцитів [14, 15]. Від стану клітинного компоненту, мобілізаційної здатності, функціональних резервів значною мірою залежить резистентність легеневої тканини до інфекцій, екзогенних та ендогенних токсинів [16, 17].

Незважаючи на профілактичні заходи у тваринництві, останнім часом спостерігається тенденція до збільшення захворювань органів дихання, серед яких трапляється патологія легень. Оперативне лікування та профілактика цих захворювань неможливі без знання особливостей клінічної анатомії, топографії та гістологічної структури цих органів у видовому аспекті.

**Мета дослідження.** Дослідити макро-, мікроскопічну будову легень та провести морфометричну оцінку їх морфологічних структур у статевозрілих коней.

**Матеріал і методи дослідження.** Об'єктом дослідження були легені фізіологічно зрілих коней ( $n=5$ ). Морфологічні дослідження виконували відповідно до основних етичних принципів у сфері біоетики [18, 19]. Представлена наукова робота є фрагментом комплексних досліджень кафедри нормальної та патологічної морфології, гігієни та експертизи Поліського національного університету на тему: «Розвиток, морфологія та гістохімія органів тварин у нормі та при патології» (номер державної реєстрації – № 0113V000900).

У роботі застосовували макро- та мікроскопічні, морфометричні та статистичні методи досліджень.

Анатомічному препаруванню піддавали свіжі легені досліджуваних тварин. Після розтину визначали форму легень, розташування їх

у грудній порожнині, розміри, коефіцієнт асиметрії за масою тощо.

Для проведення гістологічних досліджень застосовували загальноприйняті методи фіксації та виготовлення гістозрізів. Зокрема, шматочки матеріалу (фрагменти часток легень коня) фіксували у 12 % охолодженому розчині нейтрального формаліну впродовж 48 год, з подальшим промиванням матеріалу проточною водою і зневодненням у спиртах зростаючої концентрації та заливкою його у парафін за схемами, запропонованими у посібнику (Horalskyi et al., 2019) [20]. Парафінові зрізи виготовляли на санному мікромомі MC-2, їх товщина не перевищувала 10–12 мкм.

Для дослідження морфології клітин і тканин, гістозрізи, після їх депарафінації фарбували гематоксиліном (Diapath, Італія, 2020) та еозином (Leica Geosystems, Німеччина, 2020). Зафарбовані гістозрізи використовували для отримання оглядових препаратів та проведення гістометричних досліджень.

Гістологічну структуру легень досліджували на гістологічних зрізах. За допомогою мікроскопа та програмного забезпечення проводили гістометричні дослідження структурних елементів легеневої тканини: визначення респіраторної частини та сполучнотканинної основи легень (на одиниці площі 5,0 мм<sup>2</sup>), середнього об'єму альвеол – за світлової мікроскопії за допомогою мікроскопів “Micros” (Австрія, 2012). Фотографування гістологічних зрізів здійснювали відеокамерою CAM V–200 (Інтер Мед, КНР, 2017), вмонтованою у мікроскоп із системою виводу зображення з гістологічними зрізами на екран монітору.

Анатомічні та гістологічні терміни структурних частин легень подано згідно з Міжнародною ветеринарною гістологічною номенклатурою (Термінологічний словник) (2019) та Міжнародною ветеринарною анатомічною номенклатурою (2012).

Математичну обробку результатів досліджень проведено статистично з використанням програмного пакету Statistica 7.0 програмного забезпечення (StatSoft, Талса, США). Вірогідність отриманих результатів визначали за Ст'юдентом із урахуванням критеріїв значимості. Різницю між двома величинами вважали достовірною за  $p \leq 0,05$ ; 0,01; 0,001.

**Результати дослідження.** Легені статевозрілого коня, як і в інших свійських тварин, у природному стані разом із серцем та іншими органами грудної порожнини (частиною тимусу, лімфатичними вузлами, аортою, стравоходом тощо) загалом за своєю будовою та формою відображають форму грудної порожнини.

Вони мають блідо-рожевий колір та згідно з морфотопографією відносно тіла тварин, поділяються на ліву і праву. На легенях чітко диференціюються дорсальний та вентральний краї: дорсальний край тупий та прилягає до хребта; вентральний край гострий та направлений вентрально. На легенях чітко облямовані їх поверхні – реберна (латеральна) і діафрагмальна: реберна – прилягає до ребер, діафрагмальна – до діафрагми та направлена каудально.

Між краніальною та каудальною частками правої і лівої легень знаходяться міжчасточкові поверхні, а між правою і лівою легенями – середостінні поверхні, які прилягають до середостіння у кожній легені з медіальної сторони. На цій же поверхні є втиснення від аорти, стравоходу та порожньої вени.

На медіальній поверхні кожної легені є ворота легень, куди потрапляє у легені головний бронх, артерія, нерви та виходить із легень вена. Саме ці морфологічні структури (головний бронх, артерія, нерви та вена) формують коріння легень (рис. 1).

Кожна легеня у більшості тварин класу Ссавці ділиться на три частки: краніальну, середню та каудальну. Водночас права легеня має ще додаткову частку [21, 22]. За результатами наших досліджень, характерною особливістю легень у коней є те, що міжчасточкова серцева вирізка поділяє праву та ліву легені лише на дві частки – краніальну (значно меншу) та каудальну (велику), які розділені між собою (рис. 2). На правій легені коня з медіальної сторони є ще додаткова частка (рис. 1).

За даними результатів органометрії, загальна довжина легень у статевозрілих коней дорівнює  $61,5 \pm 6,32$ , ширина  $48,44 \pm 4,14$ , товщина –  $9,6 \pm 1,1$  см, відповідно правої легені такі показники становлять  $61,84 \pm 6,39$ ;  $23,9 \pm 1,42$  та  $9,64 \pm 1,48$  см, лівої легені –  $60,35 \pm 6,96$ ;  $23,51 \pm 1,44$  та  $9,1 \pm 1,37$  см. Індекс розвитку легень у коней дорівнює  $127 \pm 2,74$ , тому легені належать до помірно-видовженого типу.

Абсолютна маса легень статевозрілих коней становить  $3318,1 \pm 364,4$  г, відносна маса –  $0,60 \pm 0,052\%$ . Абсолютна маса лівої легені становить  $1506,2 \pm 60,48$  г, правої –  $1811,9 \pm 72,92$  г, відповідно коефіцієнт асиметрії лівої легені до правої у коней дорівнює 1:1,2.

При цьому АМ краніальної частки лівої легені у коней становить  $197,43 \pm 19,24$  г, такий показник у правій легені відповідно дорівнює  $214,02 \pm 24,04$  г. Найбільшу абсолютну масу мають каудальні частки легень: у лівій легені такий показник в середньому дорівнює  $1308,66 \pm 98,75$  г, у правій легені –  $1423,8 \pm 102,71$  г відповідно. Найменшою є АМ додаткової частки

правої легені, яка відповідно у коней становить  $174,2 \pm 16,02$  г.

Відносна маса краніальної частки лівої легені у коней, до АМ обох легень в середньому становить  $5,95 \pm 0,51\%$ , відповідно правої легені –  $6,45 \pm 0,62\%$ .

Відносна маса каудальної частки лівої легені до обох легень у коней, в середньому дорівнює  $39,44 \pm 3,57\%$ , у правої легені такий показник становить  $42,91 \pm 4,06\%$ . Відповідно ВМ додаткової частки правої легені, до АМ легень, дорівнює  $5,25 \pm 0,68\%$ .

Легені коней сформовані розгалуженнями бронхів різного калібру, що формують бронхіальне дерево, та розгалуженнями гістоструктури респіраторного відділу, що формують альвеолярне дерево.

Галуження бронхів бронхіального дерева легень у коней відбувається по магістральному типу. У кожній легені головні бронхи, в основі тупих їх країв, поділяються на великі, середні, потім на малі, термінальні бронхіоли, формуючи бронхіальне дерево (рис. 3). На початковому етапі формування бронхіального дерева, трахея коней формує досить велику біфуркацію, де галузиться на два головних бронхи, які відразу (у місці біфуркації трахеї) у кожній легені, формують власну біфуркацію, та поділяються на два великих бронхи – краніальний та каудальний.



Рис. 1. Макропрепарат легені статевозрілого коня (середостінна поверхня): 1 – трахея; 2 – права легеня; 3 – ліва легеня; 4 – права краніальна частка; 5 – ліва краніальна частка; 6 – додаткова частка; 7 – коріння легень.

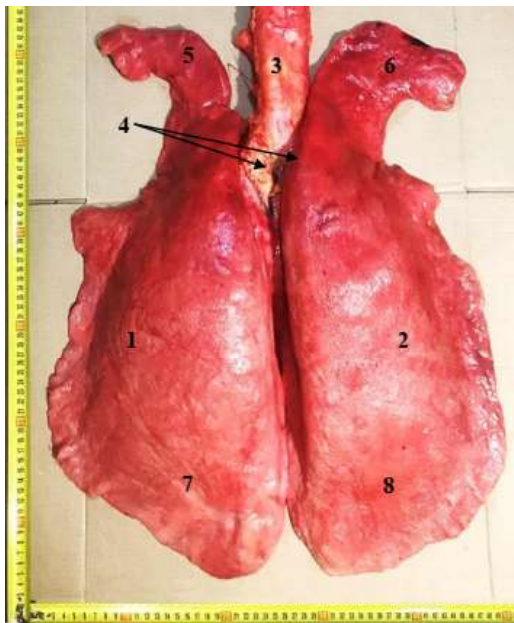


Рис. 2. Макропрепарат легені статевозрілого коня (реберна поверхня): 1 – ліва легеня; 2 – права легеня; 3 – трахея; 4 – біфуркація трахеї; 5 – ліва краніальна частка; 6 – права краніальна частка; 7 – ліва каудальна частка; 8 – права каудальна частка.

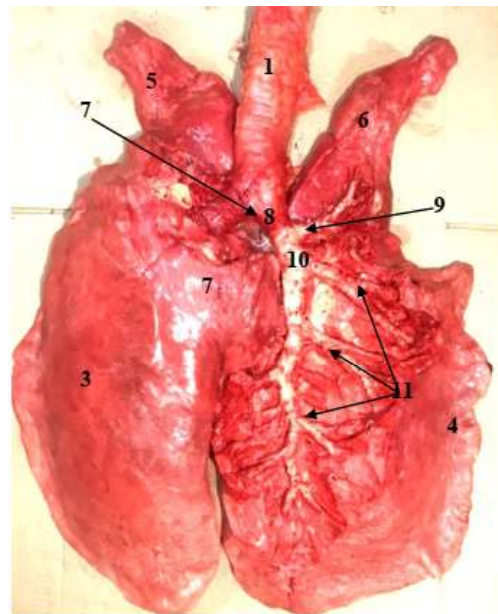


Рис. 3. Макропрепарат легені статевозрілого коня (середостінна поверхня): 1 – трахея; 2 – біфуркація трахеї; 3 – ліва легеня; 4 – права легеня; 5 – ліва краніальна частка; 6 – права краніальна частка; 7 – додаткова частка; 8 – головний бронх; 9 – краніальний бронх; 10 – каудальний бронх; 11 – гілки каудального бронха.

Головний бронх, який прямує у краніальну частку, через певний проміжок ділиться на дві гілки, які розгалужуючись, дають початок сегментарним бронхам, різного розміру (рис. 3). Головні бронхи, які прямують у каудальні частки легень, у паренхімі кожної легені галузяться на чотири дорсальних та чотири вентральних гілки. Найменші за розміром внутрішньочасточкові бронхи галузяться у легеневі часточки, де поділяються на термінальні бронхіоли, що діляться на респіраторні бронхіоли, альвеолярні ходи, потім альвеолярні мішечки, формуючи альвеолярне дерево.

Мікроскопічно легені коня утворені розгалуженнями бронхів, строюмою легень та розгалуженнями респіраторного відділу легень, які формують альвеолярне дерево (рис. 4).

Основою легень коней є пірамідальної або конусоподібної форми частки, які формують строюмою легень. Частиною будови часток є ацинуси, що покриті тонким шаром сполучної тканини. Мікроскопічна будова ацинусів сформована альвеолярними ходами, альвеолярними мішечками та альвеолами (рис. 5).

За морфологічною будовою, бронхи у своєму складі мають три оболонки – слизову, волокнисто-хрящову та адвентицію. Головні бронхи легень мають найбільший діаметр. Порівняно із середніми та малими бронхами, їх оболонки чітко виражені і мають подібну мікроскопічну будову як оболонка у трахеї.

Слизова оболонка головних бронхів сформована епітеліальною, власною, м'язовою пластинками та підслизислою основою (рис. 6). Мікроскопічна будова епітеліальної пластинки представлена одношаровим багаторядним миготливим епітелієм, епітеліоцити яких знаходяться на її базальній мембрані. У слизовій оболонці власної пластинки, яка утворена переважно пухкою волокнистою сполучною тканиною, у вигляді скупчень виявляється лімфоїдна тканина (рис. 6). М'язова пластинка слизової оболонки представлена пучками гладких м'язових клітин, які утворюють циркулярний та поздовжній шари, завдяки чому м'язова пластинка оболонки таких бронхів не формує внутрішніх складок, які є у великих, середніх та малих бронхах (рис. 6). Підслизислова основа таких бронхів утворена пухкою сполучною тканиною, де знаходяться кінцеві відділи бронхіальних залоз. Проте, порівняно з іншими видами дослідних тварин, бронхіальні залози виявляються там у незначній кількості. У підслизисловій оболонці знаходяться і колагенові волокна.

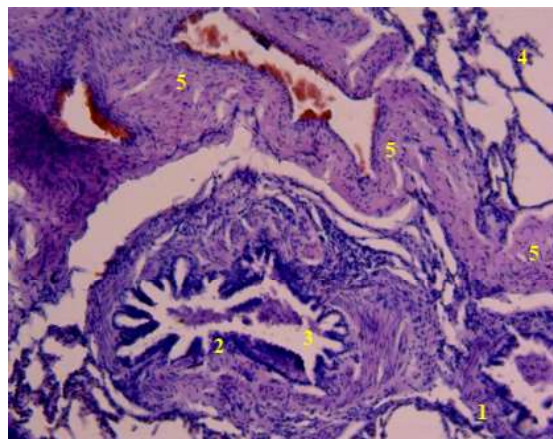


Рис. 4. Фрагмент гістологічної будови легень статево-зрілого коня: 1 – респіраторна частина; 2 – малий бронх; 3 – просвіт бронха; 4 – альвеоли; 5 – сполучнотканинна строма. Гематоксилін та еозин. х 280.

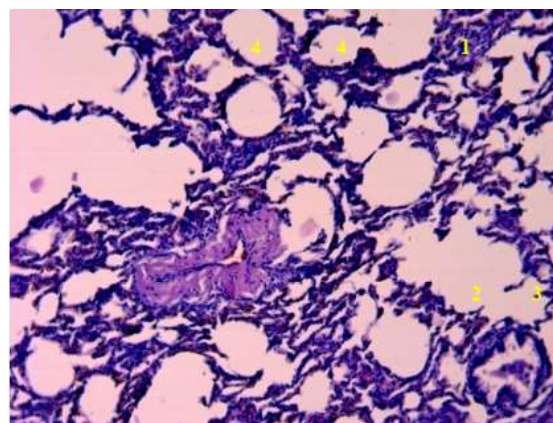


Рис. 5. Фрагмент мікроскопічної будови легень коня: 1 – респіраторна частина; 2 – альвеолярний хід; 3 – альвеолярний мішечок; 4 – альвеоли. Гематоксилін та еозин. х 280.

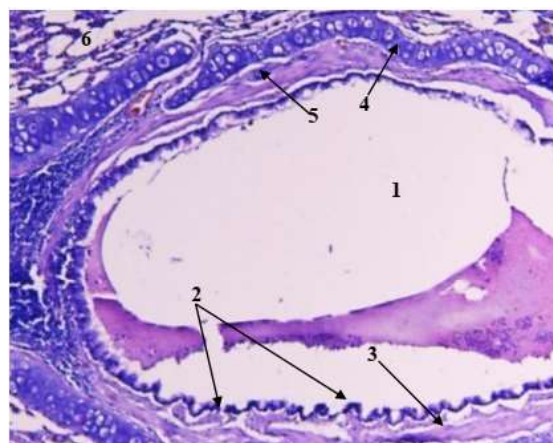


Рис. 6. Фрагмент мікроскопічної будови головного бронха легень коня: 1 – просвіт бронха; 2 – епітеліальна пластинка; 3 – м'язова пластинка; 4 – волокнисто-хрящова оболонка; 5 – лімфоїдна тканина; 6 – альвеоли. Гематоксилін та еозин. х 280.

Мікроскопічна будова волокнисто-хрящової оболонки головних бронхів має певні особливості (їх хрящова тканина є суцільною, у вигляді кілець, по усьому периметру волокнисто-хрящової оболонки) (рис. 6).

Стінка великих бронхів має подібну будову до стінки як у головних бронхів. Проте кільця хрящів волокнисто-хрящової оболонки не мають суцільної будови, а сформовані окремими та великими за розміром, хрящовими пластинками (рис. 7).

Слизова оболонка стінки середніх бронхів покрита одношаровим багаторядним респіраторним епітелієм, а м'язова пластинка слизової оболонки формує чітко виражені складки. Волокнисто-хрящова оболонка середніх бронхів містить лише окремі хрящові острівці невеликих розмірів, які утворені гіаліновою хрящовою тканиною.

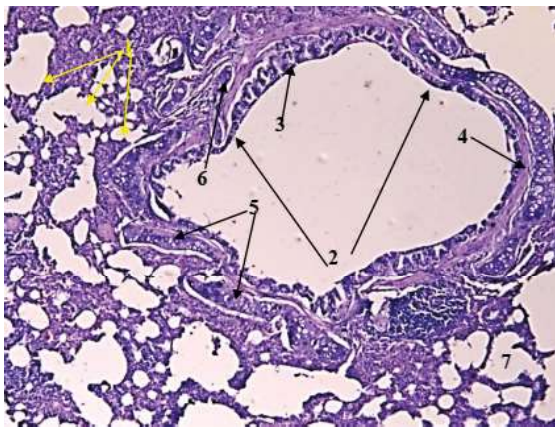


Рис. 7. Фрагмент мікроскопічної будови легень коня: 1 – респіраторна частина; 2 – великий бронх; 3 – епітеліальна пластинка; 4 – м'язова пластинка; 5 – хрящові пластинки; 6 – лімфоїдна тканина; 7 – альвеоли. Гематоксилін та еозин. х 280.

Стінка легень малих бронхів сформована лише слизовою оболонкою та адвентицією. М'язова пластинка таких бронхів чітко виражена, завдяки чому внутрішня стінка слизової оболонки формує виражені складки. Крім того, хрящові острівці у стінках малих бронхів відсутні.

Термінальні бронхіоли паренхіми легень утворені тоненькою, подібною до малих бронхів, стінкою, а її м'язова пластинка, сформована гладкими міоцитами, які знаходяться у вигляді сітки, вже не утворює складок.

Мікроскопічна будова респіраторної частини легень коней представлена альвеолярним деревом (респіраторні бронхіоли, альвеолярні ходи, альвеолярні мішечки), у стінках яких знаходяться альвеоли. Такі гістоструктури формують структурно-функціональну одиницю легень – легеневий ацинус. Альвеоли у вигляді пухирців поєднуються між собою міжальвеолярними перетинками, які утворені ніжними прошарками пухкої сполучної тканини, у складі якої виявляються численні еластичні волокна. Внутрішня стінка альвеол побудована з альвеоцитів, що знаходяться на базальній мембрані. Альвеоли легень мають різні розміри – малі, середні та великі.

На основі морфологічних досліджень, середній об'єм легневих альвеол у клінічно здорових коней становить  $699,8 \pm 106,42$  тис.  $\mu\text{м}^3$ . Дихальна (респіраторна) частина легень у коней займає  $54,8 \pm 7,4\%$  від загальної площі паренхіми легень, сполучнотканинна основа –  $45,2 \pm 7,4\%$  (рис. 8).

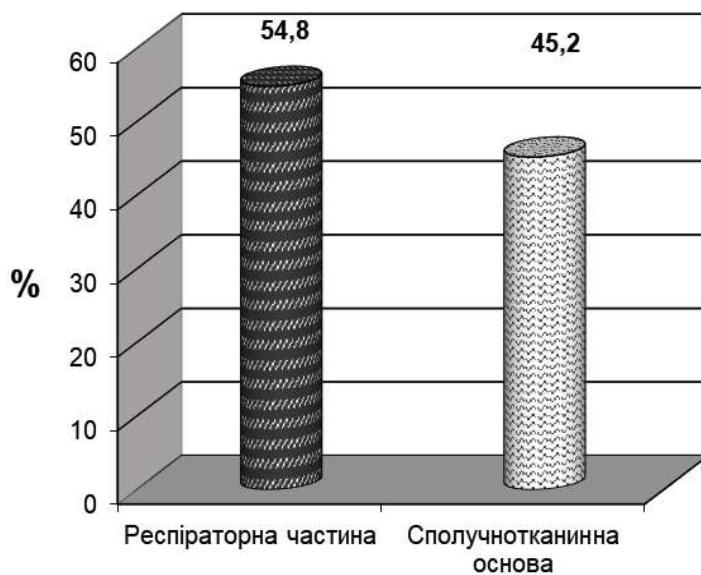


Рис. 8. Гістометричні показники легень статевозрілих коней.

За результатами дослідження, альвеолярне дерево у коней укорочене, широке і має пухирчасту форму. Альвеолярні бронхіоли погано диференційовані. У зв'язку з розширенням, альвеолярні мішечки широкі зі згладженими альвеолами.

**Обговорення.** Розвиток та дослідження органів дихання є важливим і актуальним серед об'єктів морфологічних досліджень, що визначає ряд нових завдань у вивченні морфофункціональної характеристики органів дихання у видовому аспекті [23]. Одним із таких органів, які входять до апарату дихання є легені, які виконують в організмі важливі функції [24–26].

На сьогодні, за аналізу літературних джерел, більшість досліджень стосуються вивчення фізіологічних параметрів органів дихання, а саме легень. Згідно з літературними джерелами, щодо морфологічних досліджень органів дихання, було виявлено спірні питання, які потребують уточнення, особливо щодо морфологічних особливостей легень у порівняльно-видовому аспекті. Тому, проведені дослідження дадуть можливість більш детально з'ясувати взаємозв'язок структурних елементів легень на органному, тканинному та клітинному рівнях, що є важливим та актуальним, як показники норми, у з'ясуванні патогенезу захворювань різного генезу та впливу на організм різноманітних чинників довкілля.

Типовий поділ легень на частки, за результатами літературних джерел, спостерігається не у всіх плацентарних тварин. У примітивних плацентарних тварин (у більшості комахоїдних, багатьох гризунів тощо) такий поділ не виявляють: ліва легеня зазвичай не ділиться на частки, права легеня представлена неповним часточковим поділом (за кількістю часток) або нечітко вираженими вирізками часток [27].

Згідно з даними інших літературних джерел, легені різних видів тварин, щодо морфологічної будови, мають індивідуальні морфофункціональні особливості щодо їх часточкової будови [28, 29]. Зокрема, у летючих мишей ліва легеня не поділяється на частки, а у норки та соболя ліва легеня поділяється лише на дві частки – краніальну і каудальну [30, 31]. Деякі зарубіжні морфологи вважають, що у ссавців часточкова будова легень є закономірною та не має видових особливостей [32].

За результатами морфологічних досліджень у легень свійських ссавців є сім часток: у лівій легені три частки – краніальна, серцева, каудальна; у правій легені чотири частки – краніальна, серцева, каудальна та додаткова [33, 34].

За результатами наших досліджень, розподіл легень у свійських ссавців на окремі виражені частки безпосередньо залежить від структури грудної порожнини і особливостей утримання тварин, індивідуальних фізіологічних ознак тварин та фізіологічного навантаження на відповідний орган. Зокрема, у лівій легені коней є лише дві частки – краніальна та каудальна, у правій легені три частки – краніальна, каудальна та додаткова. Згідно з даними Н. В. Зеленевого (2014), каудальна частка легень у коней сформована злиттям краніальної та середньої частки в одну, і тому називається серцево-діафрагмальною [35]. За нашими даними, така частка є каудальною (діафрагмальною), оскільки міжчасточкові вирізки між середньою та каудальною частками у правій та лівій легенях відсутні, а їх поверхня прилягає до діафрагми, тому ми пропонуємо називати серцево-діафрагмальну частку – діафрагмальною (каудальною).

Важливим критерієм розвитку того чи іншого органа є абсолютна маса, що безпосередньо вказує на його морфофункціональну зрілість. Зокрема, відносна маса легень прямо пропорційно залежить від маси тіла тварин та абсолютної маси органа. Згідно з проведеною органометрією, абсолютна маса легень статевозрілих коней становить  $3318,1 \pm 364,4$  г. Проте відносна маса легень у коней, яка згідно з даними класичних навчальних підручників з анатомії свійських тварин становить 1,43% не співпадає з результатами наших досліджень. Зокрема, встановлено, що відносна маса легень у коней є набагато меншою і дорівнює  $0,60 \pm 0,052\%$ . Відповідно абсолютна маса лівої легені становить  $1506,2 \pm 60,48$  г, правої –  $1811,9 \pm 72,92$  г. Абсолютна маса краніальної частки лівої легені у коней становить  $197,43 \pm 19,24$  г, такий показник у правій легені відповідно дорівнює  $214,02 \pm 24,04$  г. Найбільшу абсолютну масу мають каудальні частки легень: у лівій легені такий показник в середньому дорівнює  $1308,66 \pm 98,75$  г, у правій легені –  $1423,8 \pm 102,71$  г відповідно. Найменшою є абсолютна маса додаткової частки правої легені, яка відповідно у коней становить  $174,2 \pm 16,02$  г.

Відносна маса краніальної частки лівої легені у коней, до абсолютної маси обох легень в середньому становить  $5,95 \pm 0,51\%$ , відповідно правої легені –  $6,45 \pm 0,62\%$ . Відносна маса каудальної частки лівої легені до обох легень у коней в середньому дорівнює  $39,44 \pm 3,57\%$ , у правій легені такий показник становить  $42,91 \pm 4,06\%$ . Відповідно відносна маса додаткової частки правої легені, до абсолютної маси легень, дорівнює  $5,25 \pm 0,68\%$ .

За результатами наших досліджень, альвеолярне дерево у коней укорочене, широке та має пухирчасту форму.

Слід зазначити, що морфологічна структура легень між собою є різною [36, 37]. Зокрема, права легеня у ссавців дещо більша за ліву, оскільки серце зміщене вліво, тому характерною ознакою будови легень ссавців є виражена їх асиметрія, яка проявляється різною величиною, неоднозначною абсолютною масою правої та лівої легень, їх положенням та неоднозначною формою їх часток, залежно від функціонального навантаження [38–40]. Співвідношення їх розмірів (лівої до правої легені) становить у коня 1,21:1, у великої рогатої худоби 1,38:1, у свині 1,35:1, у собаки 1,32:1.

Проведеними дослідженнями О.Г. Прокушенкової (2009), відмічена закономірна тенденція до превалювання маси правої легені собак неонатального періоду, що пояснюється особливостями їх будови і топографії. Коефіцієнт асиметрії легень у добових цуценят максимальний і становить 1,60, тимчасом із віком він поступово зменшується, досягаючи 1,36 у 20-добових тварин. Це зумовлено становленням газообміну та інтенсивним ростом і розвитком органів апарату дихання, притаманним для всіх тварин в неонатальний період [41].

Окремі науковці прояв асиметрії легень у свійських ссавців пов'язують з генетичною їх ознакою, інші стверджують, що асиметрія легень пов'язана з несиметричним положенням серця та інших органів у грудній порожнині, а також залежно від інтенсивності функції їх газообміну, яка проявилась у процесі еволюційного розвитку тварин. Найбільш виражена асиметрія із усіх ссавців притаманна малим гризунам (щури, морська свинка, хом'як), у яких ліва легеня не поділяється на частки, а права має чотири частки [42].

За результатами наших досліджень, коефіцієнт асиметрії лівої легені до правої у коней дорівнює 1:1,2 і це пов'язано зі зміщенням серця та аорти у ліву половину грудної порожнини. Такі дані співпадають з результатами інших науковців, які вказують, що об'єм лівої легені у ссавців, порівняно з правою, зменшується через серце на дві третини у ліву сторону [43].

**Висновки.** Легені коней мають часточкову будову: у лівій легені дві частки – краніальна та каудальна, у правій три – краніальна, каудальна та додаткова. Ліва легеня дещо менша, ніж права, коефіцієнт асиметрії становить 1:1,2.

Загальна довжина легень у коней дорівнює  $61,5 \pm 6,32$ , ширина –  $48,44 \pm 4,14$ , товщина –  $9,6 \pm 1,1$  см. Відношення загальної довжини легень до їх ширини дорівнює 1,27:1, тому ле-

гені у коней належать до помірно-видовженого типу.

Абсолютна маса легень статевозрілих коней становить  $3318,1 \pm 364,4$  г, відносна маса  $0,60 \pm 0,052\%$ . Відповідно абсолютна маса лівої легені становить  $1506,2 \pm 60,48$  г, правої –  $1811,9 \pm 72,92$  г. Водночас абсолютна та відносна маси каудальних часток легень у коней є набагато більшими ніж краніальних часток.

Внутрішню гістоархітектоніку легеневої тканини формують легеневі частки (незначні ділянки паренхіми легень, які розмежовані сполучнотканинними перегородками, та утворюють їх сполучнотканинну строму), які мають конусоподібну або ж пірамідальну форми. Сполучнотканинна строма ( $45,2 \pm 7,4\%$ ), сформована пухкою сполучною тканиною та містить еластичні волокна, кровоносні і лімфатичні судини.

Респіраторну (дихальну) паренхіму легень ( $54,8 \pm 7,4\%$ ) утворюють дихальні бронхіоли, альвеолярні ходи і альвеолярні мішечки, у стінках яких розташовані альвеоли – альвеолярне дерево. Легеневі альвеоли мають різні розмірами: малі, середні та великі. Їх середній об'єм становить  $699,8 \pm 106,42$  тис.  $\text{мкм}^3$ .

**Перспектива подальших досліджень.** Майбутні дослідження будуть спрямовані на ультрамікроскопічне дослідження респіраторної частини легень свійських тварин.

**Відомості про дотримання біоетичних норм.** Робота виконана з дотриманням основних положень належної лабораторної практики GLP (1981 р.), положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених I Національним конгресом з біоетики (м. Київ, 2001 р.). Експериментальна частина дослідження була проведена згідно з вимогами міжнародних принципів «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовують в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.); «Правилами проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених наказом МОЗ №281 від 1 листопада 2000 р.; «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин» та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р., м. Київ); відповідно до рекомендацій «Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових морфологічних досліджень».

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори наукової статті (Горальський Леонід, Глухова Наталія, Сокульський Ігор) підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дзевульська І.В., Маліков О.В. Описова та клінічна анатомія, її критерії в діагностиці та лікуванні захворювань. Українські медичні вісті. 2021. Т. 13. № 3(88). С. 197–199. DOI:10.32471/umv.2709-6432.88.1799
2. Морфологічні та морфометричні особливості будови серця великої рогатої худоби/ Л.П. Горальський та ін. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Ветеринарні науки. 2021. Т. 23. № 103. С. 145–151. DOI:10.32718/nvlvet10320
3. Коптев М.М. Морфофункціональна характеристика структурних елементів легень щурів у нормі. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2011. Т. 11. № 4 (36). Ч. 2. С. 92–94.
4. Anatomical and histological characteristics of the lungs in the ground squirrel (*Spermophilus citellus*) / M. Blagojević et al. Acta Veterinaria Hungarica. 2018. Vol. 66. no. 2. P. 165–176. DOI:10.1556/004.2018.016.18
5. Phillips C.G., Kaye S.R., Schroter R.C. A diameter-based reconstruction of the branching pattern of the human bronchial tree. Part I. Description and application. Respiration physiology. 1994. Vol. 98(2). P. 193–217. DOI:10.1016/0034-5687(94) 00042-5
6. Johnson-Delaney C.A., Orosz S.E. Rabbit respiratory system: clinical anatomy, physiology and disease. The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice. 2011. Vol. 14(2). P. 257–266. DOI:10.1016/j.cvex.2011.03.002
7. Прокушенкова О.Г. Морфологія легень цуценят собак Неонатального періоду. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2009. Том 11. № 2(41). Частина 4. С. 244–247.
8. Patwa A., Shah A. Anatomy and physiology of respiratory system relevant to anaesthesia. Indian journal of anaesthesia. 2015. Vol. 59(9). P. 533–541. DOI:10.4103/0019-5049.165849
9. Airway branching morphology of mature and immature rabbit lungs/ R. Ramchandani et al. Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985). 2001. Vol. 90(4). P. 1584–1592. DOI:10.1152/jappl.2001.90.4.1584
10. Ramchandani R., Shen X., Gunst S.J., Tepper, R.S. Comparison of elastic properties and contractile responses of isolated airway segments from mature and immature rabbits. Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985). 2003. Vol. 95(1). P. 265–271. DOI:10.1152/japplphysiol.00362.2002
11. Meyer K.C., Rosenthal N.S., Soergel P., Peterson K. Neutrophils and low-grade inflammation in the seemingly normal aging human lung. Mechanisms of ageing and development. 1998. Vol. 104(2). P. 169–181. DOI:10.1016/s0047-374(98)00065-7
12. Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity/J.E. Moyron-Quiroz et al. Nature medicine. 2004. Vol. 10(9). P. 927–934. DOI:10.1038/nm1091
13. Corbett M., Kraehenbuhl J.P. Lung immunity: necessity is the mother of induction. Nature medicine. 2004. Vol. 10(9). P. 904–905. DOI:10.1038/nm0904-904
14. Brogden K.A., Ackermann M., McCray P.B., Jr. Tack B.F. Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences. International journal of antimicrobial agents. 2003. Vol. 22(5). P. 465–478. DOI:10.1016/s0924-8579(03)00180-8
15. Hiemstra P.S., Amatngalim G.D., Van der Does A.M., Taube C. Antimicrobial Peptides and Innate Lung Defenses: Role in Infectious and Noninfectious Lung Diseases and Therapeutic Applications. Chest. 2016. Vol. 149(2). P. 545–551. DOI:10.1378/chest.15-1353
16. Островський М.М. Роль систем сурфактанту легень та інтерлейкінів в процесі формування зятого перебігу пневмоній. Український пульмонологічний журнал. 2004. № 2. С. 23–25.
17. Wright J.R. Host defense functions of pulmonary surfactant. Biology of the neonate. 2004. Vol. 85(4). P. 326–332. DOI:10.1159/000078172 9
18. Європейська конвенція про захист домашніх тварин» від 13.11.1987 р., що ратифіковано: Законом України № 578-VII (578-18) від 18.09.2013. URL:[https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994\\_a15#Text](https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_a15#Text)
19. Мішалов В.Д., Чайковський Ю.Б., Твердохліб І.В. Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових морфологічних досліджень. Морфологія. 2007. Т. 1. № 2. С. 108–115.
20. Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології: навч. посіб. Житомир: Полісся, 2019. 288 с.
21. Мусабаева Л.Л., Сеитов М.С., Паршина Т.Ю. Сравнительные аспекты морфологии сердца и лёгких зайца-русака и кролика домашнего (молочный возрастной период). Альманах молодой науки. 2017. № 4. С. 32–35.
22. Anatomical and histological characteristics of the lungs in the ground squirrel (*Spermophilus citellus*) / M. Blagojević et al. Acta Veterinaria Hungarica. 2018. Vol. 66 (2). P. 165–176. DOI:10.1556/004.2018.016
23. Прокушенкова О.Г. Морфологія легень цуценят собак Неонатального періоду. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2009. Том 11. № 2(41). Частина 4. С. 244–247.
24. Autifi M.A.H., El-Banna A.K., Ebaid A.E.S. Morphological study of rabbit lung, bronchial tree and pulmonary vessels using corrosion cast technique. AL-Azhar Assiut medical journal. 2015. Vol. 13. P. 41–50. URL:<http://www.aamj.eg.net/journals/pdf/2352.pdf>
25. Jackson A.C., Suki B., Ucar M., Habib R. Branching airway network models for analyzing high-frequency lung input impedance. Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985). 1993. Vol. 75(1). P. 217–227. DOI:10.1152/jappl.1993.75.1.217
26. Estimating the diameter of airways susceptible for collapse using crackle sound/ A. Majumdar et al. Journal of applied physiology (Bethesda, Md.: 1985). 2009. Vol. 107(5). P. 1504–1512. DOI:10.1152/japplphysiol.91117.2008
27. Ferner K., Schultz J.A., Zeller U. Comparative anatomy of neonates of the three major mammalian groups (monotremes, marsupials, placentals) and implications for the ancestral mammalian neonate

morphotype. *Journal of anatomy*. 2017. Vol. 231(6). P. 798–822. DOI:10.1111/joa.12689

28. Airway branching morphology of mature and immature rabbit lungs/ R. Ramchandi et al. *J Appl Physiol*. 2001. Vol. 90. P. 1584–1592. DOI:10.1152/jappl.2001.90.4.1584

29. Differences in airway structure in immature and mature rabbits/ R. Ramchandani et al. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985). 2000. Vol. 89(4). P. 1310–1316. DOI:10.1152/jappl.2000.89.4.1310

30. Гирфанов А.И., Ситдииков Р.И. Строение бронхиального дерева у норки американской. Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2010. № 1. С. 205–208.

31. Чиркова Е.Н., Завалева С.М., Садыкова Н.Н., Чернопрудова П.В. Морфологические особенности строения легких и сердца ночницы брандта (Myotis Brandtii). Вестник Оренбургского государственного университета. 2017. № 6 (206). С. 90–93.

32. Duncker H.R. Vertebrate lungs: structure, topography and mechanics: A comparative perspective of the progressive integration of respiratory system, locomotor apparatus and ontogenetic development. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2004. Vol. 144. P. 111–124.

33. Hyde D.M., Hamid Q., Irvin C.G. Anatomy, pathology, and physiology of the tracheobronchial tree: emphasis on the distal airways. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2009. Vol. 124. No. 6. P. 72–77. DOI:10.1016/j.jaci.2009.08.048

34. Animal models of smoke inhalation injury and related acute and chronic lung diseases/ K. Reczyska et al. *Advanced drug delivery reviews*. 2018. Vol. 123. P. 107–134. DOI:10.1016/j.addr.2017.10.005

35. Зеленевский, Н.В., Зеленевский К.Н. Анатомия животных. Лань, Санкт-Петербург. Москва. Краснодар. 2014. 844 с.

36. Горальський Л.П., Глухова Н.М., Сокульський І.М. Морфологічні особливості легень кроля. Наукові горизонти. 2020. № 08 (93). С. 180–188. DOI:10.33249/2663-2144-2020-93-8-180-188

37. Keir S., Page C. The rabbit as a model to study asthma and other lung diseases. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2008. Vol. 21(5). P. 721–730. DOI:10.1016/j.pupt.2008.01.005

38. Airway branching morphology of mature and immature rabbit lungs/ R. Ramchandi et al. *J Appl Physiol*. 2001. Vol. 90. P. 1584–1592. DOI:10.1152/jappl.2001.90.4.1584

39. Chaturvedi A., Lee Z. Three-dimensional segmentation and skeletonization to build an airway tree data structure for small animals. *Phys Med Biol*. 2005. Vol. 50(7). P. 1405–1419. DOI:10.1088/0031-9155/50/7/005

40. İlgun R., Yoldas A., Kuru N., Özkan Z.E. Macroscopic anatomy of the lower respiratory system in mole rats (*Spalax leucodon*). *Anatomia, histologia, embryologia*. 2014. Vol. 43(6). P. 474–481. DOI:10.1111/ahc.12098

41. Прокушенкова О.Г. Морфологія легень цуценят собак Неонатального періоду. Науковий віс-

ник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2009. Том 11. № 2(41). Частина 4. С. 244–247.

42. Петренко В.М. Анатомия легких у белой крысы. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2013. № 10–3. С. 414–417.

43. Топографія легких половозрелого кролика в нормі/Л.В. Ткаченко и др. Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2010. № 8 (70). С. 55–60.

## REFERENCES

1. Dzevljvsjka, I.V., Malikov, O.V. (2021). Opysova ta klinichna anatomija, i'i kryterii v diagnostyci ta likuvanni zahvorjuvan' [Descriptive and clinical anatomy, its criteria in the diagnosis and treatment of diseases]. *Ukrai'ns'ki medychni visti [Ukrainian medical news]*. Vol. 3(88), pp. 197–199. (in Ukrainian)

2. Goralskyi, L.P., Ragulya, M.R., Sokulskyi, I.M., Kolesnik, N. L., Goralska, I. Y. (2021). Morfologichni ta morfometrychni osoblyvosti budovy sercya velykoj' rogadoj' hudoby [Morphological and morphometrical characteristics of cattle heart structure]. *Naukovyj visnyk LNUVMB imeni S.Z. G'zhyc'kogo [Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies]*. *Veterynarni nauky [Veterinary sciences]*. Vol. 23(103), pp. 145–151. DOI:10.32718/nvlvet10320 (in Ukrainian)

3. Koptev, M.M. (2011). Morfo-funkcional'na harakterystyka strukturnyh elementiv legen' shhuriv u normi [Morphological and functional characteristics of structural elements in healthy rats lungs]. *Aktual'ni problemy suchasnoj' medycyny: Visnyk Ukra'ns'koj' medychnoj' stomatologichnoj' akademii' [Actual problems of modern medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Stomatological Academy]*. Vol. 4 (36), pp. 92–94. (in Ukrainian)

4. Blagojević, M., Božičković, I., Ušćebrka, G., Lozanče, O., Đorđević, M., Zorić, Z., Nešić, I. (2018). Anatomical and histological characteristics of the lungs in the ground squirrel (*Spermophilus citellus*). *Acta Veterinaria Hungarica*. Vol. 66(2), pp. 165–176. DOI:10.1556/004.2018.016.18

5. Phillips, C.G., Kaye, S.R., Schroter, R.C. (1994). A diameter-based reconstruction of the branching pattern of the human bronchial tree. Part I. Description and application. *Respiration physiology*. Vol. 98(2), pp. 193–217. DOI:10.1016/0034-5687(94)00042-5

6. Johnson-Delaney, C.A., Orosz, S.E. (2011). Rabbit respiratory system: clinical anatomy, physiology and disease. *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice*. Vol. 14(2), pp. 257–266. DOI:10.1016/j.cvex.2011.03.002

7. Prokushenkova, O.H. (2009). Morfologija legen' cucenjat sobak Neonatal'nogo periodu [Morphology of the lungs of dog puppies in the neonatal period]. *Naukovyj visnyk LNUVMBT imeni S.Z. G'zhyc'kogo [Scientific Bulletin of the LNUVMBT named after S.Z. Gzhitskyi]*. Vol. 11(2), pp. 244–247 (in Ukrainian).

8. Patwa, A., Shah, A. (2015). Anatomy and physiology of respiratory system relevant to anaesthesia. *Indian journal of anaesthesia*, Vol. 59(9), pp. 533–541. DOI:10.4103/0019-5049.165849

9. Ramchandani, R., Bates, J.H., Shen, X., Suki, B., Tepper, R.S. (2001). Airway branching morphology of mature and immature rabbit lungs. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), Vol. 90(4), pp. 1584–1592. DOI:10.1152/jappl.2001.90.4.1584
10. Ramchandani, R., Shen, X., Gunst, S.J., Tepper, R.S. (2003). Comparison of elastic properties and contractile responses of isolated airway segments from mature and immature rabbits. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), Vol. 95(1), pp. 265–271. DOI:10.1152/japplphysiol.00362.2002
11. Meyer, K.C., Rosenthal, N.S., Soergel, P., Peterson, K. (1998). Neutrophils and low-grade inflammation in the seemingly normal aging human lung. *Mechanisms of ageing and development*. Vol. 104(2), pp. 169–181. DOI:10.1016/s0047-6374(98)00065-7
12. Moyron-Quiroz, J.E., Rangel-Moreno, J., Kussner, K., Hartson, L., Sprague, F., Goodrich, S., Woodland, D.L., Lund, F.E., Randall, T.D. (2004). Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity. *Nature medicine*, Vol. 10(9), pp. 927–934. DOI:10.1038/nm1091
13. Corbett, M., Kraehenbuhl, J.P. (2004). Lung immunity: necessity is the mother of induction. *Nature medicine*, Vol. 10(9), pp. 904–905. DOI:10.1038/nm0904-904
14. Brogden, K.A., Ackermann, M., McCray, P. B., Jr. Tack, B.F. (2003). Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences. *International journal of antimicrobial agents*, Vol. 22(5), pp. 465–478. DOI:10.1016/s0924-8579(03)00180-8s, A.M., Taube, C. (2016). Antimicrobial Peptides and Innate Lung Defenses: Role in Infectious and Noninfectious Lung Diseases and Therapeutic Applications. *Chest*, Vol. 149(2), pp. 545–551. DOI:10.1378/chest.15-1353
16. Koptev, M.M. (2004). Rol' system surfaktantu legen' ta interlejkyniv v procesi formuvannja zatjazh-nogo perebigu pnevmonij [The role of lung surfactant systems and interleukins in the formation of a protracted course of pneumonia]. *Ukrai'n's'kyj pul'monolog-ichnyj zhurnal [Ukrainian pulmonology journal]*, no. 2, pp. 23–25. (in Ukrainian)
17. Wright, J.R. (2004). Host defense functions of pulmonary surfactant. *Biology of the neonate*. Vol. 85(4), pp. 326–332. DOI:10.1159/000078172
18. Yevropeiska konventsiiia pro zakhyst domash-nikh tvaryn» vid 13.11.1987 r., shcho ratyfikovano: Zakonom Ukrainy № 578-VII (578-18) vid 18.09.2013 [European Convention on the Protection of Domestic Animals" dated November 13, 1987, ratified by: Law of Ukraine No. 578-VII (578-18) dated September 18, 2013.]. Available at: [https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994\\_a15#Text](https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_a15#Text) (in Ukrainian).
19. Mishalov, V.D., Chaikovskiy, Yu.B., Tverdokhlib, I.V. (2007). Pro pravovi, zakonodavchi ta etychni normy i vymogy pry vykonanni naukovykh morfolog-ichnykh doslidzhen' [About legal, legislative and ethical norms and requirements in the performance of scientific morphological research]. *Morfologija [Morphology]*. Vol. 1(2), pp. 108–115. (in Ukrainian)
20. Horalskyi, L.P., Khomychi, V.T., Kononskyi, O.I. (2019). Osnovy gistologichnoi' tehniky i morfo-funkcional'ni metody doslidzhennja u normi ta pry patologii': navch. posib [Fundamentals of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathology]. Zhytomyr: Polissia. (in Ukrainian).
21. Musabaeva, L.L., Seitov, M.S., Parshina, T.Y. (2017). Sravnitel'nye aspekty morfologi serdca i ljogkih zajca-rusaka i krolika domashnego (molochnyj vozrastnoj period) [Comparative aspects of the morphology of the heart and lungs of the hare and the domestic rabbit (milk age)]. *Al'manah molodoj nauki [Almanac of young science]*. Vol. 4, pp. 32–35. (in Russian).
22. Blagojević, M., Božičković, I., Ušćebrka, G., Lozanče, O., Đorđević, M., Zorić, Z., Nešić, I. (2018). Anatomical and histological characteristics of the lungs in the ground squirrel (*Spermophilus citellus*). *Acta Veterinaria Hungarica*, Vol. 66(2), pp. 165–176. DOI:10.1556/004.2018.016
23. Prokushenkova, O.H. (2009). Morfolohiia lehen tsutseniat sobak Neonatalnoho period [Morphology of the lungs of dog puppies in the neonatal period]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Gzhyskoho [Scientific Bulletin of the LNUVMBT named after S.Z. Gzhitskyi]*. Vol. 11(2), pp. 244–247. (in Ukrainian).
24. Autifi, M.A.H., El-Banna, A.K., Ebaid, A.E.S. (2015). Morphological study of rabbit lung, bronchial tree and pulmonary vessels using corrosion cast technique. *AL-Azhar Assiut medical journal*, Vol. 13, pp. 41–50. Available at: <http://www.aamj.eg.net/journals/pdf/2352.pdf>
25. Jackson, A.C., Suki, B., Ucar, M., Habib, R. (1993). Branching airway network models for analyzing high-frequency lung input impedance. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), Vol. 75(1), pp. 217–227. DOI:10.1152/jappl.1993.75.1.217
26. Majumdar, A., Hantos, Z., Tolnai, J., Parameswaran, H., Tepper, R., Suki, B. (2009). Estimating the diameter of airways susceptible for collapse using crackle sound. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), Vol. 107(5), pp. 1504–1512. DOI:10.1152/japplphysiol.91117.2008
27. Ferner, K., Schultz, J. A., Zeller, U. (2017). Comparative anatomy of neonates of the three major mammalian groups (monotremes, marsupials, placentals) and implications for the ancestral mammalian neonate morphotype. *Journal of anatomy*, Vol. 231(6), pp. 798–822. DOI:10.1111/joa.12689
28. Ramchandi, R., Bates, J.H., Shen, X., Suki, B., Tepper R.S. (2001). Airway branching morphology of mature and immature rabbit lungs. *J Appl Physiol*, Vol. 90, pp. 1584–1592. DOI:10.1152/jappl.2001.90.4.1584
29. Ramchandani, R., Shen, X., Elmsley, C.L., Ambrosius, W.T., Gunst, S.J., Tepper, R.S. (2000). Differences in airway structure in immature and mature rabbits. *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 89(4), pp. 1310–1316. DOI:10.1152/jappl.2000.89.4.1310
30. Girfanov, A.I., Sitdikov, R.I. (2010). Stroenie bronhial'nogo dereva u norki amerikanskoy [The structure of the bronchial tree in the American mink].

Uchenye zapiski Kazanskoj gosudarstvennoj akademii veterinarnoj mediciny im. N. Je. Baumana [Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine. N. E. Bauman]. Vol. 1, pp. 205–208. (in Russian)

31. Chirkova, E.N., Zavaleeva, S.M., Sadykova, N.N., Chernoprudova, P.V. (2017). Morfologicheskie osobennosti stroenija legkih i serdca nochnicy brandta (*Myotis Brandtii*) [Morphological features of the structure of the lungs and heart of Brandt's bat (*Myotis Brandtii*)]. Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta [Bulletin of the Orenburg State University]. Vol. 6(206), pp. 90–93. (in Russian)

32. Duncker, H.R. (2004). Vertebrate lungs: structure, topography and mechanics: A comparative perspective of the progressive integration of respiratory system, locomotor apparatus and ontogenetic development. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, Vol. 144, pp. 111–124.

33. Hyde, D.M., Hamid, Q., Irvin, C.G. (2009). Anatomy, pathology, and physiology of the tracheobronchial tree: emphasis on the distal airways. *The Journal of allergy and clinical immunology*, Vol. 124(6), pp. 72–77. DOI:10.1016/j.jaci.2009.08.048

34. Reczyńska, K., Tharkar, P., Kim, S.Y., Wang, Y., Pamuła, E., Chan, H.K., Chrzanowski, W. (2018). Animal models of smoke inhalation injury and related acute and chronic lung diseases. *Advanced drug delivery reviews*. Vol. 123, pp. 107–134. DOI:10.1016/j.addr.2017.10.005

35. Zelenevsky, N., Zelenevsky, K.N. (2014). Anatomija zhivotnyh. Lan', Sankt-Peterburg [Anatomy of animals. Lan, St. Petersburg]. Moscow, Krasnodar. (in Russian)

36. Horalskyi, L., Hlukhova, N., Sokulskyi, I. (2020). Morfologichni osoblyvosti legeniv krolja [Morphological traits of rabbit lung]. *Naukovi goryzonty [Scientific Horizons]*, Vol. 08(93), pp. 180–188. DOI:10.33249/2663-2144-2020-93-8-180-188 (in Ukrainian)

37. Keir, S., Page, C. (2008). The rabbit as a model to study asthma and other lung diseases. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, Vol. 21(5), pp. 721–730. DOI:10.1016/j.pupt.2008.01.005

38. Ramchandi, R., Bates, J.H., Shen, X., Suki, B., Tepper R.S. (2001). Airway branching morphology of mature and immature rabbit lungs. *J Appl Physiol*, Vol. 90, pp. 1584–1592. DOI:10.1152/jappl.2001.90.4.1584

39. Chaturvedi, A., Lee, Z. (2005). Three-dimensional segmentation and skeletonization to build an airway tree data structure for small animals. *Phys Med Biol*, Vol. 50(7), pp. 1405–1419. DOI:10.1088/0031-9155/50/7/005

40. İlgun, R., Yoldas, A., Kuru, N., Özkan, Z.E. (2014). Macroscopic anatomy of the lower respiratory system in mole rats (*Spalax leucodon*). *Anatomia, histologia, embryologia*, Vol. 43(6), pp. 474–481. DOI:10.1111/ah.12098

41. Prokushenkova, O.H. (2009). Morfolohiia lehen tsutseniat sobak Neonatalnoho period [Morphology of the lungs of dog puppies in the neonatal period]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterinaryanoi medytsyny ta biotekhnolohii ime-*

ni S. Z. Gzhytskoho [Scientific Bulletin of the LNU-VMBT named after S.Z. Gzhitskyi]. Vol. 11(2), pp. 244–247 (in Ukrainian)

42. Petrenko, V.M. (2013). Anatomija legkih u be- loj krysy [Anatomy of the lungs in a white rat]. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij [International Journal of Applied and Basic Research]*, Vol. 10(3), pp. 414–417. (in Russian)

43. Tkachenko, L.V., Kononov, V.K., Tyutyunnikov, S.V., Malofeev, Yu.M., Leshchenko, V.A., Bryukhanov, A.V. (2010). Topografija legkih polovozrelogo krolika v norme [Normal topography of the lungs of a mature rabbit]. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Bulletin of the Altai State Agrarian University]*. Vol. 8(70), pp. 55–60. (in Russian)

### **Peculiarities of morphoarchitectonics of the lungs of a sexually mature horse (*Equus Ferus caballus L., 1758*)**

**Horalskyi L., Hlukhova N., Sokulskyi I., Kole- snik N.**

The respiratory system is one of the most important systems that carries out the body's gas exchange between air and blood, as a result of which oxygen enters the body and carbon dioxide is removed from it to the environment.

In recent years, in the list of diseases of various etiologies, there has been a sharp increase in the number of diseases related to the respiratory organs. There is no doubt that the effective treatment of these pathologies is impossible without knowledge of breed and species characteristics of the anatomy and histology of respiratory organs, the morphofunctional parameters of which should be taken into account when carrying out diagnostic and preventive measures, regarding the prevention of animal diseases, and when providing them with medical care. Therefore, when planning research on the respiratory organs, which include the lungs, one should take into account their topographical-anatomical specific features in domestic animals, their structural-functional features of the microscopic structure, etc.

The completed morphological work is a fragment of the research topic of the Department of Normal and Pathological Morphology, Hygiene and Expertise, Poliss National University: "Development, morphology and histochemistry of animal organs in normal and pathological conditions", (state registration number – No. 0113V000900).

This publication is devoted to the study of the morpho-functional characteristics of the lungs of a sexually mature horse (*Equus Ferus caballus L., 1758*). Using the method of anatomical dissection, macroscopic, histological, morphometric and statistical methods of research, the macro- and microscopic structure of the lungs was clarified and their belonging to a certain anatomical type was determined. As a result of the conducted studies, the partial structure of the lungs was determined, their topography, shape, dimensions, absolute and relative mass of the lungs were determined, a morphometric assessment of their morphological structures, asymmetry coefficient, etc. was carried out.

Staining of tissue sections with hematoxylin and eosin was used to study cell morphology, conduct morphometric studies, and obtain histological examination preparations. When conducting morphological studies, the basic rules of good laboratory practice GLP (1981), the provisions of the "General ethical principles of animal experiments" adopted by the First National Congress of Bioethics (Kyiv, 2001) and the requirements of the "Rules for conducting work using experimental animals", approved by order of the Ministry of Health No. 281 dated November 1, 2000 "On measures to further improve organizational forms of work with the use of experimental animals".

It was morphologically investigated that the macro- and micromorphology of the lungs of a sexually mature horse has certain characteristic morphological features, according to the class, age and species of animals. Thus, through scientific studies of the horse, we present the presence of individual morphological fea-

tures in the lobular structure of the lungs. So, in the left lung of horses there are only two lobes: cranial and caudal, in the right lung there are three lobes: cranial, caudal and additional.

Histological structure of acini formed by alveolar ducts, alveolar sacs and alveoli. According to the results of morphological studies, the alveolar tree in horses, represented by a shortened type, is wide and has a bubble shape. Morphometric studies have shown that the average volume of pulmonary alveoli in clinically healthy horses is  $699.8 \pm 106.42$  thousand  $\mu\text{m}^3$ . The respiratory part of the lungs in horses occupies  $54.8 \pm 7.4\%$  of the total area of the lung parenchyma, the connective tissue base –  $45.2 \pm 7.4\%$

**Key words:** anatomy, domestic animals, respiratory organs, gas exchange, morphometry, morphotopography, lung lobes, absolute weight, lung histology, bronchial tree, respiratory bronchioles, lung asymmetry.



Copyright: Горальський Л.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.



ORCID iD:

Горальський Л.П.

Глухова Н.М.

Сокульський І.М.

Колеснік Н.Л.

<https://orcid.org/0000-0002-4251-614X>

<https://orcid.org/0000-0002-4129-7889>


<https://orcid.org/0000-0002-6237-0328>

<https://orcid.org/0000-0002-6237-0328>

## ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК 636.2.083:612.8

### Поведінка корів за різних фізіологічних станів і методів утримання

Ємельяненко А.А. , Шмаюн С.С. , Ніщенко М.П. ,Порошинська О.А. , Стовбетька Л.С. , Козій В.І. *Білоцерківський національний аграрний університет* Ємельяненко Алла Анатоліївна, [alla.emelyanenko@btsau.edu.ua](mailto:alla.emelyanenko@btsau.edu.ua)

Ємельяненко А.А., Шмаюн С.С., Ніщенко М.П., Порошинська О.А., Стовбетька Л.С., Козій В.І. Поведінка корів за різних фізіологічних станів і методів утримання. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 89–100.

Emelyanenko A., Shmayun S., Nischemenko M., Poroshinska O., Stovbetska L., Koziy V. Cows behavior under different physiological states and keeping methods. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 89–100.

Рукопис отримано: 31.10.2022 р.

Прийнято: 14.11.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-89-100

Враховання особливостей поведінки корів, зокрема в умовах сучасного інтенсивного тваринництва, є важливим чинником забезпечення здоров'я стада і отримання якісної тваринницької продукції. Показники поведінки можна ефективно використовувати для моніторингу умов годівлі та утримання тварин. Метою роботи було ознайомитися зі стереотипом поведінки корів у промислових умовах за різних фізіологічних станів та методів утримання. Для цього було проведено пошук, відбір та аналіз публікацій згідно з темою дослідження. Для пошуку наукових статей застосовували наукометричні бази Web of Science Core Collection та PubMed.

Встановлено, що в умовах сучасних молочних ферм корови мають перебувати в лежачому положенні близько половини добового часу. Чинниками, які сприяють відпочинку корів лежачи є м'яка і суха поверхня лежаків, їх достатні просторові параметри, забезпечення адекватних умов зовнішнього середовища (температура, вологість, швидкість вітру, освітлення тощо). Якість відпочинку також залежить від соціального середовища, фізіологічного стану, індивідуальних характеристик корів тощо. Забезпечення вільного доступу до вигульних майданчиків і пасовищ сприяє більш повному вираженню природної поведінки молочних корів. Корови надають перевагу перебуванню за межами приміщень переважно в нічний період часу. Відкриті пасовища є більш привабливими для корів ніж вигульні майданчики з піском чи солом'яним покриттям.

Кормова поведінка є важливим чинником забезпечення здоров'я корів та високої молочної продуктивності. Вона визначається параметрами доступу корів до кормів і кормового столу, якістю, кількістю та алгоритмом згодовування кормової маси. Годівля корів має бути організована у такий спосіб, щоб забезпечити постійний вільний доступ тварин до кормового столу за наявності якісних кормів. Материнська поведінка корів є важливим індикатором, який дозволяє оцінити стан та умови утримання корів до, під час та після отелення.

Отже, зміни поведінки корів можуть мати важливе діагностичне і прогностичне значення. Проведення подальших досліджень в цьому напрямку є актуальним завданням ветеринарної науки і практики.

**Ключові слова:** стереотип поведінки, корови, методи утримання, телята, моціон, раціон, молочні ферми.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Можливість виражати свою природну поведінку є важливою для всіх тварин, зокрема продуктивних. Методи утримання та годівлі мають забезпечувати тваринам умови наближені до природних. За таких умов тварини можуть виявляти більш повний стереотип природної поведінки та фізіологічних відправлень. Це дасть можливість забезпечити високий рівень їх добробуту і відповідно розвиток стресостійкості, зменшення рівня захворюваності та підвищення продуктивності. Однак, сучасний рівень молочного тваринництва передбачає використання корів на межі своїх фізіологічних можливостей. Тому профілактика стресових станів та підвищення стійкості корів до хвороб є важливим завданням лікарів ветеринарної медицини. Вирішення цього питання залежить від того наскільки вдасться інтегрувати можливість вираження природної поведінки в технологічні процеси на виробництві.

Водночас, J.H. Britt та співавт. [1] вважають, що за врахування змін клімату у світі та зменшення площ орних земель молочне тваринництво буде мати значні переваги порівняно з іншими галузями тваринництва. Швидке впровадження сучасних технологій та комп'ютеризація молочних ферм забезпечать достатню рентабельність молочної продукції. Однак, дослідники наголошують, що це потребуватиме забезпечення умов для вираження природної поведінки корів, тобто застосування етологічного підходу до вирішення питань профілактики стресових станів та хвороб молочних корів.

Мотивація та інстинкти є важливим аспектом природної поведінки. Неможливість їх вираження тваринами може призвести до вияву патологічних форм поведінки та стресу. Для своєчасної діагностики і захисту від стресу важливо мати базові знання про видоспецифічні види поведінки тварин в природних для них умовах існування. Лише на основі цих знань слід проводити планування і будівництво тваринницьких приміщень, розрахунок площі утримання тварин, методів їх годівлі та напування тощо [2].

Під час етологічної оцінки дійних корів, зазвичай, враховують умови утримання (прив'язне чи безприв'язне, з доступом чи без доступу до пасовища чи вигульних майданчиків) та годівлі (кормовий стіл, роздільна чи індивідуальна годівля тощо).

Зокрема, згідно з даними J.F. Мее та L.A. Boyle [3] технології виробництва молока з доступом до пасовищ сприймаються споживачами і з наукового погляду є природними, а тому

більш кращими для корів, ніж утримання їх в приміщеннях. Автори встановили, що корови на пасовищах демонструють менш агресивну поведінку, більше відпочивають, виявляють більший стереотип репродуктивної поведінки та кращу її синхронність, ніж за прив'язного утримання. На основі цих даних було зроблено висновок, що найбільш оптимальною системою утримання корів є гібридна. Вона дозволяє корові вибирати між обома середовищами, у такий спосіб підтримуючи свій позитивний емоційний стан. Дослідники вважають, що в найближчому майбутньому визначення афективного стану корови буде важливим викликом як для індустрії так і ветеринарної науки.

У зв'язку з цим **метою** роботи було ознайомитися з особливостями поведінки корів в промислових умовах за різних фізіологічних станів та методів утримання.

**Матеріал і методи дослідження.** Проведено пошук, відбір та аналіз публікацій згідно з темою дослідження впродовж 2010–2021 рр. відповідно до методики для систематичних оглядів літератури. Для пошуку іноземних наукових статей застосовували наукометричні бази Web of Science Core Collection (<http://apps.webofknowledge.com>), PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>). Для пошуку матеріалів використовували наступні ключові слова: поведінка (behavior), корови (cows), телята (calves), материнська поведінка (maternal behavior), молочні ферми (dairy farms), грумінг (grooming), продуктивність (productivity), стрес (stress), пасовища (pastures), методи утримання (keeping methods).

Вивчали наукові статті у журналах з категорій: ветеринарні науки (veterinarysciences), тваринництво (animalsscience), розмноження (reproduction), технології тваринництва (animalstechnology), етологія тварин (animalsethology), поведінка тварин (animalbehaviour).

**Результати дослідження.** Зазвичай, фізіологічний стан молочних корів оцінюють за наступною концепцією – стан здоров'я та гомеостаз, афективний стан та можливість вираження природної поведінки. Зокрема, A. Beaver та співавт. [4] вважають, що за оцінки молочної худоби важливо враховувати величину розмежування між природними умовами існування тварин та можливостями експресії природної поведінки в умовах молочно-товарних ферм. Автори наголошують на важливості створення на фермах природних умов утримання, які б забезпечували задоволення мотиваційних пріоритетів тварин.

Стереотип поведінки корів залежить від

умов навколишнього середовища. Згідно з даними L. Polsky та M.A.G. von Keyserlingk [5], за високої температури зовнішнього середовища у корів загострюється почуття голоду і спраги. У зв'язку з цим є потреба в проведенні наукових досліджень, які вивчають взаємодію між умовами утримання, тепловим стресом, фрустрацією, агресією та болем у цих тварин.

Аналізуючи столітню історію розвитку молочного тваринництва J.M. Bewley та співавтор [6] констатували, що зміни методів утримання корів в приміщеннях не завжди були спрямовані на підвищення рівня комфорту корів, часто не враховували розміри тіла, стадію лактації чи породні особливості тварин. Автори наголошують, що в найближчому майбутньому за проектування приміщень для утримання корів, важливим завданням буде забезпечення можливості коровам виражати свої вподобання, щодо закритих приміщень чи пасовища, мати можливість проявляти свою природну поведінку, одночасно забезпечуючи дотримання гігієнічних умов отримання молочної продукції та задовільний стан здоров'я тварин.

Згідно з даними Beaver A. та співавтор [7], більшість сучасних методів утримання молочної худоби не забезпечують достатнього рівня благополуччя тварин. Авторами встановлено, що молочну худобу в більшості випадків утримують без будь-якого доступу до пасовища. Це порушує мотиваційну спрямованість тварин і може негативно вплинути на їх добробут. Дослідники стверджують, що за сучасних технологій утримання корів потрібно намагатися наблизити їх до природних з урахуванням пріоритетів тварин.

Отже, незважаючи на тривалий період утримання молочних корів у промислових умовах у них зберігся стереотип і мотивація до вираження властивої їм природної поведінки. Врахування особливостей поведінки корів, зокрема в умовах сучасного інтенсивного тваринництва, є важливим чинником забезпечення здоров'я стада і отримання якісної тваринницької продукції.

Важливою умовою для повноцінного перебігу фізіологічних процесів у корів є забезпечення комфортних умов для їх відпочинку. Майже половину свого життя більшість жуйних тварин проводять лежачи. За сприятливих умов, в лежачому положенні корови здійснюють більше двох третин жуйних рухів, що забезпечує правильне функціонування у них біологічне складної травної системи.

Згідно з даними S.V. Tucker та співавтор [8], корови виявляють високу мотивацію до відпочинку лежачи. Після тривалого періоду

без змоги відпочивати лежачи корови можуть компенсувати цей час завдяки кормовій чи соціальній поведінці. За оперантного кондиціонування корови прикладатимуть значних зусиль (довго натискуватимуть на важелі) щоб отримати доступ до комфортного місця відпочинку. Несприятливі умови, такі як висока щільність утримання тварин, тверда чи волога і забруднена поверхня лежаків, невідповідні підстилка чи розміри боксів, дощова і вітряна погода негативно впливають на тривалість відпочинку корів лежачи.

Важливою умовою вираження природної поведінки корів є забезпечення комфортного місця відпочинку. На думку N.V. Cook [9], комфортне місце відпочинку для корови має бути безпечним, чистим і сухим, поруч мають розташовуватися місця для годівлі та водопою, поверхня лежача повинна мати глибоку м'яку підстилку, яка дозволяє корові лежати близько 12 годин на добу, розміри боксів мають забезпечувати легкість актів «лягання» та «вставання» з врахуванням наявності вільного простору для виносу голови корови вперед.

Одним із важливих чинників забезпечення достатньої тривалості відпочинку лежачи (до 12 годин на добу) та прийому корму (3–5 годин на добу) є утримання оптимальної кількості тварин на одиницю площі. За високої щільності утримання корів зменшується час відпочинку та тривалість жуйних періодів, порушується кормова поведінка, підвищується соціальний стрес [10].

S.C. Abade та співавтор [11] досліджували ефективність використання коровами традиційних та модернізованих боксів. У модернізованих боксах були відсутні шийна рейка та перетинки між боксами (межі боксів визначала злегка припіднята над поверхнею лежача дерев'яна дошка). Було встановлено, що тривалість відпочинку лежачи в боксах обох видів була майже однаковою. В модернізованих боксах корови більше проводили часу стоячи в них усіма чотирма кінцівками. Це було пов'язано з тим, що виступаючі краї дерев'яних дошок заважали тваринам займати комфортну позицію для відпочинку лежачи.

M.R. Campler та співавтор [12] досліджували вплив використання вигульних майданчиків з глибокою солом'яною підстилкою та додаткового перебування (протягом 2 діб після отелення) у материнських боксах на відпочинок, кормову поведінку та ступінь вияву дистощії у корів. Встановлено, що кількість асистованих отелень була однаковою у тварин обох груп. Тварини на глибокій солом'яній підстилці більш плавно й швидко лягали

та вставали. Після додаткового перебування в материнських боксах корови довше відпочивали лежачи, лягали більшу кількість разів та проводили більше часу біля годівниці. Це вказує на позитивний вплив досліджуваних умов утримання на перехідний період у корів, що потенційно може профілакувати метаболічні хвороби, характерні для високопродуктивних корів у цей період.

Під час вивчення чинників, які впливають на якість відпочинку корів лежачи К. Ito та співавт. [13] встановили, що тривалість відпочинку більше залежить від індивідуальних особливостей корови, ніж від умов утримання тварин на кожній окремій фермі. В.К. Sahu та співавт. [14] визначили, що тривалість відпочинку корів негативно асоціювалася з високою температурою зовнішнього середовища, підвищеною інтенсивністю світлових і звукових подразників та позитивно корелювала з високою вологістю повітря. За даними інших авторів [15], на тривалість відпочинку та гігієнічні показники вимені і сосків впливає наявність доступу до вигульних майданчиків і якість та склад глибокої незмінної підстилки.

Е. Shepley та співавт. [16] порівнювали параметри відпочинку корів за прив'язного та безприв'язного (в оборах на глибокій солом'яній підстилці) утримання. Встановлено, що за прив'язного утримання корови мають у 5 разів більше контактів з конструкціями приміщення ніж тварини за безприв'язного утримання. За прив'язного утримання висока кількість контактів корів під час лягання поєднується з вищою частотою зміни положення тазової частини тіла, особливо зі збільшенням терміну тільності. За безприв'язного утримання корови виявляли більшу різноманітність положень тіла під час лежання. Автори вважають, що глибока підстилка полегшує процес лягання і вставання корів, що приводить до збільшення тривалості їх відпочинку лежачи.

В. Вoyer та співавт. [17] вивчали вплив подвійної ширини стійла (284 см), порівняно зі стандартом (140 см), на параметри відпочинку корів. Встановлено, що за використання подвійних станків корови більш часто випрямляли тазові кінцівки, не займаючи простір сусіднього станка. В процесі лягання корови в подвійних станках також мали менше контактів з обмежувальними конструкціями. Загальний час відпочинку лежачи за використання коровами подвійного і стандартного за шириною станка статистично не відрізнявся 716 та 671 хв/добу, відповідно.

Отже, відпочинок лежачи є важливою фізіологічною потребою у корів. В умовах су-

часних молочних ферм корови мають перебувати в лежачому положенні близько 12 годин на добу. Чинниками, які сприяють відпочинку корів лежачи є м'яка і суха поверхня лежаків, їх достатні просторові параметри, задовільні умови зовнішнього середовища (температура, вологість, швидкість вітру, освітлення тощо). На якість відпочинку також впливають фізіологічний стан, індивідуальні характеристики корови тощо.

Ряд публікацій вказують на здатність корів надавати перевагу лише поверхням з певними фізичними та гігієнічними властивостями. К.Е. Schütz та співавт. [18] встановили, що корови зазвичай уникають лягати на зволожені чи забруднені гноївкою поверхні. Така поведінка, зокрема, обумовлюється включенням афективних реакцій тварин.

Інші автори [19] досліджували поведінку тварин після заміни щілинних бетонних підлог на гумове покриття. Встановлено, що за гумового покриття у корів збільшувалася ширина кроків та відстань, яку проходять корови протягом доби. Також тварини виявляли більший стереотип репродуктивної (вияв охоти), соціальної (форми та тривалість контактів з іншими тваринами) та грумінгової (збільшення частоти і тривалості самооблизування з опорою на три кінцівки чи важкодоступних місць у каудальній частині тіла) поведінки.

Отже, використання якісних поверхонь лежаків, проходів та інших місць перебування корів сприяє вираженню природних форм поведінки, покращує фізіологічні показники життєдіяльності тварин та їх продуктивні характеристики.

З погляду еволюції і фізіології використання пасовищ може найбільш якісно забезпечити відправлення усіх етологічних та фізіологічних потреб корів. Це бачення підтримується результатами більшості проведених наукових досліджень. Окремі автори зазначають, що сучасні високопродуктивні корови можуть бути більш чутливими до викликів навколишнього середовища і відповідно потребувати додаткових заходів безпеки або захисту.

Зокрема, К.Е. Schütz та співавт. [20] встановили, що на пасовищі, за сонячної погоди і високої зовнішньої температури коровам необхідний доступ до затінених ділянок площею не менше 9,6 м<sup>2</sup> на одну корову. За таких умов корови проводять більше часу у затінку в критичні періоди (теплове навантаження) доби, споживають більше корму та води. У них реєструють менші відхилення від норми основних фізіологічних показників – температури тіла, пульсу, частоти дихання тощо.

Дослідження проведені іншими авторами [21] показали, що за відсутності доступу до затінку, до певної межі, корови можуть справлятися з тепловим навантаженням через зміну своєї поведінки. Однак, забезпечення доступу до затінку в жаркий період доби дозволяє тваринам переносити стрес з меншими витратами енергії корму води та краще зберігати продуктивність.

За вирішення проблеми нерівномірного використання обладнання для роботизованого доїння корів, особливо в нічний період, А.І. John та співавт. [22] вважають перспективним використання етологічного підходу. Автори рекомендують регулювати добровільне відвідання тваринами роботизованого доїльного обладнання через корегування доступу і кількості кормів на кількох прилеглих пасовищах. На залежність поведінки корів від якості пасовищ також вказують результати досліджень L. Riaboff та співавт. [23]. E. Spöndly та E. Wredle [24] досліджували зміни поведінки корів на пасовищі за використання роботизованого доїння та різних схем забезпечення тварин питною водою. Встановлено, що розміщення додаткового місця напування тварин на пасовищі, яке знаходиться на відстані 330 м від тваринницького приміщення не впливало суттєво на молочну продуктивність, частоту доїння та кількість випитої коровами води.

Вплив кліматичних умов на добровільне використання вигульних майданчиків вивчали А.М. Smid та співавт. [25]. За безприв'язного утримання корів дослідники вивчали тривалість перебування корів на зовнішніх вигульних майданчиках під час зимового та літнього періодів. Встановлено, що в теплу пору року корови надавали вибірково перевагу зовнішньому вигулу, зокрема, вони більш часто використовували таку можливість в нічний період часу. В холодну пору року переваженні корів щодо використання вигульного майданчику виявлено не було. Автори вважають, що більша кількість опадів і холодний вітер могли негативно вплинути на бажання корів використовувати відкриті вигульні майданчики в зимній період. Результати інших досліджень [26] вказують на те, що ступінь використання вигульних майданчиків коровами також може залежати від щільності утримання корів у приміщеннях та загальної вигульної площі. Також, за наявності вибору (невелика вигульна ділянка з піском та відкрите пасовище) корови значно активніше покидають приміщення, особливо в нічний час, проводячи більше 90 % часу на відкритому пасовищі [27].

Подібні дослідження були проведені P.R. Motupalli та співавт. [28]. Дослідники вивчали переваженні корів за одночасного відкритого доступу до близько (40 м) та далеко (280 м) розташованих пасовищ з різною кількістю зеленої маси. Встановлено, що загалом корови вірогідно більше часу проводили на ближче розташованому пасовищі, незалежно від кількості зеленої маси. Однак, в нічний період, тварини використовували обидва пасовища з однаковою інтенсивністю. Також було встановлено, що корови, які знаходилися лише в приміщеннях мали меншу молочну продуктивність. Це пов'язано з тим, що вони менше часу проводили лежачи і на відміну від них, корови на пасовищі мали можливість споживати додатковий корм у вигляді зеленої маси.

Водночас, відмічаючи загалом позитивний вплив використання пасовищ, G. Arnott та співавт. [29] вказують, що в окремих випадках у корів, які знаходяться на пасовищах, відмічають погіршення фізіологічних показників через більш виражений негативний енергетичний баланс. Також корови на пасовищах можуть потребувати захисту від несприятливих кліматичних умов.

G.L. Charlton та співавт. [30] вивчали зміни активності використання пасовищ за винесення кормового столу з приміщення на зовнішні вигульні майданчики. Встановлено, що переваженні корів щодо використання пасовища не залежали від місця розташування кормового столу.

Отже, забезпечення вільного доступу до вигульних майданчиків і пасовищ сприяє більш повному вираженню природної поведінки молочних корів. Корови надають перевагу перебуванню за межами приміщень переважно в нічний період часу. Відкриті пасовища є більш привабливими для корів ніж вигульні ділянки з піском чи солом'яним покриттям. Необхідність в просторовому забезпеченні корів потребує подальшого вивчення й належного етологічного та економічного обґрунтування.

Правильна організація годівлі є головним чинником забезпечення здоров'я корів та високої молочної продуктивності. Часто ефективними засобами моніторингу раціонів та схем згодовування кормів є показники поведінки корів. Також чинник годівлі можна використовувати як модеруючу основу для узгодження поведінки тварин і технологічних процесів на сучасних молочних фермах.

За роботизованого доїння суттєвою проблемою є нерівномірний розподіл частоти відвідування доїльного комплексу упродовж доби. Зокрема, корови виявляють значно мен-

ше бажання доїтися протягом нічного періоду. А.А. John та співавт. [31] вивчали можливість корегування поведінки корів за допомогою тимчасових варіацій якості, кількості та часу згодовування кормів. Встановлено, що за маніпуляції такими параметрами годівлі можливо збільшити кормову активність корів у темну пору доби і відповідно покращити відвідуваність коровами роботів-доярів у цей період.

Необхідність згодовування коровам великої кількості кормів часто змушує використовувати їх у подрібненому вигляді. Це може негативно впливати на фізіологічні процеси, які забезпечують травлення. Зокрема, можуть різко зменшуватися тривалість прийому корму та кількість і тривалість жуйних періодів. N. Naderi та співавт. [32] вивчали можливість вирішення цієї проблеми через модифікацію складу раціонів. Встановлено, що часткова заміна кукурудзяного силосу на жом у раціонах корів приводить до збільшення тривалості прийому корму та жуйки протягом доби. Автори пояснюють такі зміни зменшенням сортування та збільшенням кількості спожитих грубих кормів.

Важливим чинником забезпечення кормової поведінки корів є належне обладнання та використання кормового столу. Зокрема, T.J. DeVries [33] зазначає, що найбільш важливим параметром є достатній фронт годівлі корів, який дозволяє всім тваринам приймати корм одночасно без вираженої конкуренції. Також корм має бути легкодоступним, а обмежуючі рейки не спричиняти травмування тварин.

Метою досліджень T.J. DeVries та M.A. vonKeyserlingk [34] було вивчити вплив збільшеного фронту годівлі на частоту агресивної поведінки під час годівлі корів. Також автори визначали як встановлення роздільних перегородок між суміжними коровами на кормовому столі сприятиме зменшенню агресивних відсторонень від годівниці, особливо субординатних корів. Встановлено, що розширення фронту годівлі для однієї корови з 0,64 до 0,92 м значно зменшує кількість агресивних відсторонень корів від кормового столу. Монтаж індивідуальних роздільних перегородок на кормовому столі посилював цей ефект. Зменшення кількості агресивних відсторонень було особливо вираженим для корів, які знаходились на нижніх рівнях домінантності.

Згідно з даними F.C. Rioja-Lang та співавт. [35], допустимий рівень агресивних відсторонень від кормового столу субординатних корів можна досягти за фронту годівлі, щонайменше, 0,6 м на одну корову. Автори наголошують, що навіть за таких умов слабші корови часто

готові уникати доступу до хорошої якості корму, щоб не мати контакту з домінантними особинами.

Отже, кормова поведінка корів є важливим чинником забезпечення здоров'я корів та високої молочної продуктивності. Вона визначається параметрами доступу корів до кормів і кормового столу, якістю, кількістю та алгоритмом згодовування кормової маси. Годівля корів має бути організована у такий спосіб, щоб забезпечити постійний вільний доступ тварин до кормового столу за наявності якісних кормів.

Материнська поведінка корів є важливою складовою їх репродуктивної здатності. В умовах сучасних молочних ферм її актуальність визначається не скільки впливом на виживаність потомства, стільки можливістю її використання для моніторингу умов утримання й годівлі тварин в сухостійний та післяродовий періоди.

Порушення перебігу родів у корів можна оцінювати як показник адекватності умов їх утримання та годівлі. K.C. Creutzinger та співавт. [36] звернули увагу на те, що в природних умовах корови перед родами усамітнюються в тихих і безпечних місцях. Відсутність такої можливості у корів в умовах ферм може негативно впливати на перебіг родів та материнську поведінку. Для підтвердження цієї гіпотези дослідники в умовах ферми розділили станки для родів непрозорими шторами. У такий спосіб корови могли почуватися відносно усамітненими. Отримані результати дослідження підтвердили, що створення усамітненого середовища для корів в умовах промислових ферм, разом із наданням додаткового простору, забезпечує більш сприятливі умови для перебігу родів, зокрема зменшує їх тривалість. Припущення, що корови під час отелення можуть потребувати найвищий рівень ізоляції і завдяки цьому рід мають відбуватися більш швидко і спокійно також перевіряли M.V. Rørvang та співавт. [37]. При цьому залежності між ступенем ізоляції та особливостями перебігу родів виявлено не було. Однак встановлено, що корови з тривалим перебігом родів були більш схильними вибирати найбільш ізольовані станки для отелення.

Водночас після родів корови в природних умовах більш схильні соціалізуватися. Реакція на ізоляцію в післяродовий період може залежати від віку та попереднього досвіду тварини. Зокрема, K.A. Mazer та співавт. [38] встановили вищий рівень кортизолу в крові в утримуваних окремо нетелей після отелення порівняно з коровами старшого віку після других і більше родів.

Інші автори [39] наголошують на важливості забезпечення корів материнськими стійлами. Головними індикаторами адекватності таких стійл можуть бути параметри материнської поведінки корів.

Мотивацію корів мати доступ до своїх телят вивчали M.L. Wenker та співавт. [40]. З цією метою корів відразу після отелення розділили на три групи. У корів першої групи телят забирали відразу після отелення, у корів другої і третьої груп – через 1–2 доби. Телята корів третьої, на відміну від телят корів другої групи, могли вільно вживати молоко природним способом – смоктати соски вимені матері. Мотивацію корів кожної групи отримати доступ до свого теляти визначали один раз на добу протягом кількох днів після їх розлучення. Рівень мотивації визначали вагою воріт, які мала підняти головою корова щоб воз'єднатися зі своїм телям. Було встановлено найвищий рівень мотивації у корів третьої групи. За доступ до свого теляти вони в середньому піднімали ворота вагою  $45,8 \pm 7,8$  кг, порівняно з коровами першої ( $21,6 \pm 6,7$  кг) та другої ( $24,3 \pm 4,5$  кг) груп.

Преференції корів щодо вибору місця отелення (приміщення, пасовище, обмежений природний вигул) вивчали E.M. Edwards та співавт. [41]. В результаті проведених досліджень не було встановлено вираженої переваги корів щодо вибору певної локації для отелення із трьох запропонованих. Зокрема, 39,0 % корів народжували в приміщенні, 26,0 – на відкритому пасовищі і 35,0 % – на вигульових майданчиках з природним покриттям.

Метою роботи R.A. Black та P.D. Krawczel [42] було оцінити вплив доступу до пасовища на перебіг родів у корів. Автори аналізували поведінку корів за 7 днів до і після отелення. Встановлено, що рівень кортизолу не відрізнявся у корів, які мали і не мали доступ до пасовища. У тварин обох груп його рівень був найвищим у період отелення. Перед отеленням, корови без доступу до пасовища не так часто лягали і загалом відпочивали лежачи менше часу ніж корови, які мали доступ до пасовища. За результатами проведених досліджень автори зробили висновок, що більш глибоке розуміння змін параметрів поведінки корів перед отеленням дозволить прогнозувати перебіг родів у корів. Також ці дослідники вважають, що через корегування рухової активності потенційно можна покращувати параметри поведінки корів перед отеленням.

Особливості рухової активності та параметрів поведінки у корів перед отеленням вивчали N.B. Duncan та A.M. Meyer [43]. Встанов-

лено, що кількість періодів відпочинку лежачи більш ніж подвоюється протягом останньої доби перед отеленням ( $P < 0,001$ ). На такий стан не впливали ні зовнішні умови ( $P = 0,57$ ), ні вік корів ( $P \geq 0,29$ ).

Отже, материнська поведінка корів є важливим індикатором, який дозволяє оцінити стан та умови утримання корів до, під час та після отелення. Зміни поведінки корів в період перед отеленням можуть мати прогностичне значення. Проведення подальших досліджень в цьому напрямку може мати важливе практичне і наукове значення.

**Обговорення.** Аналіз літератури свідчить про те, що за останні роки значна кількість наукових досліджень присвячена вивченню поведінки корів за різних умов утримання та годівлі. Зокрема встановлено, що зміни поведінки корів є наслідком умов утримання та годівлі. Можливості використання параметрів поведінки корів для оцінки їх фізіологічного, клінічного та репродуктивного статусу також досить широко вивчаються [44]. Зокрема, V. Röttgen та співавт. [45] досліджували можливість використання інтенсивності вокалізації як індикатора прояву статевої охоти у нетелей голштинської породи. Отримані результати вказують на високий потенціал використання голосового індикатора в автоматизованих системах виявлення охоти у молочних корів. Водночас, автори наголошують на необхідності проведення подальших досліджень, які б забезпечили розробку алгоритмів детекції та інтерпретації голосових сигналів у великої рогатої худоби.

В природних умовах жуйні тварини можуть завжди порівняно легко знайти об'єкти, тертя об які дозволяє їм вгамовувати свербіж, звільнитися від ектопаразитів, доглядати за шкірою тощо. Це залишається важливою потребою і для корів, які знаходяться на тваринницьких фермах. E. McConnachie та співавт. [46] встановили наявність вираженої мотивації у корів використовувати автоматизовані механічні щітки для догляду за шкірою (грумінгу).

Під час вигулу та на пасовищах корови зберігають певну соціальну дистанцію, яка залежить від віку, статі, фізіологічного стану, домінантності, кліматичних умов та багатьох інших чинників. За утримання в приміщеннях важливе значення в регуляції цього аспекту поведінки має щільність утримання корів. F.X. Wang та співавт. [47] вивчали зміни поведінки корів під час їх утримання за різних параметрів щільності: низька щільність (82 % – 82 корови на кожні 100 лежаків та кормових місць і відповідно 100 і 130 %). Встановлено, що за низької

щільності поведінка корів значимо наближалася до природної, особливо щодо часу відпочинку, тривалості жуйки та годівлі. Водночас параметри поведінки корів за 100 і 130-відсоткової щільності вірогідно не відрізнялися.

Отже, поведінка тварин на сучасних промислових фермах є результатом комплексної взаємодії чинників зовнішнього середовища (температура, вологість, звук, світло, інші природні виклики), технології виробництва (умови утримання, годівлі, експлуатації тощо) та індивідуальних характеристик тварини (темперамент, домінантність, фізіологічний стан, вік, стать та ін.). У зв'язку з цим параметри поведінки можна використовувати як для оцінки так і оптимізації більшості названих чинників. І навпаки, через спрямовані координовані зміни навколишнього середовища чи тварини можна змінювати її поведінку або поведінкову здатність до адаптації. Зокрема, L. Canario та співавт. [48] звертають увагу на високий потенціал генетичних методів у покращенні поведінки тварин, а N.G. Anderson [49] та N.B. Cook і K.V. Nordlund [50] пропагують стратегію «будівництва з погляду корови» та «розуміння поведінкових потреб корови», згідно з якою основою будівельних проєктів мають бути корова, її поведінка, комфорт, здоров'я, безпека і продуктивність.

**Висновки.** Врахування особливостей поведінки корів, зокрема в умовах сучасного інтенсивного тваринництва, є важливим чинником забезпечення здоров'я стада і отримання якісної тваринницької продукції. Важливо забезпечувати доступ корів до належно обладнаних місць відпочинку. Використання належної якості поверхні лежаків, проходів та інших місць перебування корів сприяє відновленню природних форм поведінки, покращує фізіологічні показники життєдіяльності тварин та їх продуктивні характеристики. Забезпечення вільного доступу до вигульних майданчиків і пасовищ сприяє більш повному вираженню природної поведінки молочних корів. Поведінка корів є важливим індикатором, який дозволяє оцінити стан та умови утримання корів до, під час та після отелення. Зміни поведінки корів в період перед отеленням можуть мати прогностичне значення. Врахування поведінки корів є важливим чинником забезпечення здоров'я корів та високої молочної продуктивності.

Потреба в просторовому забезпеченні корів потребує подальшого вивчення й належного етологічного та економічного обґрунтування.

**Відомості про дотримання біоетичних норм.** Використання тварин під час планування та проведення етологічних досліджень було

схвалено Етичним комітетом у БНАУ з питань поводження з тваринами, що використовуються в наукових експериментах та освітньому процесі на засіданні від 1 жовтня 2020 року, протокол № 9, висновок № 16/20.

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Invited review: Learning from the future-A vision for dairy farms and cows in 2067/J.H. Britt et al. *J Dairy Sci.* 2018.101(5). P. 3722–3741. DOI:10.3168/jds.2017-14025.
2. Lidfors L., Berg C., Algers B. Integration of natural behavior in housing systems. *Ambio.* 2005. 34(4-5). P. 325–30. DOI:10.1639/0044-7447(2005)034[0325:ionbih]2.0.co;2.
3. Mee J.F., Boyle L.A. Assessing whether dairy cow welfare is "better" in pasture-based than in confinement-based management systems. *N Z Vet J.* 2020. 68(3). P. 168–177. DOI:10.1080/00480169.2020.1721034
4. Beaver A., Ritter C., von Keyserlingk M.A.G. The Dairy Cattle Housing Dilemma: Natural Behavior Versus Animal Care. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2019. 35(1). P. 11–27. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.11.001.
5. Polsky L., von Keyserlingk M.A.G. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *J Dairy Sci.* 2017. 100(11). P. 8645–8657. DOI:10.3168/jds.2017-12651. Epub 2017 Sep 13.
6. Bewley J.M., Robertson L.M., Eckelkamp E.A. A 100-Year Review: Lactating dairy cattle housing management. *J Dairy Sci.* 2017. 100(12). P.10418–10431. DOI:10.3168/jds.2017-13251.
7. Beaver A., Proudfoot K.L., von Keyserlingk M.A.G. Symposium review: Considerations for the future of dairy cattle housing: An animal welfare perspective. *J Dairy Sci.* 2020. 103(6). P. 5746–5758. DOI:10.3168/jds.2019-17804.
8. Invited review: Lying time and the welfare of dairy cows/C.B. Tucker et al. *J Dairy Sci.* 2021. 04(1). P. 20–46. DOI:10.3168/jds.2019-18074.
9. Cook N.B. Optimizing Resting Behavior in Lactating Dairy Cows Through Freestall Design. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2019. 35(1). P. 93–109. DOI: 10.1016/j.cvfa.2018.10.005.
10. Krawczel P.D., Lee A.R. Lying Time and Its Importance to the Dairy Cow: Impact of Stocking Density and Time Budget Stresses. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2019. 35(1). P. 47–60. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.11.002.
11. Abade C.C., Fregonesi J.A., von Keyserlingk M.A., Weary D.M. Dairy cow preference and usage of an alternative freestall design. *J Dairy Sci.* 2015. 98(2). P. 960–5. DOI:10.3168/jds.2014-8527.
12. Campler M.R., Munksgaard L., Jensen M.B. The effect of transition cow housing on lying and feeding behavior in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 2019. 102(8). P. 7398–7407. DOI:10.3168/jds.2019-16532.
13. Ito K., Weary D.M., von Keyserlingk M.A. Lying behavior: assessing within- and between-herd vari-

- ation in free-stall-housed dairy cows. *J Dairy Sci.* 2009. 92(9). P. 4412–20. DOI:10.3168/jds.2009-2235.
14. Sahu B.K., Parganiha A., Pati A.K. Spatio-temporal variability in activity patterns of urban street cattle as function of environmental factors. *Chronobiol Int.* 2019. 36(10). P.1362–1372. DOI:10.1080/07420528.2019.1644345.
15. Wolfe T., Vasseur E., DeVries T.J., Bergeron R. Effects of alternative deep bedding options on dairy cow preference, lying behavior, cleanliness, and teat end contamination. *J Dairy Sci.* 2018. 101(1). P. 530–536. DOI:10.3168/jds.2016-12358.
16. Shepley E., Obinu G., Bruneau T., Vasseur E. Housing tiestall dairy cows in deep-bedded pens during an 8-week dry period: Effects on lying time, lying postures, and rising and lying-down behaviors. *J Dairy Sci.* 2019. 102(7). P. 6508–6517. DOI: 10.3168/jds.2018-15859.
17. Making tiestalls more comfortable: III. Providing additional lateral space to improve the resting capacity and comfort of dairy cows/V. Boyer et al. *J Dairy Sci.* 2021. 04(3). P. 3327–3338. DOI:10.3168/jds.2019-17667.
18. Effects of 3 surface types on dairy cattle behavior, preference, and hygiene/K.E. Schütz et al. *J Dairy Sci.* 2019. 102(2). P. 1530–1541. DOI:10.3168/jds.2018-14792.
19. What happens with cow behavior when replacing concrete slatted floor by rubber coating: a case study/S. Platz et al. *J Dairy Sci.* 2008. 91(3). P. 999–1004. DOI:10.3168/jds.2007-0584.
20. The amount of shade influences the behavior and physiology of dairy cattle/K.E. Schütz et al. *J Dairy Sci.* 2010. 93(1). P. 125–33. DOI:10.3168/jds.2009-2416.
21. Palacio S., Bergeron R., Lachance S., Vasseur E. The effects of providing portable shade at pasture on dairy cow behavior and physiology. *J Dairy Sci.* 2015. 98(9). P. 6085–93. DOI:10.3168/jds.2014-8932.
22. The effect of pasture quantity temporal variation on milking robot utilization/A.J. John et al. *J Dairy Sci.* 2019. 102(3). P. 2551–2559. DOI:10.3168/jds.2018-14801.
23. Use of Predicted Behavior from Accelerometer Data Combined with GPS Data to Explore the Relationship between Dairy Cow Behavior and Pasture Characteristics/L. Riaboff et al. *Sensors (Basel)*. 2020. 20(17). 4741 p. DOI:10.3390/s20174741.
24. Spörndly E., Wredle E. Automatic milking and grazing--effects of location of drinking water on water intake, milk yield, and cow behavior. *J Dairy Sci.* 2005. 88(5). P.1711–22. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(05)72844-7.
25. Dairy cow preference for access to an outdoor pack in summer and winter/A.M.C. Smid et al. *J Dairy Sci.* 2019. 102(2). P. 1551–1558. DOI:10.3168/jds.2018-15007.
26. Smid A.M.C., Weary D.M., von Keyserlingk M.A.G. Effect of outdoor open pack space allowance on the behavior of freestall-housed dairy cows. *J Dairy Sci.* 2020. 103(4). P. 3422–3430. DOI:10.3168/jds.2019-17066.
27. Smid A.C., Weary D.M., Costa J.H.C., von Keyserlingk M.A.G. Dairy cow preference for different types of outdoor access. *J Dairy Sci.* 2018.101(2). P. 1448–1455. DOI:10.3168/jds.2017-13294.
28. Preference and behavior of lactating dairy cows given free access to pasture at two herbage masses and two distances/P.R. Motupalli et al. *J Anim Sci.* 2014. 92(11). P. 5175–84. DOI:10.2527/jas.2014-8046.
29. Arnott G., Ferris C.P., O'Connell N.E. Review: welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal.* 2017. 11(2). P. 261–273. DOI:10.1017/S1751731116001336.
30. Charlton G.L., Rutter S.M., East M., Sinclair L.A. Effects of providing total mixed rations indoors and on pasture on the behavior of lactating dairy cattle and their preference to be indoors or on pasture. *J Dairy Sci.* 2011. 94(8). P. 3875–84. DOI:10.3168/jds.2011-4172.
31. The effect of temporal variation in feed quality and quantity on the diurnal feeding behaviour of dairy cows/A.J. John et al. *Animal.* 2019. 13(11). P. 2519–2526. DOI:10.1017/S1751731119001198.
32. Substitution of corn silage with shredded beet pulp affects sorting behaviour and chewing activity of dairy cows/N. Naderi et al. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2019. 103(5). P. 1351–1364. DOI:10.1111/jpn.13160.
33. DeVries T.J. Feeding Behavior, Feed Space, and Bunk Design and Management for Adult Dairy Cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2019. 35(1). P. 61–76. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.10.003.
34. DeVries T.J., von Keyserlingk M.A. Feed stalls affect the social and feeding behavior of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2006. 89(9). P. 3522–31. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(06)72392-X.
35. Dairy cow feeding space requirements assessed in a Y-maze choice test/F.C. Rioja-Lang et al. *J Dairy Sci.* 2012. 95(7). P. 3954–60. DOI:10.3168/jds.2011-4962.
36. The effect of stocking density and a blind on the behavior of Holstein dairy cows in group maternity pens. Part II: Labor length, lying behavior, and social behavior/K.C. Creutzinger et al. *J Dairy Sci.* 2021. 104(6). P. 7122–7134. DOI:10.3168/jds.2020-19745.
37. Rørvang M.V., Herskin M.S., Jensen M.B. Dairy cows with prolonged calving seek additional isolation. *J Dairy Sci.* 2017. 100(4). P. 2967–2975. DOI:10.3168/jds.2016-11989.
38. Mazer K.A., Knickerbocker P.L., Kutina K.L., Huzzey J.M. Changes in behavior and fecal cortisol metabolites when dairy cattle are regrouped in pairs versus individually after calving. *J Dairy Sci.* 2020. 103(5). P. 4681–4690. DOI:10.3168/jds.2019-17593.
39. Proudfoot K.L. Maternal Behavior and Design of the Maternity Pen. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2019. 35(1). P. 111–124. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.10.007.
40. Effect of cow-calf contact on cow motivation to reunite with their calf/M.L. Wenker et al. *Sci Rep.* 2020. 10(1). 14233 p. DOI:10.1038/s41598-020-70927-w.
41. Calving location preference and changes in lying and exploratory behavior of preparturient dairy

cattle with access to pasture/E.M. Edwards et al. *J Dairy Sci.* 2020.103(6). P. 5455–5465. DOI:10.3168/jds.2019-17218.

42. Black R.A., Krawczel P.D. Effect of prepartum exercise on lying behavior, labor length, and cortisol concentrations. *J Dairy Sci.* 2019. 102(12). P. 11250–11259. DOI:10.3168/jds.2018-16029.

43. Duncan N.B., Meyer A.M. Locomotion behavior changes in peripartum beef cows and heifers. *J Anim Sci.* 2019. 97(2). P. 509–520. DOI:10.1093/jas/sky448.

44. Cook N.B. Symposium review: The impact of management and facilities on cow culling rates. *J Dairy Sci.* 2020.103(4). P. 3846–3855. DOI:10.3168/jds.2019-17140.

45. Vocalization as an indicator of estrus climax in Holstein heifers during natural estrus and superovulation/V. Röttgen et al. *J Dairy Sci.* 2018.101(3). P. 2383–2394. DOI:10.3168/jds.2017-13412.

46. Cows are highly motivated to access a grooming substrate/E. Mc Connachie et al. *Biol Lett.* 2018. 14(8):20180303. DOI:10.1098/rsbl.2018.0303.

47. Effects of stocking density on behavior, productivity, and comfort indices of lactating dairy cows/F.X. Wang et al. *J Dairy Sci.* 2016. 99(5). P. 3709–3717. DOI: 10.3168/jds.2015-10098.

48. Canario L., Mignon-Grasteau S., Dupont-Nivet M., Phocas F. Genetics of behavioural adaptation of livestock to farming conditions. *Animal.* 2013. 7(3). P. 357–77. DOI:10.1017/S1751731112001978.

49. Anderson N.G. Introduction: Building from the Cow Up. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2019. 35(1). P. 1–9. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.10.001.

50. Cook N.B., Nordlund K.V. Behavioral needs of the transition cow and considerations for special needs facility design. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2004. 20(3). P. 495–520. DOI:10.1016/j.cvfa.2004.06.011.

## REFERENCES

1. Britt, J.H., Cushman, R.A., Dechow, C.D., Dobson, H., Humblot, P., Hutjens, M.F., Jones, G.A., Ruegg, P.S., Sheldon, I.M., Stevenson, J.S. (2018). Invited review: Learning from the future—A vision for dairy farms and cows in 2067. *J Dairy Sci.* 101(5), pp. 3722–3741. DOI:10.3168/jds.2017-14025.

2. Lidfors, L., Berg, C., Algers, B. (2005). Integration of natural behavior in housing systems. *Ambio.* 34(4-5), pp. 325–30. DOI:10.1639/0044-7447(2005)034 [0325:ionbih]2.0.co;2.

3. Mee, J.F., Boyle, L.A. (2020). Assessing whether dairy cow welfare is "better" in pasture-based than in confinement-based management systems. *N Z Vet J.* 68(3), pp. 168–177. DOI:10.1080/00480169.2020.1721034

4. Beaver, A., Ritter, C., von Keyserlingk, M.A.G. (2019). The Dairy Cattle Housing Dilemma: Natural Behavior Versus Animal Care. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 35(1), pp. 11–27. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.11.001.

5. Polsky, L., von Keyserlingk, M.A.G. (2017). Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare.

*J Dairy Sci.* 100(11), pp. 8645–8657. DOI:10.3168/jds.2017-12651. Epub 2017 Sep 13.

6. Bewley, J.M., Robertson, L.M., Eckelkamp, E.A. (2017). A 100-Year Review: Lactating dairy cattle housing management. *J Dairy Sci.* 100(12). pp. 10418–10431. DOI:10.3168/jds.2017-13251.

7. Beaver, A., Proudfoot, K.L., von Keyserlingk, M.A.G. (2020). Symposium review: Considerations for the future of dairy cattle housing: An animal welfare perspective. *J Dairy Sci.* 103(6). pp. 5746–5758. DOI:10.3168/jds.2019-17804.

8. Tucker, C.B., Jensen, M.B., de Passillé, A.M., Hänninen, L., Rushen, J. Invited review: Lying time and the welfare of dairy cows. *J Dairy Sci.* 2021. 104(1), pp. 20–46. DOI:10.3168/jds.2019-18074.

9. Cook, N.B. (2019). Optimizing Resting Behavior in Lactating Dairy Cows Through Freestall Design. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 35(1), pp. 93–109. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.10.005.

10. Krawczel P.D., Lee A.R. (2019). Lying Time and Its Importance to the Dairy Cow: Impact of Stocking Density and Time Budget Stresses. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 35(1), pp. 47–60. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.11.002.

11. Abade, C.C., Fregonesi, J.A., von Keyserlingk, M.A., Weary, D.M. (2015). Dairy cow preference and usage of an alternative freestall design. *J Dairy Sci.* 98(2), pp. 960–5. DOI:10.3168/jds.2014-8527.

12. Campler, M.R., Munksgaard, L., Jensen, M.B. (2019). The effect of transition cow housing on lying and feeding behavior in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 102(8), pp. 7398–7407. DOI:10.3168/jds.2019-16532.

13. Ito, K., Weary, D.M., von Keyserlingk, M.A. (2009). Lying behavior: assessing within- and between-herd variation in free-stall-housed dairy cows. *J Dairy Sci.* 92(9), pp. 4412–20. DOI:10.3168/jds.2009-2235.

14. Sahu, B.K., Parganiha, A., Pati, A.K. (2019). Spatiotemporal variability in activity patterns of urban street cattle as function of environmental factors. *Chronobiol Int.* 36(10), pp. 1362–1372. DOI:10.1080/07420528.2019.1644345.

15. Wolfe, T., Vasseur, E., DeVries, T.J., Bergeron, R. (2018). Effects of alternative deep bedding options on dairy cow preference, lying behavior, cleanliness, and teat end contamination. *J Dairy Sci.* 101(1), pp. 530–536. DOI:10.3168/jds.2016-12358.

16. Shepley, E., Obinu, G., Bruneau, T., Vasseur, E. (2019). Housing tiestall dairy cows in deep-bedded pens during an 8-week dry period: Effects on lying time, lying postures, and rising and lying-down behaviors. *J Dairy Sci.* 102(7), pp. 6508–6517. DOI:10.3168/jds.2018-15859.

17. Boyer, V., Edwards, E., Guiso, M.F., Adam, S., Krawczel, P., de Passillé, A.M., Vasseur, E. (2021). Making tiestalls more comfortable: III. Providing additional lateral space to improve the resting capacity and comfort of dairy cows. *J Dairy Sci.* 104(3). pp. 3327–3338. DOI:10.3168/jds.2019-17667.

18. Schütz, K.E., Cave, V.M., Cox, N.R., Huddart, F.J., Tucker, C.B. (2019). Effects of 3 surface types on

- dairy cattle behavior, preference, and hygiene. *J Dairy Sci.* 102(2), pp. 1530–1541. DOI:10.3168/jds.2018-14792.
19. Platz, S., Ahrens, F., Bendel, J., Meyer, H.H., Erhard, M.H. (2008). What happens with cow behavior when replacing concrete slatted floor by rubber coating: a case study. *J Dairy Sci.* 91(3), pp. 999–1004. DOI:10.3168/jds.2007-0584.
20. Schütz, K.E., Rogers, A.R., Poulouin, Y.A., Cox, N.R., Tucker, C.B. (2010). The amount of shade influences the behavior and physiology of dairy cattle. *J Dairy Sci.* 93(1), pp. 125–33. DOI:10.3168/jds.2009-2416.
21. Palacio, S., Bergeron, R., Lachance, S., Vas-seur, E. (2015). The effects of providing portable shade at pasture on dairy cow behavior and physiology. *J Dairy Sci.* 98(9), pp. 6085–93. DOI:10.3168/jds.2014-8932.
22. John, A.J., Cullen, B.R., Oluboyede, K., Freeman, M.J., Kerrisk, K.L., Garcia, S.C., Clark, C.E.F. (2019). The effect of pasture quantity temporal variation on milking robot utilization. *J Dairy Sci.* 102(3), pp. 2551–2559. DOI:10.3168/jds.2018-14801.
23. Riaboff, L., Couvreur, S., Madouasse, A., Roig-Pons, M., Aubin, S., Massabie, P., Chauvin, A., Bédère, N., Plantier, G. (2020). Use of Predicted Behavior from Accelerometer Data Combined with GPS Data to Explore the Relationship between Dairy Cow Behavior and Pasture Characteristics. *Sensors (Basel)*. 20(17), 4741 p. DOI:10.3390/s20174741.
24. Spörndly, E., Wredle, E. (2005). Automatic milking and grazing--effects of location of drinking water on water intake, milk yield, and cow behavior. *J Dairy Sci.* 88(5), pp. 1711–22. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(05)72844-7.
25. Smid, A.M.C., Burgers, E.E.A., Weary, D.M., Bokkers, E.A.M., von Keyserlingk, M.A.G. (2019). Dairy cow preference for access to an outdoor pack in summer and winter. *J Dairy Sci.* 102(2), pp. 1551–1558. DOI:10.3168/jds.2018-15007.
26. Smid, A.M.C., Weary, D.M., von Keyserlingk, M.A.G. (2020). Effect of outdoor open pack space allowance on the behavior of freestall-housed dairy cows. *J Dairy Sci.* 103(4), pp. 3422–3430. DOI:10.3168/jds.2019-17066.
27. Smid, A.C., Weary, D.M., Costa, J.H.C., von Keyserlingk, M.A.G. (2018). Dairy cow preference for different types of outdoor access. *J Dairy Sci.* 101(2), pp. 1448–1455. DOI:10.3168/jds.2017-13294.
28. Motupalli, P.R., Sinclair, L.A., Charlton, G.L., Bleach, E.C., Rutter, S.M. (2014). Preference and behavior of lactating dairy cows given free access to pasture at two herbage masses and two distances. *J Anim Sci.* 92(11), pp. 5175–84. DOI: 10.2527/jas.2014-8046.
29. Arnott, G., Ferris, C.P., O'Connell, N.E. (2017). Review: welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal*. 11(2), pp. 261–273. DOI:10.1017/S1751731116001336.
30. Charlton, G.L., Rutter, S.M., East, M., Sinclair, L.A. (2011). Effects of providing total mixed rations indoors and on pasture on the behavior of lactating dairy cattle and their preference to be indoors or on pasture. *J Dairy Sci.* 94(8), pp. 3875–84. DOI:10.3168/jds.2011-4172.
31. John, A.J., Garcia, S.C., Kerrisk, K.L., Freeman, M.J., Islam, M.R., Clark, C.E.F. (2019). The effect of temporal variation in feed quality and quantity on the diurnal feeding behaviour of dairy cows. *Animal*. 13(11), pp. 2519–2526. DOI:10.1017/S1751731119001198.
32. Naderi, N., Ghorbani, G.R., Sadeghi-Sefidmazgi, A., Kargar, S., Hosseini, Ghaffari, M. (2019). Substitution of corn silage with shredded beet pulp affects sorting behaviour and chewing activity of dairy cows. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 103(5), pp. 1351–1364. DOI:10.1111/jpn.13160.
33. DeVries, T.J. (2019). Feeding Behavior, Feed Space, and Bunk Design and Management for Adult Dairy Cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 35(1), pp. 61–76. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.10.003.
34. DeVries, T.J., von Keyserlingk, M.A. (2006). Feed stalls affect the social and feeding behavior of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 89(9), pp. 3522–31. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72392-X.
35. Rioja-Lang, F.C., Roberts, D.J., Healy, S.D., Lawrence, A.B., Haskell, M.J. (2012). Dairy cow feeding space requirements assessed in a Y-maze choice test. *J Dairy Sci.* 95(7), pp. 3954–60. DOI:10.3168/jds.2011-4962.
36. Creutzinger, K.C., Dann, H.M., Krawczel, P.D., Moraes, L.E., Pairis-Garcia, M.D., Proudfoot, K.L. (2021). The effect of stocking density and a blind on the behavior of Holstein dairy cows in group maternity pens. Part II: Labor length, lying behavior, and social behavior. *J Dairy Sci.* 104(6), pp. 7122–7134. DOI:10.3168/jds.2020-19745.
37. Rørvang, M.V., Herskin, M.S., Jensen, M.B. (2017). Dairy cows with prolonged calving seek additional isolation. *J Dairy Sci.* 100(4), pp. 2967–2975. DOI: 10.3168/jds.2016-11989.
38. Mazer, K.A., Knickerbocker, P.L., Kutina, K.L., Huzzey, J.M. (2020). Changes in behavior and fecal cortisol metabolites when dairy cattle are regrouped in pairs versus individually after calving. *J Dairy Sci.* 103(5), pp. 4681–4690. DOI:10.3168/jds.2019-17593.
39. Proudfoot, K.L. (2019). Maternal Behavior and Design of the Maternity Pen. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 35(1), pp. 111–124. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.10.007.
40. Wenker, M.L., Bokkers, E.A.M., Lecorps, B., von Keyserlingk, M.A.G., van Reenen, C.G., Verwer, C.M., Weary, D.M. (2020). Effect of cow-calf contact on cow motivation to reunite with their calf. *Sci Rep.* 10(1), 14233 p. DOI:10.1038/s41598-020-70927-w.
41. Edwards, E.M., Krawczel, P.D., Dann, H.M., Schneider, L.G., Whitlock, B., Proudfoot, K.L. (2020). Calving location preference and changes in lying and exploratory behavior of preparturient dairy cattle with access to pasture. *J Dairy Sci.* 103(6), pp. 5455–5465. DOI:10.3168/jds.2019-17218.
42. Black, R.A., Krawczel, P.D. (2019). Effect of prepartum exercise on lying behavior, labor length, and cortisol concentrations. *J Dairy Sci.* 102(12), pp. 11250–11259. DOI:10.3168/jds.2018-16029.

43. Duncan, N.B., Meyer, A.M. (2019). Locomotion behavior changes in peripartum beef cows and heifers. *J Anim Sci.* 97(2), pp. 509–520. DOI:10.1093/jas/sky448.

44. Cook, N.B. (2020). Symposium review: The impact of management and facilities on cow culling rates. *J Dairy Sci.* 103(4), pp. 3846–3855. DOI:10.3168/jds.2019-17140.

45. Röttgen, V., Becker, F., Tuchscherer, A., Wrenzycki, C., Düpjan, S., Schön, P.C., Puppe, B. (2018). Vocalization as an indicator of estrus climax in Holstein heifers during natural estrus and superovulation. *J Dairy Sci.* 101(3), pp. 2383–2394. DOI:10.3168/jds.2017-13412.

46. Mc Connachie, E., Smid, A.M.C., Thompson, A.J., Weary, D.M., Gaworski, M.A., von Keyserlingk, M.A.G. (2018). Cows are highly motivated to access a grooming substrate. *Biol Lett.* 14(8):20180303. DOI:10.1098/rsbl.2018.0303.

47. Wang, F.X., Shao, D.F., Li, S.L., Wang, Y.J., Azarfar, A., Cao, Z.J. (2016). Effects of stocking density on behavior, productivity, and comfort indices of lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 99(5), pp. 3709–3717. DOI:10.3168/jds.2015-10098.

48. Canario, L., Mignon-Grasteau, S., Dupont-Nivet, M., Phocas, F. (2013). Genetics of behavioural adaptation of livestock to farming conditions. *Animal.* 7(3), pp. 357–77. DOI: 0.1017/S1751731112001978.

49. Anderson, N.G. (2019). Introduction: Building from the Cow Up. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 35(1), pp. 1–9. DOI:10.1016/j.cvfa.2018.10.001.

50. Cook, N.B., Nordlund, K.V. (2004). Behavioral needs of the transition cow and considerations for special needs facility design. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 20(3), pp. 495–520. DOI:10.1016/j.cvfa.2004.06.011.

### Cows behavior under different physiological states and keeping methods

Emelyanenko A., Shmayun S., Nischemenko M., Poroshinska O., Stovbetska L., Koziy V.

Taking into account the peculiarities of the behavior of cows, in particular in the conditions of modern intensive animal husbandry, is an important factor in

ensuring the health of the herd and obtaining high-quality livestock products. Behavioral indicators can be effectively used to monitor animal feeding and housing conditions. The aim of the work was to get acquainted with the stereotype of behavior of cows in industrial conditions under different physiological conditions and methods of keeping. For this, a search, selection and analysis of publications was carried out according to the topic of the study. Web of Science Core Collection and PubMed scientometric databases were used to search for scientific articles.

It has been established that in the conditions of modern dairy farms, cows should be in a lying position for about half of the daily time. The soft and dry surface of the couches, their sufficient spatial parameters, ensuring adequate conditions of the external environment (temperature, humidity, wind speed, lighting, etc.) The quality of rest also depends on the social environment, physiological state, individual characteristics of cows, etc. Providing free access to walking areas and pastures contributes to a more complete expression of the natural behavior of dairy cows. Cows prefer to stay outside the premises mainly at night. Open pastures are more attractive to cows than walking areas with sand or straw.

Foraging behavior is an important factor in ensuring cow health and high milk productivity. It is determined by the parameters of cows' access to fodder and the fodder table, the quality, quantity and feeding algorithm of fodder mass. Feeding of cows should be organized in such a way as to ensure constant free access of animals to the feed table, constant satisfactory, without physical obstacles, availability of quality feed on the feed table. Maternal behavior of cows is an important indicator that allows you to assess the condition and conditions of keeping cows before, during and after calving.

Therefore, changes in the behavior of cows can have important diagnostic and prognostic value. Conducting further research in this direction is an urgent task of veterinary science and practice.

**Key words:** stereotype of behavior, cows, methods of maintenance, calves, exercise, diet, dairy farms.



Copyright: Ємельяненко А.А. 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.



#### ORCID iD:

Ємельяненко А.А.

<https://orcid.org/0000-0001-7889-4321>

Шмаюн С.С.

<https://orcid.org/0000-0001-6458-6336>

Ніщенко М.П.

<https://orcid.org/0000-0003-3172-4768>

Порошинська О.А.

<https://orcid.org/0000-0001-9882-1963>

Стовбецька Л.С.

<https://orcid.org/0000-0002-6672-5560>


Козій В.І.

<https://orcid.org/0000-0002-8221-6678>

## ФАРМАКОЛОГІЯ І ТОКСИКОЛОГІЯ

УДК 614.9:636.08

## Сучасні методи визначення залишкових кількостей пестицидів в продуктах бджільництва та за діагностики отруєнь бджіл

Омельчун Ю.А. , Кобиш А.І. *Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи* Омельчун Ю.А. E-mail: my\_answer@ukr.net

Омельчун Ю.А., Кобиш А.І. Сучасні методи визначення залишкових кількостей пестицидів в продуктах бджільництва та за діагностики отруєнь бджіл. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 101–110.

Omelchun Y., Kobish A. Modern methods for the determination of pesticide residues in beekeeping products and for the diagnostics of bee poisoning. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 101–110.

Рукопис отримано: 01.10.2022 р.

Прийнято: 14.10.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-101-110

Інтенсифікація сільськогосподарського виробництва пов'язана із застосуванням значної кількості пестицидів, що негативно впливає на довкілля та здоров'я людей, а харчові продукти, зокрема продукти бджільництва, відповідно потребують обов'язкового контролю за залишковими кількостями пестицидів.

Наведено порівняльний аналіз хроматографічних методів виявлення залишків пестицидів та обґрунтована необхідність застосування сучасних методів їх визначення у продуктах бджільництва і за діагностики отруєнь бджіл.

Хроматографічні методи дослідження цих показників у різних типах матриць є пріоритетними. Це ефективні методи аналізу, які широко вживані завдяки своїй універсальності та дозволяють аналізувати складні неорганічні й органічні сполуки у різних агрегатних станах.

Одними з найбільш поширених із сучасних методів визначення залишків пестицидів є газова і рідинна трьохквадрупольна тандемна хромато-мас-спектрометрія (ГХ та/або РХ-МС/МС). Метод ГХ-МС/МС забезпечує кількісне визначення аналітів на рівні, який на порядок вищий ніж, наприклад, метод газової одноквадрупольної мас-спектрометрії.

Сучасні методи газової та рідинної хроматографії в поєднанні з квадрупольно-часпролітним мас-спектрометричним детектуванням (LC/Q-TOF/MS або GC/Q-TOF/MS) також дозволяють проводити якісний і кількісний багатокомпонентний аналіз пестицидів у продуктах бджільництва.

ГХ та РХ системи в поєднанні з МС Orbitrap високої роздільної здатності (GC-HRMS(Q-Orbitrap)/LC-HRMS(Q-Orbitrap)) мають більш високу чутливість, що надає можливість визначати ультрамікрокількості, і є найбільш чутливим скринінговим методом для мультикомпонентного визначення залишків пестицидів.

Отже, новітні хроматографічні методи здатні забезпечити потреби аналітичних випробувальних та науково-дослідних лабораторій у галузі безпеки харчових продуктів, зокрема продуктів бджільництва.

**Ключові слова:** хроматографічні методи, тонкошарова хроматографія, газова хроматографія, рідинна хроматографія, хромато-мас-спектрометрія, мультикомпонентний аналіз, пестициди, мед бджолиний, загиблі бджоли.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Застосування пестицидів для контролювання комах, гризунів, бур'янів, збудників хвороб, а також як регуляторів росту рослин дає можливість збільшити врожайність і, відповідно, економічну ефективність аграрного виробництва. Водночас ці токсиканти здатні

спричиняти негативний вплив на довкілля, а також змінювати склад і властивості культурних рослин та харчових продуктів [1]. Слід пам'ятати, що навіть малі дози пестицидів можуть призводити до порушень здоров'я людей, тварин та комах [2–6]. Зокрема, досить часто фіксують випадки загибелі бджіл внаслідок

отруєнь інсектицидами [7, 8]. Необхідно враховувати також, що завдяки своїй біологічній активності продукти бджільництва стають все більш популярними. Саме тому необхідно ретельно контролювати вміст залишків пестицидів не лише у сільськогосподарських рослинах, які піддаються безпосередньому їх впливу, а також у продуктах бджільництва.

Залишкові кількості пестицидів суворо регламентуються законодавством усіх розвинених країн, що сприяє безпечному споживанню продуктів харчування. Із збільшенням кількості препаративних форм засобів захисту рослин, які застосовують в сільському господарстві, перелік досліджуваних пестицидів у продуктах також значно розширюється, а допустимі рівні знижуються. Зважаючи на це нормативно-правові вимоги щодо граничних меж виявлення цих аналітів для методів контролю постійно посилюються [9–11].

**Мета дослідження.** Провести аналіз, узагальнити та порівняти наявні наукові дослідження щодо методів виявлення залишків пестицидів у продуктах бджільництва та за діагностики отруєнь бджіл, які застосовують у сучасній лабораторній практиці.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проводили в лабораторії газової хроматографії науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Об'єктом дослідження були теоретичні та практичні наукові дані щодо застосовуваних методів виявлення залишків пестицидів у зразках загиблих бджіл та продуктах бджільництва.

У роботі використані наступні наукові методи досліджень: теоретичний пошук, аналіз і синтез, узагальнення та порівняльний аналіз даних щодо методів виявлення залишків пестицидів у продуктах бджільництва та зразках загиблих бджіл, викладених у лабораторних звітах та науковій літературі.

Для пошуку теоретичних даних використані науково-метричні бази та платформи (Web of Science, Scopus та ін.). Загалом проведено систематичний огляд більше 200 наукових першоджерел за напрямом досліджень за останні 10–30 років. Аналіз та оцінку наукових досліджень проводили згідно з правилами для систематичних оглядів літератури [12]. Опрацьовані такі типи публікацій як збірники наукових праць, монографії, статті у провідних наукових фахових журналах, враховуючи достовірний, оригінальний і науково обґрунтований зміст результатів дослідження та індексацію в науко-

метричних базах, а також вимоги Державних стандартів України та стандартів Європейського Союзу (ЕС) щодо методів виявлення залишків кількостей пестицидів.

#### **Результати дослідження та обговорення.**

Дослідження наявності залишків пестицидів у харчових продуктах, в межах контролю їх безпечності, заслуговує на особливу увагу, оскільки є складним аналітичним завданням лабораторної практики [13–16].

В Україні для виявлення пестицидів у продуктах бджільництва та за діагностики отруєнь бджіл застосовують такі методи як тонкошарова хроматографія (ТШХ), газова хроматографія (ГХ), рідинна хроматографія (РХ), газова та рідинна тандемна хромато-мас-спектрометрія (ГХ-, РХ-МС/МС).

Хроматографію використовують як для якісного, так і кількісного аналізу сумішей речовин. Це фізико-хімічний метод розділення та аналізу речовин, який ґрунтується на розподіленні компонентів аналітичної суміші між двома фазами, що не змішуються, одна з яких є рухомою, а інша – нерухомою (стаціонарною). Рухома фаза – газ (пара), рідина або флюїд (газ у надкритичному стані), які фільтруються через шар сорбенту. Нерухома фаза може бути тверда (сорбент), або рідка (адсорбована на твердий носій чи гель), нанесена як шар чи плівка, або ж упакована в колонку. Тому розрізняють хроматографічні системи планарні: паперова або тонкошарова хроматографія (ПХ і ТШХ) та колонкові: ГХ, РХ.

Розділення аналітичних речовин базується на адсорбції, розподілі, іонному обміні та їх комбінації, або на відмінностях у фізико-хімічних властивостях молекул. Обов'язковою умовою хроматографічного розділення є відмінність у рівноважному або кінетичному розподіленні компонентів суміші між фазами. Хроматографічне розділення речовин як у планарних системах, так і в колонкових, обумовлено перенесенням компонентів аналізованої проби рухомою фазою через шар нерухої фази з різними швидкостями відповідно до коефіцієнтів розподілу речовин. Останній визначають різним ступенем розчинності компонентів суміші у обох фазах, що забезпечує встановлення рівноваги кількісного розподілення речовин між фазами. Чим більша спорідненість аналіту до нерухої фази і чим менша – до рухої, тим повільніше він рухається по колонці і тим довше в ній утримується [17–21].

Враховуючи викладене вище, хроматографічний розподіл можливий лише тоді, коли досліджувана речовина розчинна в рухомій фазі та взаємодіє з нерухомою. Інакше в першому

випадку – вона не братиме участі у хроматографічному процесі, а в другому – не розділиться на компоненти.

Методи паперової та тонкошарової хроматографії прості за технікою виконання, не потребують дороговартісного обладнання, що є їх беззаперечною перевагою. ПХ та ТШХ подібні між собою за технікою виконання. Як нерухому фазу в паперовій хроматографії застосовують целюлозне волокно паперу, а в ТШХ – різні сорбенти, нанесені рівномірним тонким шаром на скляну або металічну пластину. Як рухому фазу застосовують різноманітні органічні розчинники і їх суміші. ПХ та ТШХ найчастіше здійснюють у так званому висхідному варіанті під дією капілярних сил. За механізмом поділу вони належать до розподільної хроматографії. У разі використання для ТШХ таких сорбентів як оксид алюмінію або силікагель у поділі мають значення як розподіл, так і адсорбція. Адсорбційна хроматографія полягає у динамічній рівновазі процесів сорбції і десорбції речовин, що аналізують. Від неї залежить швидкість переміщення речовини по хроматографічній системі. Найбільш вживаною планарною хроматографічною системою є ТШХ [22, 23]. Проте слід зауважити, що ці методи потребують значних затрат реактивів, часу, економічних та людських ресурсів. Також їх вибіркова селективність для одного конкретного аналіту, або ж для групи представників лише одного хімічного класу звужує можливості одночасного аналізу великої кількості пестицидів.

У газовій хроматографії рухомою фазою є газ, а нерухома фаза може бути твердою або рідкою, тобто рідиною нанесеною на твердий носій. Зважаючи на це, розрізняють газоадсорбційну та газорідинну хроматографію. Механізми розділення, відповідно – адсорбційний і розподільний. Під час аналізу через хроматографічну систему пропускають газ-носіє. Досліджувану пробу вводять в потік газу-носія у пароподібному стані, яка проходить крізь колонку, розділяючись на компоненти, що елюються рухомою фазою і реєструються детектором. Отримана хроматограма є основою для якісного і кількісного визначення пестицидів. За часом утримання (час від моменту внесення проби до появи максимуму піку) можна ідентифікувати компоненти суміші, а за площею, або висотою – оцінити концентрацію цих компонентів у пробі. Числове значення значною мірою залежить від умов аналізу, за яких його одержано.

Метод ГХ застосовують для аналізу легких термостабільних органічних речовин або речовин, які можуть бути переведені в леткі за

допомогою спеціальних прийомів. ГХ дозволяє визначати в досліджуваних пробах окремі пестициди або їх групи за допомогою газового хроматографа з електронно-захоплювальним, полум'яно-іонізаційним, полум'яно-фотометричним, термоіонним (азотно-фосфорним) чи мас-спектрометричним детекторами. Вибір детектора залежить від групи пестицидів, які потрібно визначити, та від рівня концентрації, який необхідно виявити. Зокрема, хлорорганічні пестициди зазвичай аналізують із застосуванням електронно-захоплювального детектора, який є специфічним для цього виду сполук [18–21].

Необхідно зазначити, що такі стандартні методи як ТШХ та ГХ є дещо застарілими та не відповідають сучасним вимогам європейського законодавства щодо методів контролю продуктів бджільництва.

Також одним із напрямів, який використовують для визначення пестицидів є рідинна хроматографія [23].

Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) набула широкого застосування у сфері контролю забруднень екосистеми, харчових продуктів, зокрема в аналітичній хімії для визначення залишкових кількостей пестицидів. ВЕРХ вирізняється швидкістю проходження елюенту через сорбент завдяки тиску на вході в колонку, а також використанням сорбентів розмір зерна яких становить 3–10 мкм, що забезпечує адекватний рух за високої ефективності поділу [24, 25].

За використання однакових сорбентів та рухомих фаз величини утримання ( $R_f$ ) у ТШХ легко перераховують у відповідні величини у ВЕРХ. Тому метод ТШХ іноді використовують для вибору рухомої фази, яка буде застосована у ВЕРХ. Порівняно з ТШХ ВЕРХ має вищу ефективність розділення та надає більш точні кількісні результати [23].

Як сорбент у ВЕРХ застосовують силікагель, зрідка оксид алюмінію. Найбільш розповсюджені колонки, які використовують, заповнені силікагелем з прищепленими октадецилсилільними (C18) або октилсилільними (C8) групами. Прямофазні колонки на основі чистого силікагелю використовують рідко. Це пов'язано з тим що аналіти, які досліджують цим методом, досить полярні органічні речовини і є більш рухомими на прищеплених (алкілованих) сорбентах. Іншою важливою причиною є те, що використання прямофазних сорбентів (силікагелю) потребує застосування рухомих фаз, до складу яких належать органічні розчинники (етилцетат, ацетон, хлороформ тощо.), які інтен-

сивно поглинають ультрафіолет, що ускладнює застосування спектрофотометричних детекторів [18, 24, 26, 27].

Вибір рухомої фази для ВЕРХ досить обмежений. Здебільшого це суміш деіонізованої води з ацетонітрилом чи метанолом, яка може бути з модифікуючими добавками реагентів, наприклад солей оцтової чи мурашиної кислот. Водневий показник рухомої фази має бути в межах 2,0–8,0, оскільки прищеплені сорбенти на основі силікагелю чутливі до реакції середовища. Зрушення рН в лужний бік здатне спричинити гідроліз прищеплених алкільних груп, а також підвищує розчинність прямофазних сорбентів у рухомій фазі. Прямофазні сорбенти здатні витримати більш кисле середовище. Слід пам'ятати, що введення до складу рухомої фази хлорид-іонів призводять до корозії нержавіючої сталі колонок [24, 26–28].

Властивість більшості неорганічних пестицидів дисоціювати у водних розчинах з утворенням простих гідратованих катіонів, простих і складних аніонів та комплексних іонів знайшло застосування у іонообмінних методах розділення речовин. До них належать класична іонообмінна хроматографія та високоефективна іонна хроматографія. Іонообмінна хроматографія належить до рідинно-твердофазної хроматографії. Для розділення сполук використовують сорбенти, що містять іони (іонообмінники або іоніти), здатні обмінюватись на іони з розчину. Розділення суміші іонів, що містяться в розчині, ґрунтується на різній придатності їх до обміну з іонами іоніту, що призводить до різних швидкостей їх переміщення вздовж колонки. Іонна хроматографія належить до високоефективної іонообмінної хроматографії, для якої характерне застосування мікроколонки, заповненої щільно упакованим сорбентом з малим діаметром зерен, що надає змогу проводити високоефективні розділення іонів [18, 19, 29, 30].

Методи ВЕРХ і ГХ доповнюють можливістю один одного. Методом ГХ можна розділяти і аналізувати термічно стійкі та леткі пестициди, тобто речовини з температурами кипіння до 400 °С, молекулярною масою до 400 а.о. Здебільшого це неполярні органічні сполуки. Нелеткі та полярні пестициди аналізують методом ВЕРХ. Деякі речовини з помірною леткістю та полярністю можна аналізувати як методом ГХ так і ВЕРХ. Наприклад пестициди групи триазинів чи хлорацетанілідів [20, 21, 24, 25].

На сьогодні рідинна хроматографія займає одне з пріоритетних місць серед інструментальних хроматографічних методів. Перевага

цього методу – можливість розділення речовин за нижчих температур. Це дає змогу розділяти термічно нестійкі сполуки, які не випаровуються без руйнування. Прикладами таких груп пестицидів є карбамати, неонекотиноїди, стробілурини, бензimidазоли та інші полярні і нелеткі сполуки. Отже, під час вибору газового чи рідинного типу розділення сумішей аналітів необхідно враховувати також фізичні та хімічні властивості досліджуваних пестицидів.

Наступним варто розглянути метод мас-спектрометрії. Він слугує для визначення хімічного складу та молекулярної структури речовин і базується на реєстрації спектра мас іонів, утворених внаслідок іонізації молекул проби. Поєднання газового або рідинного хроматографа з мас-спектрометричним детектором (ГХ-МС, РХ/МС) дозволяє досягти наступних цілей: високої специфічності аналізу, визначення більш широкого діапазону пестицидів порівняно із використанням інших селективних детекторів, можливості додаткової ідентифікації аналітів за їх мас-спектрами, ідентифікації невідомих сполук у складних сумішах та порівняння бібліотечних даних мас-спектрів з виявленими [34–37]. Однак чутливість цього методу недостатня для виконання поставлених завдань.

З огляду на те, що концентрація пестицидів у продуктах бджільництва зазвичай невисока та одночасно можуть бути наявні декілька пестицидів, необхідно застосовувати ефективні високочутливі мультикомпонентні методи випробувань [24, 35]. Зокрема потрібно практикувати використання рідинної хроматографії або газової хроматографії в поєднанні з тандемною мас-спектрометрією. Мас-спектрометри з двома мас-аналізаторами називають тандемними (МС/МС) та використовують найчастіше квадруполь-квадрупольні та квадруполь-часопротітні.

Під час проведення випробувань лабораторії намагаються забезпечити більш низькі межі виявлення досліджуваних аналітів відповідно до вимог нормативних документів. Головним завданням роботи лабораторій є підтримка високої продуктивності та ефективності. Одним із рішень цих завдань є застосування інноваційної триквадрупольної системи МС/МС.

Метод газової трьохквадрупольної тандемної хромато-мас-спектрометрії з джерелом іонізації електронним ударом дозволяє збільшити швидкість іонізації молекул проби, відтворити більше іонів, отримати менший час реєстрації мас іонів, підвищити чутливість детектора, знизити межі виявлення та встановлювати залишкові кількості аналітів з більш високою достовірністю. Крім того, надає мож-

ливість застосовувати менші наважки проб і відповідно скоротити час пробопідготовки. Завдяки перерахованим вище перевагам зростає швидкість аналізу, подовжується термін експлуатації головних деталей приладу, а також скорочується час та затрати на техобслуговування приладу [35, 41].

Новітні технології потрійних квадруполів вдало поєднуються і з ультраефективними рідинними хроматографами (УЕРХ), забезпечуючи точність випробувань, необхідну для аналізу найскладніших проб. Висока чутливість та продуктивність дозволяють швидко, легко й ефективно виконати контроль за дотриманням найсуворіших нормативних вимог щодо безпечності меду та продуктів бджільництва [35, 42].

В таблиці 1 наведено дані щодо селективності (вибірковості) методів визначення пестицидів в продуктах бджільництва (меді бджолиному, обніжжі), які найчастіше застосовують в Україні, відповідно до груп показників, виявлених в цих матрицях. Суттєве значення має межа кількісного визначення методу (чутливість), тобто можливість виявляти аналіти на тому чи іншому рівні концентрацій.

Метод квадрупольно-часопролітної тандемної мас-спектрометрії, зокрема високої роздільної здатності, в поєднанні з системою ГХ (GC/Q-TOF), є точним для ідентифікації мас іонів, дозволяє кількісно визначати залишкові кількості органічних сполук в складних матрицях і контролювати безпечність харчових

продуктів та навколишнього середовища. Забезпечує високу чутливість та відтворюваність результатів. Завдяки цьому досягаються межі виявлення та кількісне визначення з точністю до фемтограмів, селективний кількісний аналіз цільових речовин в пробах з високим хімічним фоном, відповідність методики суворим нормам щодо аналітичних меж.

Часопролітний мас-детектор в поєднанні з РХ системою покращує ідентифікацію невідомих речовин. Квадрупольно-часопролітний тандемний мас-детектор в поєднанні з РХ системою забезпечує більш точне визначення мас іонів та демонструє суттєво вищу швидкість отримання результатів. Цей детектор незамінний за вивчення складу макромолекул, насамперед білків, олігонуклеотидів та інших полімерів природного чи штучного походження [38–40].

Для визначення залишків пестицидів у продуктах бджільництва застосовують також ГХ та РХ системи в поєднанні з МС Orbitrap високої роздільної здатності (GC-HRMS (Q-Orbitrap)). Завдяки технології Orbitrap значно зменшується вплив на результат коекстрактивних речовин з матриці, відповідно і перешкод від подібних за характеристиками елюйованих аналітів. Орбітрепи мають високу точність маси, високу чутливість і гарний динамічний діапазон. Це найбільш чутливий скринінговий метод для мультизалишкового визначення пестицидів [43, 45].

Таблиця 1 – Порівняння методів визначення залишкових кількостей пестицидів

Методи	Група показників						
	Синтетичні піретроїди	Хлорацетаніліди	Фосфорорганічні сполуки	Неонікотинноїди	Триазоли	Бензімідазоли	Стробілурини
	Селективність (так+/ні-)/ Рівень чутливості методу (мкг/кг)						
ТШХ	+10	+/50	+/200	+/50	+/50	+/100	+/50
ГХ/ДЕЗ	+/10	+/10	-	-	-	-	-
ГХ/ТІД	-	-	+/10	-	-	-	-
РХ/УФД	-	-	-	+/10	+/10	-	-
ГХ/МС	+/50	+/50	+/50	-	+/10	-	-
ГХ-МС/МС	+/1	+/1	+/1	-	-	-	-
РХ-МС/МС	-	-	+/0,1	+/0,1	+/0,1	+/0,1	+/0,1

**Висновки.** Хроматографічні методи є ефективними для аналізу продуктів бджільництва на наявність залишків пестицидів та за проведення діагностики отруєнь бджіл. Їх ефективність обумовлена динамічністю процесів сорбції-десорбції компонентів, що розділяються в потоці рухомої фази. Різновиди хроматографічних методів досліджень створені завдяки модифікаціям рухомої або нерухомої фази та умов випробувань, які визначають швидкість переміщення компонентів аналітичної суміші. Загалом, хроматографія є простим і надзвичайно гнучким принципом, який продовжить удосконалюватися найближчим часом та згенерує нові варіації.

Прерогатива ВЕРХ порівняно із ГХ полягає в універсальності – можливості дослідження аналітів без значних обмежень щодо температури кипіння або молекулярної маси. До того ж, з кожним роком збільшується кількість високополярних і малолетких пестицидів, які є об'єктами досліджень методом ВЕРХ.

Основними недоліками класичних хроматографічних методів випробувань є необхідність трудомісткої пробопідготовки та значна тривалість аналізу. Крім того, вони не відповідають сучасним вимогам законодавства щодо методів контролю продуктів бджільництва за вмістом пестицидів.

Значними перевагами вирізняються методи трьохквадрупольної тандемної хромато-мас-спектрометрії ГХ-МС/МС та/або РХ-МС/МС, зокрема це можливість визначати одночасно значний перелік пестицидів, виявляти залишкові кількості речовин на низьких рівнях концентрацій в матриці, а також збільшена швидкість аналізу й водночас отримання достовірних результатів випробувань.

Поєднання хроматографів з тандемними мас-спектрометрами є досить перспективними методами у лабораторній практиці України. Саме газова або рідинна хроматографія з тандемним трьохквадрупольним мас-спектрометричним детектуванням є високочутливими мультикомпонентними методами випробувань завдяки точності, вибірковості та можливості легко ідентифікувати аналіти за їхніми індивідуальними мас-спектрами.

Водночас недоліком сучасної хромато-мас-спектрометрії є висока вартість обладнання, враховуючи його поточне сервісне обслуговування, проте результатом є отримання швидкої та достовірної інформації щодо безпечності досліджуваних продуктів бджільництва, включаючи також можливість визначати до 600 сполук одночасно в зразках загиблих бджіл за діагностики отруєнь пестицидами.

Методи квадрупольно-часопротітної ГХ-МС/МС та/або РХ-МС/МС також характеризуються високою чутливістю та відтворюваністю, можливістю точного й швидкого отримання результатів досліджень та ідентифікації невідомих речовин.

Технології Orbitrap високої роздільної здатності дозволяють визначати ультразалишкові кількості аналітів та зменшити ймовірність хибнопозитивних і негативних результатів.

Отже, сучасні методи визначення залишків пестицидів у зразках продуктів бджільництва відповідають суворим нормативно-правовим вимогам щодо граничних меж виявлення цих аналітів та вимогам лабораторної практики щодо достовірності результатів і швидкості проведення випробувань, а в зразках загиблих бджіл дозволяють визначати одночасно широкий спектр діючих речовин засобів захисту рослин. Найбільш оптимальний метод дослідження обирають залежно від поставлених завдань аналізу, умов його проведення та очікуваного результату.

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори статті (Омельчун Ю.А. та Кобиш А.І.) стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження. Матеріали статті можуть бути опубліковані.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Rekha Naik S.N., Prasad R. Pesticide residue in organic and conventional food-risk analysis. *Chem. Health Saf.* 2006. Vol. 13. P. 12–19. DOI:10.1016/j.chs.2005.01.012.
2. Ye M., Beach J., Martin J.W., Senthilselvan A. Occupational pesticide exposures and respiratory health. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2013. Vol. 10 (12). P. 6442–6471. DOI:10.3390/ijerph10126442.
3. Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks/F.P. Garcia et al. *Res. J. Environ. Sci. Toxicol.* 2012. Vol. 1 (11). P. 279–293. URL:www.semanticscholar.org/paper/Pesticides%3A-classification%2C-uses-and-toxicity-of-Garc%3%ADa-Ascencio/225e6c4ebada0757fc67ef46d06a2347dec00335?p2df. (дата звернення: 22.06.2022).
4. Ravindran J., PankajshanM., Puthur S. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip. Toxicol.* 2016. Vol.9. P. 90–100. URL:www.sciendo.com/article/10.1515/intox-2016-0012. (дата звернення: 22.06.2022).
5. Sarbani G., Anirudha G., Gouri D.S., Surya B.P. Mutagenic effects of carbosulfan, a carbamate pesticide. *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2002. Vol. 519. P. 75–82. URL:www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571802001146?via%3Dihub. (дата звернення: 21.06.2022).

6. Pesticide distribution and depletion kinetic determination in honey and beeswax. Model for pesticide occurrence and distribution in beehive products/J.A. Shimshoni et al. PLoS ONE. 2019. 14 (2). DOI:10.1371/journal.pone.021263.
7. Johnson R.M., Ellis M.D., Mullin C.A., Frazier M. Pesticides and honey bee toxicity – USA. *Apidologie*. 2010. P. 312–331. DOI:10.1051/apido/201001841.
8. A two-year monitoring of pesticide hazard in hive: High honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings/P. Calatayud-Vernich et al. *J. Chemosphere*. 2019. Vol. 232. P. 471–480. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.05.170.
9. Regulation (EC) № 396/2005 of the European Parliament and of the Council on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. OJ L 70, 16.03.2005. P. 1–16. URL: [eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32005R0396](http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32005R0396). (дата звернення: 20.06.2022).
10. Commission Directive 2006/125/EC on processed cereal-based foods and baby foods for infants and young children. OJ L 339, 6.12.2006. P. 16–35. URL: [data.europa.eu/eli/dir/2006/125/oj](http://data.europa.eu/eli/dir/2006/125/oj). (дата звернення: 20.06.2022).
11. Pesticide residues in food. WHO. 2018. URL: [www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food](http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food). (дата звернення: 10.06.2022).
12. Systematic Review of the Literature: Best Practices, Academic Radiology/S. Gupta et al. 2018. Vol. 25 (11). P. 1481–1490. DOI:10.1016/j.acra.2018.04.025.
13. Commission Directive 2002/63/EC of 11 July 2002 Establishing Community methods of sampling for the official control of pesticide residues in and on products of plant and animal origin and repealing Directive 79/700/EEC. (Text with EEA relevance). OJ L 187, 16.7.2002, P. 30–43. URL: [eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32002L0063](http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32002L0063). (дата звернення: 20.06.2022).
14. The International Code of Conduct on Pesticide Management. WHO/FAO. Rome, 2014. 40 p. URL: [www.who.int/publications/i/item/9789251085493](http://www.who.int/publications/i/item/9789251085493). (дата звернення: 10.06.2022).
15. Guidance SANTE 11312/2021 – Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. URL: [ec.europa.eu/food/system/files/2022-02/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_2021-113\\_12.pdf](http://ec.europa.eu/food/system/files/2022-02/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-113_12.pdf). (дата звернення: 19.06.2022).
16. Jackie. Basics & Fundamentals: Gas Chromatography. Shimadzu 21. 2020. URL: [www.shimadzu.eu.com/sites/shimadzu.seg/files/SEG/c10ge082-GC-Basics-and-Fundamentals.pdf](http://www.shimadzu.eu.com/sites/shimadzu.seg/files/SEG/c10ge082-GC-Basics-and-Fundamentals.pdf). (дата звернення: 21.06.2022).
17. Basic Overview Gas on Chromatography Columns Chemistry/Md. Musfiqur Rahman et al. Wiley Online Library. 2015. Chapter 3. Vol. 3. P. 823–834. DOI:10.1002/9783527678129.assep024.
18. Cazes J., Scott R.P.W. *Chromatography Theory*. New York/ Basel: Marsel Dekker, 2002. Inc. 477 p. (in English). DOI:10.1201/9780367800543.
19. Coskun O. Separation techniques: Chromatograph. *Noth Clin Istanbul*. 2016. Vol. 3(2). P. 156–160. DOI:10.14744/nci.2016.32757.
20. Basic principles of gas chromatography. *J. of Chromatography Libr.* 1977. Vol. 10. P. 1–31. DOI:10.1016/S0301-4770(08)60223-7.
21. McNair H.M., Miller J.M., Snow N.H. *Basic gas chromatography*, Third Edition. Wiley, 2019. 265 p. (in English). DOI:10.1002/9781119450795.
22. Colin F. Poole. *Thin-layer chromatography: challenges and opportunities*. *J. of Chromatography Libr.* 2003. Vol. 1000 (1-2). P. 963–984. DOI:10.1016/S0021-9673(03)00435-7.
23. Lewis S.W., Lenehan C.E. *Liquid and Thin-Layer Chromatography*. *Encyclopedia of Forensic Sciences*. 2013. P. 586–589. DOI:10.1016/B978-0-12-382165-2.00246-4.
24. Souza Tette P.A., Guidi L.R., De Abreu Glória M.B., Fernandes C. Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. *Talanta*. 2016. Vol. 149. P. 124–141. DOI:10.1016/j.talanta.2015.11.045.
25. Thin-layer chromatography in the authenticity testing of bee-products/M. Dushanka et al. *J. of Chromatography B*. 2022. Vol. 1188. DOI:10.1016/j.jchromb.2021.123068.
26. Chromatographic retention of adamantyl-amidrazones and triazoles by octadecyl silica gel and hypercrosslinked polystyrenes from water-acetonitrile solutions/S.V. Prokopov et al. *Russ. J. Phys. Chem.* 2012. Vol. 86. P. 852–859. DOI:10.1134/S0036024412050299.
27. Thomas H. Walter., Iraneta P., Capparella M. Mechanism of retention loss when C8 and C18 HPLC columns are used with highly aqueous mobile phases, *J. of Chromatography A*. 2005. Vol. 1075 (1–2). P. 177–183. DOI:10.1016/j.chroma.2005.04.039.
28. Influence of variation in mobile phase pH and solute pK<sub>a</sub> with the change of organic modifier fraction on QSRRs of hydrophobicity and RP-HPLC retention of weakly acidic compounds/Shu-ying Han et al. *Talanta*. 2012. Vol. 101. P. 64–70. DOI:10.1016/j.talanta.2012.08.051.
29. Hamish Small. Landmarks in the Evolution of Ion Chromatography LCGC Supplements. Special Issues-04-01-2013. (2013). Vol. 31 (4). P. 8–15. URL: [www.chromatographyonline.com/view/landmarks-evolution-ion-chromatography](http://www.chromatographyonline.com/view/landmarks-evolution-ion-chromatography). (дата звернення: 23.06.2022).
30. Haddad P.R., Jackson P.E. Ion chromatography – principles and applications. *Journal of Chromatography Library*. 1990. Vol. 46. P. 319–320. (in English). DOI:10.1016/0021-9673(93)80015-Z.
31. Castillo M. An evaluation method for determination of non-polar pesticide residues in animal fat samples by using dispersive solid-phase extraction clean-up and GC-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011. Vol. 400 (5). P. 1315–1328. DOI:10.1007/s00216-011-4656-5.
32. McGown S.R. *Basic gas chromatography-mass spectrometry: Principles and techniques*. *J. of Biochem. and Biophys. Methods*. 1990. Vol. 20. P. 269–270. DOI:10.1016/0165-022x(90)90085-q.

33. Rose M.E. Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 1989. Vol. 225. P. 456–457. DOI:10.1016/s0003-2670(00)84638-3.

34. Sneddon J., Masuram S., Richert J.C. Gas chromatography-mass spectrometry-basic principles, instrumentation and selected applications for detection of organic compounds. *Analytical Letters*. 2007. DOI:10.1080/00032710701300648.

35. Multi-residue analytical method for detecting pesticides, veterinary drugs, and mycotoxins in feed using liquid- and gas chromatography coupled with mass spectrometry/Tae Woong Na et al. *J. of Chromatography A*. 2022. DOI:10.1016/j.chroma.2022.463257.

36. John Roboz. A History of Ion Current Detectors for Mass Spectrometry. *The Encyclopedia of Mass Spectrometry*. 2016. Vol. 9. P. 183–188. DOI:10.1016/B978-0-08-043848-1.00023-7.

37. Peter Q. Tranchida, Luigi Mondello. Detectors and basic data analysis. *Separation Science and Technology*. 2020. Vol. 12 (6). P. 205–227. DOI:10.1016/B978-0-12-813745-1.00006-4.

38. Non-target evaluation of contaminants in honey bees and pollen samples by gas chromatography time-of-flight mass spectrometry/E. Hakme et al. *Chemosphere*. 2017. Vol. 184. P. 1310–1319. DOI:10.1016/j.chemosphere.2017.06.089.

39. Richard A. Yost. The triple quadrupole: Innovation, serendipity and persistence. *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab*. 2022. Vol. 24. P. 90–99. DOI:10.1016/j.jmsacl.2022.05.001.

40. Multi-residue analysis of 80 environmental contaminants in honeys, honeybees and pollens by one extraction procedure followed by liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometric detection/L. Wiest et al. *Journal of Chromatography A*. 2011. Vol. 1218 (34). P. 5743–5756. DOI:10.1016/j.chroma.2011.06.079.

41. Dataset of PAHs determined in home-made honey samples collected in Central Italy by means of DLLME-GC-MS and cluster analysis for studying the source apportionment/S. Passarella et al. *Data in Brief*. 2022. Vol. 42. DOI:10.1016/j.dib.2022.108136.

42. Determination of imidacloprid in beehive samples by UHPLC-MS/MS/Melina P. Michlig et al. *Microchemical Journal*. 2018. Vol. 143. P. 72–81. DOI:10.1016/j.microc.2018.07.027.

43. Liquid chromatography Orbitrap mass spectrometry with simultaneous full scan and tandem MS/MS for highly selective pesticide residue analysis/María Del Mar et al. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. Vol. 407(21). P. 6317–6326. DOI:10.1007/s00216-015-8709-z.

44. Multi-Class Methodology to Determine Pesticides and Mycotoxins in Green Tea and Royal Jelly Supplements by Liquid Chromatography Coupled to Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry/Martínez-Domínguez et al. *Food Chemistry*. 2016. Vol. 197. P. 907–915. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.11.070.

45. Comparison of new approach of GC-HRMS (Q-Orbitrap) to GC-MS/MS (triple-quadrupole) in analyzing the pesticide residues and contaminants

in complex food matrices/S. Belarbi et al. *Food Chemistry*. 2021. Vol. 359. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129932.

## REFERENCES

1. Rekha Naik, S.N., Prasad, R. (2006). Pesticide residue in organic and conventional food-risk analysis. *Chem. Health Saf.* Vol. 13, pp. 12–19. DOI:10.1016/j.chs.2005.01.012.

2. Ye, M., Beach, J., Martin, J.W., Senthilselvan, A. (2013). Occupational pesticide exposures and respiratory health. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. Vol. 10 (12), pp. 6442–6471. DOI:10.3390/ijerph10126442.

3. Garcia, F.P., Cortés Ascencio, S.Y., Gaytan Oyarzun, J.C., Ceruelo Hernandez, A., Vazquez Alavaredo, P. (2012). Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks. *Res. J. Environ. Sci. Toxicol.* Vol. 1 (11), pp. 279–293. (Accessed 22 June 2022). Available at: [www.semanticscholar.org/paper/Pesticides%3A-classification%2C-uses-and-toxicity.-of-Garc%C3%ADa-Ascencio/225e6c4ebada0757fc67ef46d06a2347dec00335?p2df](http://www.semanticscholar.org/paper/Pesticides%3A-classification%2C-uses-and-toxicity.-of-Garc%C3%ADa-Ascencio/225e6c4ebada0757fc67ef46d06a2347dec00335?p2df).

4. Ravindran, J., Pankajshan, M., Puthur, S. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip. Toxicol.* Vol. 9, pp. 90–100. (Accessed 22 June 2022). Available at: [www.sciendo.com/article/10.1515/intox-2016-0012](http://www.sciendo.com/article/10.1515/intox-2016-0012).

5. Sarbani, G., Anirudha, G., Gouri, D.S., Surya, B.P. (2002). Mutagenic effects of carbosulfan, a carbamate pesticide. *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* Vol. 519, pp. 75–82. (Accessed 21 June 2022). Available at: [www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571802001146?via%3Dihub](http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571802001146?via%3Dihub).

6. Shimshoni, J.A. (2019). Pesticide distribution and depletion kinetic determination in honey and beeswax. Model for pesticide occurrence and distribution in beehive products. *PLoS ONE* 14 (2). DOI:10.1371/journal.pone.021263.

7. Johnson, R.M., Ellis, M.D., Mullin, C.A., Frazier, M. (2010). Pesticides and honey bee toxicity – USA. *Apidologie*. pp. 312–331. DOI:10.1051/apido/201001841.

8. Calatayud-Vernich, P., Calatayud, F., Simó, E. (2019). A two-year monitoring of pesticide hazard in-hive: High honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings. *J. Chemosphere*. Vol. 232, pp. 471–480. DOI:10.1016/j.chemosphere.2019.05.170.

9. Regulation (EC) № 396/2005 of the European Parliament and of the Council on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. OJ L 70, 16.03.2005, pp. 1–16. (Accessed 20 June 2022). Available at: [eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32005R0396](http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32005R0396).

10. Commission Directive 2006/125/EC on processed cereal-based foods and baby foods for infants and young children. OJ L 339, 6.12.2006, pp. 16–35. (Accessed 20 June 2022). Available at: [data.europa.eu/eli/dir/2006/125/oj](http://data.europa.eu/eli/dir/2006/125/oj).

11. Pesticide residues in food. WHO. 2018. (Accessed 10 June 2022). Available at: [www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food](http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food).
12. Gupta S., Rajiah P., Middlebrooks E.H., Baruah D., Carter B.W., Burton K.R., Chatterjee A.R., Miller M.M. (2018). Systematic Review of the Literature: Best Practices, Academic Radiology. Vol. 25 (11), pp. 1481–1490. DOI:10.1016/j.acra.2018.04.025.
13. Commission Directive 2002/63/EC of 11 July 2002 Establishing Community methods of sampling for the official control of pesticide residues in and on products of plant and animal origin and repealing Directive 79/700/EEC (Text with EEA relevance). OJ L 187, 16.7.2002, pp. 30–43. (Accessed 20 June 2022). Available at: [eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32002L0063](http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX:32002L0063).
14. The International Code of Conduct on Pesticide Management. (2014). WHO/FAO. Rome, 40p. (Accessed 10 June 2022). Available at: [www.who.int/publications/i/item/9789251085493](http://www.who.int/publications/i/item/9789251085493).
15. Guidance SANTE 11312/2021 – Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. (Accessed 19 June 2022). Available at: [ec.europa.eu/food/system/files/2022-02/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_2021-11312.pdf](http://ec.europa.eu/food/system/files/2022-02/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf).
16. Jackie. (2020). Basics & Fundamentals: Gas Chromatography. Shimadzu 21. (Accessed 21 June 2022). Available at: [www.shimadzu.eu.com/sites/shimadzu\\_seg/files/SEG/c10ge082-GC-Basics-and-Fundamentals.pdf](http://www.shimadzu.eu.com/sites/shimadzu_seg/files/SEG/c10ge082-GC-Basics-and-Fundamentals.pdf).
17. Md. Musfiqur, Rahman., El-Aty, A.M.A. (2015). Basic Overview Gas on Chromatography Columns Chemistry. Wiley Online Library. Chapter 3. Vol. 3, pp. 823–834. DOI:10.1002/9783527678129.assep024.
18. Cazes, J., Scott, R.P.W. (2002). Chromatography Theory. New York/ Basel: Marsel Dekker, Inc, 477 p. (in English). DOI:10.1201/9780367800543.
19. Coskun, O. (2016). Separation techniques: Chromatograph. Noth Clin Istanbul. Vol. 3(2), pp. 156–160. DOI:10.14744/nci.2016.32757.
20. Basic principles of gas chromatography. (1977). J. of Chromatography Libr. Vol. 10, pp. 1–31. DOI:10.1016/S0301-4770(08)60223-7.
21. McNair, H.M., Miller, J.M., Snow, N.H. (2019). Basic gas chromatography, Third Edition. Wiley, 265 p. (in English). DOI:10.1002/9781119450795.
22. Colin, F. Poole (2003). Thin-layer chromatography: challenges and opportunities. J. of Chromatography Libr. Vol. 1000 (1-2), pp. 963–984. DOI:10.1016/S0021-9673(03)00435-7.
23. Lewis, S.W, Lenehan, C.E. (2013). Liquid and Thin-Layer Chromatography. Encyclopedia of Forensic Sciences, pp. 586–589. DOI:10.1016/B978-0-12-382165-2.00246-4.
24. Souza Tette, P.A., Guidi, L.R., De Abreu Glória, M.B., Fernandes, C. (2016). Pesticides in honey: A review on chromatographic analytical methods. Talanta. Vol. 149, pp.124–141. DOI:10.1016/j.talanta.2015.11.045.
25. Dushanka, M. (2022). Thin-layer chromatography in the authenticity testing of bee-products. J. of Chromatography B. Vol. 1188. DOI:10.1016/j.jchromb.2021.123068.
26. Prokopov, S.V., Kurbatova, S.V., Davankov, V.A. (2012). Chromatographic retention of adamantyl-amidrazones and triazoles by octadecyl silica gel and hypercrosslinked polystyrenes from water-acetonitrile solutions. Russ. J. Phys. Chem. Vol. 86, pp. 852–859. DOI:10.1134/S0036024412050299.
27. Thomas, H. Walter., Iraneta P., Capparella M. (2005). Mechanism of retention loss when C8 and C18 HPLC columns are used with highly aqueous mobile phases. J. of Chromatography A. Vol. 1075 (1–2), pp. 177–183. DOI:10.1016/j.chroma.2005.04.039.
28. Shu-ying, Han., Liang, C., Zou, K. (2012). Influence of variation in mobile phase pH and solute pK<sub>a</sub> with the change of organic modifier fraction on QSRRs of hydrophobicity and RP-HPLC retention of weakly acidic compounds. Talanta. Vol. 101, pp. 64–70. DOI:10.1016/j.talanta.2012.08.051.
29. Hamish, Small. (2013). Landmarks in the Evolution of Ion Chromatography LCGC Supplements. Special Issues-04-01-2013. Vol. 31 (4), pp. 8–15. (Accessed 23 June 2022). Available at: [www.chromatographyonline.com/view/landmarks-evolution-ion-chromatography](http://www.chromatographyonline.com/view/landmarks-evolution-ion-chromatography).
30. Haddad, P.R., Jackson, P.E. (1990). Ion chromatography – principles and applications. Journal of Chromatography Library. Vol. 46, pp. 319–320. (in English). DOI:10.1016/0021-9673(93)80015-Z.
31. Castillo, M. (2011). An evaluation method for determination of non-polar pesticide residues in animal fat samples by using dispersive solid-phase extraction clean-up and GC-MS. Anal. Bioanal. Chem. Vol. 400 (5), pp. 1315–1328. DOI:10.1007/s00216-011-4656-5.
32. McGown, S.R. (1990). Basic gas chromatography-mass spectrometry: Principles and techniques. J. of Biochem. and Biophys. Methods. Vol. 20, pp. 269–270. DOI:10.1016/0165-022x(90)90085-q.
33. Rose, M.E. (1989). Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Analytica Chimica Acta. Vol. 225, pp. 456–457. DOI:10.1016/s0003-2670(00)84638-3.
34. Sneddon, J., Masuram, S., Richert, J.C. (2007). Gas chromatography-mass spectrometry-basic principles, instrumentation and selected applications for detection of organic compounds. Analytical Letters. DOI:10.1080/00032710701300648.
35. Tae, Woong Na., Hyung-Ju, Seo., Su-Nyeong, Jang. (2022). Multi-residue analytical method for detecting pesticides, veterinary drugs, and mycotoxins in feed using liquid- and gas chromatography coupled with mass spectrometry. J. of Chromatography A. DOI:10.1016/j.chroma.2022.463257.
36. Roboz, J. (2016). A History of Ion Current Detectors for Mass Spectrometry. The Encyclopedia of Mass Spectrometry. Vol. 9, pp. 183–188. DOI:10.1016/B978-0-08-043848-1.00023-7.
37. Peter, Q.T., Mondello, L. (2020). Detectors and basic data analysis. Separation Science and Technology. Vol. 12 (6), pp. 205–227. Doi:10.1016/B978-0-12-813745-1.00006-4.

38. Hakme, E., Lozano, A., Gómez-Ramos, M.M., Hernando, M.D., Fernández-Alba, A.R. (2017). Non-target evaluation of contaminants in honey bees and pollen samples by gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Chemosphere*. Vol. 184, pp. 1310–1319. DOI:10.1016/j.chemosphere.2017.06.089.

39. Richard, A. Yost. (2022). The triple quadrupole: Innovation, serendipity and persistence. *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab*. Vol. 24, pp. 90–99. DOI:10.1016/j.jmsacl.2022.05.001.

40. Wiest, L., Buleté, A., Giroud, B. (2011). Multi-residue analysis of 80 environmental contaminants in honeys, honeybees and pollens by one extraction procedure followed by liquid and gas chromatography coupled with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1218 (34), pp. 5743–5756. DOI:10.1016/j.chroma.2011.06.079.

41. Passarella, S., Guerriero, E., Quici, L. (2022). Dataset of PAHs determined in home-made honey samples collected in Central Italy by means of DLLME-GC-MS and cluster analysis for studying the source apportionment. *Data in Brief*. Vol. 42. DOI:10.1016/j.dib.2022.108136.

42. Melina, P. Michlig., Merke, J., Adriana, C. Pacini., Emanuel, M. Orellano., Horacio, R. Beldoménico., María, R. Repetti. (2018). Determination of imidacloprid in beehive samples by UHPLC-MS/MS. *Microchemical Journal*. Vol. 143, pp. 72–81. DOI:10.1016/j.microc.2018.07.027.

43. aría, Del Mar., Gómez-Ramos, Lukasz Rajsk. (2015). Liquid chromatography Orbitrap mass spectrometry with simultaneous full scan and tandem MS/MS for highly selective pesticide residue analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 407(21), pp. 6317–6326. DOI:10.1007/s00216-015-8709-z.

44. Martínez-Domínguez. (2016). Multi-Class Methodology to Determine Pesticides and Mycotoxins in Green Tea and Royal Jelly Supplements by Liquid Chromatography Coupled to Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry. *Food Chemistry*. Vol. 197, pp. 907–915. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.11.070.

45. Belarbi, S., Vivier, M., Zaghouni, W. (2021). Comparison of new approach of GC-HRMS (Q-Orbitrap) to GC-MS/MS (triple-quadrupole) in analyzing the pesticide residues and contaminants in complex food matrices. *Food Chemistry*. Vol. 359. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129932.

### Modern methods for the determination of pesticide residues in beekeeping products and for the diagnostics of bee poisoning

Omelchun Y., Kobish A.

Intensification of agricultural production is associated with the use of a significant amount of pesticides, which negatively affects the environment and human health, and food products, including beekeeping products, accordingly require mandatory control of residual amounts of pesticides.

This article provides a comparative analysis of the available chromatographic methods for pesticide residue research. The necessity of using modern chromatographic methods to determine residual amounts of pesticides in samples of dead bees and beekeeping products is well-founded.

Chromatographic methods of studying these indicators in different types of matrices are a priority. They are effective methods of analysis, widely used due to their versatility - they allow the analysis of complex inorganic and organic compounds in various aggregate states. But one of the most common modern methods for pesticide determination is gas and liquid three-quadrupole tandem chromatography-mass spectrometry (GC and/or LC-MS/MS). The GC-MS/MS method provides quantitative determination of analytes at a level that is an order of magnitude higher than, for example, the gas single quadrupole mass spectrometry method.

Modern methods of gas and liquid chromatography in combination with quadrupole time-of-flight mass spectrometric detection (LC/Q-TOF/MS or GC/Q-TOF/MS) also allow qualitative and quantitative multicomponent analysis of pesticides in beekeeping products.

GC and LC systems combined with high-resolution Orbitrap MS (GC-HRMS(Q-Orbitrap)/LC-HRMS(Q-Orbitrap)) have higher sensitivity, enabling ultra-trace detection, and are the most sensitive screening method for multicomponent determination of pesticide residues.

Thus, the latest chromatographic methods are able to meet the needs of analytical testing and research laboratories in the field of food safety, including beekeeping products.

**Key words:** chromatographic methods, thin-layer chromatography, gas chromatography, liquid chromatography, mass spectrometry, multi-component analysis, pesticides, honey, dead bees.



Copyright: Омельчун Ю.А., Кобиш А.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.



ORCID iD:

Омельчун Ю.А.

Кобиш А.І.

<https://orcid.org/0000-0001-8895-7250>

<https://orcid.org/0000-0001-9372-5016>


## ХІРУРГІЯ ТА АНЕСТЕЗІОЛОГІЯ

УДК 636.2.09:617.57/58-002.3:612.017

## Цитокинові профілі у здорових тварин і у корів з гнійно-некротичними процесами кінцівок

Мельніков В.В. , Рубленко М.В. , Ільницький М.Г. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: anatomii@ukr.net

Мельніков В.В., Рубленко М.В., Ільницький М.Г. Цитокинові профілі у здорових тварин і у корів з гнійно-некротичними процесами кінцівок. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 2. С. 111–119.

Melnikov V., Rublenko M., Ilnitskyi M. Cytokine levels in clinically healthy cows, pigs and dogs. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 2. PP. 111–119.

Рукопис отримано: 06.10.2022 р.

Прийнято: 19.10.2022 р.

Затверджено до друку: 27.12.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-176-2-111-119

Однією із типових реакцій організму на травму чи інфекційні агенти за пошкодження будь-яких тканин і органів є реакція гострої фази, яка являє собою індуковане посилення синтезу з наступним збільшенням у крові і тканинах низки білків з імунологічними, бактеріцидними, антиоксидантними та інгібіторними властивостями.

Мета дослідження – встановлення рівнів цитокинів у клінічно здорових корів, свиней і собак, а також у корів з гнійно-некротичними процесами кінцівок.

Рівні прозапальних цитокинів та протизапального ІЛ-10 визначали у сироватці крові корів, свиней та собак. Корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок (n=26) розділили: 1 група (n=8) – гостра форма гнійно-некротичних уражень дистальних кінцівок; 2 група (n=8) – генералізовані ураження; 3 група (n=10) – рецидивуючі вогнища у ділянці пальців. Імуноферментним методом визначали вміст у сироватці крові інтерлейкінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-10 відповідно до стандартного протоколу.

Встановлено, що рівні у крові прозапальних ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$  у клінічно здорових корів значно менші, ніж протизапального ІЛ-10, за співвідношення ІЛ-10:ФНП- $\alpha$  – 3,3:1, та ІЛ-10: ІЛ-1 $\beta$  – 9,5:1, тому для великої рогатої худоби за фізіологічної норми притаманний протизапальний цитокиновий профіль.

У клінічно здорових свиней протизапальний цитокиновий профіль виявився найбільш вираженим, оскільки цитокинові індекси в них були значно більші: ІЛ-10: ФНП- $\alpha$  – 19,4:1; ІЛ-10:ІЛ-1 $\beta$  – 13,9:1.

У крові клінічно здорових собак цитокинові індекси між ІЛ-10:ІЛ-1 $\beta$  надзвичайно низькі – 1,5:1, ще меншим ФНП- $\alpha$ : ІЛ-1 $\beta$  – 0,2:1, а між ІЛ-10:ФНП- $\alpha$  – 8,8:1, а тому за сукупністю цитокинових індексів протизапальний цитокиновий профіль значно нижчий.

У корів з гострою формою некробактеріозу рівень у крові ФНП- $\alpha$ , порівнюючи з клінічно здоровими тваринами, більший у 5,6 раза (P<0,001), а ІЛ-1 $\beta$  – в 3,4 раза (P<0,001), за зростання їх індекса в 1,7 раза, до 4,9:1. За таких умов рівень ІЛ-10 збільшується лише в 1,8 раза (p<0,05).

Для тварин з генералізованою формою характерним є критичне збільшення рівня в крові ФНП- $\alpha$  у 16,8 раза, та в 17,8 раза (p<0,001) ІЛ-1 $\beta$ , тимчасом рівень ІЛ-10 залишається незмінним порівняно з гострою формою. Цитокиновий індекс ІЛ-10:ФНП- $\alpha$  набуває критичного значення – 0,4:1, а ІЛ-10 до ІЛ-1 $\beta$  – 1:1. У тварин з рецидивуючими ураженнями характерними є низькі рівні ІЛ-1 $\beta$ , особливо ІЛ-10. Однак концентрація ФНП- $\alpha$  залишається досить великою і переважає показник норми в 12,6 раза (p<0,001).

Отже, різні клінічні форми некробактеріозних уражень кінцівок у корів мають компенсаторний чи некомпенсаторний прояв цитокинемії, з дисбалансом функціональності гострофазних білків унаслідок недостатньої ємності інгібіторного потенціалу хворих корів.

**Ключові слова:** корови, свині, собаки, цитокіни, сироватка, клінічно здорові тварини, запалення.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень і публікацій.** Однією із типових реакцій організму на травму чи інфекційні агенти за пошкодження будь-яких тканин і органів є реакція гострої фази, яка являє собою індуковане посилення синтезу з наступним збільшенням у крові і тканинах низки білків з імунологічними, бактерицидними, антиоксидантними та інгібіторними властивостями [1].

Важливе значення в процесі розвитку запальної та імунної реактивності мають цитокіни. Вони є розчинними молекулами, що слугують медіаторами міжклітинних взаємодій у процесі імунної відповіді. Цитокіни регулюють проліферацію, диференціацію і функції клітин крові [2]. До основних продуцентів цитокінів належать Т-клітини і „запальні” макрофаги, а також інші види лейкоцитів, ендотеліоцити, тромбоцити та стромальні клітини [2, 3]. Ці білки діють переважно у вогнищі запалення і в зоні реагуючих лімфоїдних органів. Однак за вираженої запальної реакції деякі види цитокінів – ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-10 можуть концентруватися в крові в достатній кількості для реалізації своїх довгодистантних ефектів. Вони разом з іншими ендокринними факторами сприяють розвитку запальної реактивності системного рівня [4].

Перша стадія системної запальної реакції характеризується продукцією прозапальних медіаторів, які обмежують вогнище пошкодження, руйнують уражені тканини та мікроорганізми, що потрапили в зону запалення. До них відносять – ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-15 та інші. Компенсаторний механізм викиду антизапальних субстанцій (ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-11, ІЛ-13 тощо.), спрямований на обмеження можливої пошкоджуючої дії прозапальних медіаторів [5, 6].

На другій стадії відбувається викид незначної кількості медіаторів у системний кровоток, які здатні активізувати макрофаги, тромбоцити і продукцію гормону росту. Подальший розвиток гострофазної реакції контролюється прозапальними медіаторами і їх ендогенними антагоністами, такими як антагоністи ІЛ-1, ІЛ-10, ІЛ-13, ФНП- $\alpha$ . Завдяки балансу між цитокінами створюються передумови для загоєння ран, знищення патогенних мікроорганізмів, підтримки гомеостазу [7].

Третя стадія характеризується генералізацією запальної реакції. Вона проявляється в домінуванні деструктивних ефектів прозапальних цитокінів і інших медіаторів над гуморальними і нейрогуморальними агентами прозапальної фази. Ці процеси запускаються лише у випадку неспроможності регулюючих систем підтримувати гомеостаз, що призво-

дить до формування віддалених осередків запалення і розвитку моно- і поліорганної дисфункції [7, 8].

За четвертої стадії розвитку компенсаторної протизапальної реакції виникає викид у системний кровоток каскадів протизапальних цитокінів ІЛ-10 і ІЛ-4. Завдяки їм пригнічується секреція макрофагами медіаторів прозапальної фази. Надлишкова, внаслідок грубої дисрегуляції продукція медіаторів антизапальної фази отримала назву „синдром компенсаторної антизапальної відповіді” (CARS–КАЗВ). Основною ознакою якого є зниження (менше 30 % активності) поверхневого комплексу рецепторів моноцитів здатності продукувати ФНП- $\alpha$  і ІЛ-6 у відповідь на пошкодження. Цей синдром є причиною розвитку імунодефіцитного стану, що супроводжується високою вірогідністю прогресування інфекційного процесу або виникнення тяжкої суперінфекції [8, 9].

П'ята стадія – поліорганного пошкодження. Характерна вона розвитком синдрому імунного дисонансу, який проявляється абсолютним дисбалансом в усіх ланках імунної відповіді організму, суттєво збільшуючи ризики несприятливого наслідку [8].

Загалом у гуманній медицині наявна значна кількість робіт [10–15], у яких розглядають значення цитокінів з позицій клініко-патогенетичних критеріїв конкретних нозологічних груп і форм хірургічної патології та інфекції. Водночас як у вітчизняній [16–18], так і зарубіжній [19–24] ветеринарній медицині вони поки що поодинокі.

**Мета дослідження** – встановлення рівнів цитокінів у клінічно здорових корів, свиней і собак, а також у корів з гнійно-некротичними процесами кінцівок.

**Матеріал та методи дослідження. Дизайн дослідження.** Рівні прозапальних цитокінів та протизапального ІЛ-10 визначали у сироватці крові різних видів клінічно здорових тварин, які мають певні клініко-патоморфологічні відмінності у перебігу запальної реакції – корови, свині та собаки. Кожну із цих груп утримували в типових умовах, що здебільшого характерно для північно-центрального регіону країни. Корів 1–1,5 міс. після отелення (n=12) утримували за безприв'язною технологією на молочно-товарній фермі навчально-наукового виробничого центру Білоцерківського НАУ. Корів із цієї ж ферми з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок (n=26) розділили на групи з різними клінічними формами: 1 група (n=8) – гостра форма гнійно-некротичних уражень дистальних кінцівок; 2 група (n=8) – генералізовані ураження з локалізацією гній-

но-некротичних вогнищ у міжпальцевому склепінні, латеральній поверхні заплесневого суглоба і ділянки стегна; 3 група (n=10) – рецидивуючі вогнища у ділянці пальців. Кров для дослідження у корів відбирали із яремної вени у серпні.

У клінічно здорових свиней віком 6–7 міс. (n=10), кров відбирали із венозного очного синуса в жовтні. Цих тварин утримували в типових приміщеннях на свинофермі НВЦ БНАУ.

Кров у собак (n=15), які надходили в клініку дрібних домашніх тварин факультету ветмедицини БНАУ для проведення планової вакцинації, віком 1–2 роки середніх і крупних порід відбирали в період вересня – жовтня.

Дослідження проводили відповідно до вимог IV Європейської конвенції [25] „Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 3447- IV від 21.02.2006 р.).

**Визначення цитокінових профілів.** Імуноферментним методом визначали вміст у сироватці крові інтерлейкінів ФНП-α, ІЛ-1β та ІЛ-10 відповідно до стандартного протоколу з певними модифікаціями [Crowther J. R. The ELISA

Guidebook. Humana Press Inc. 2001. 446 p.]. Заразом вираховували цитокінові індекси – співвідношення протизапального ІЛ-10 до прозапальних та ФНП-α до ІЛ-1β.

**Статистична обробка результатів.** Результати досліджень подані у вигляді таблиць та оброблені за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики на персональному комп’ютері з використанням програми MS Excel.

**Результати дослідження.** Встановлено (табл. 1), що рівень у крові прозапального ФНП-α у клінічно здорових корів становив  $2,8 \pm 0,27$  пг/мл, а протизапального ІЛ-10 був значно вищим –  $9,2 \pm 0,51$  пг/мл, ( $p < 0,001$ ) за співвідношення ІЛ-10:ФНП-α – 3,3:1. Водночас рівень іншого прозапального цитокіна ІЛ-1β виявився в 2,9 рази ( $p < 0,001$ ) меншим, ніж ФНП-α, а співвідношення ІЛ-10:ІЛ-1β склало 9,5:1 (табл. 2).

Водночас співвідношення між рівнями прозапальних цитокінів ФНП-α і ІЛ-1β становило лише 2,9:1. Тобто для великої рогатої худоби за фізіологічної норми притаманний протизапальний цитокіновий профіль, а співвідношення прозапальних цитокінів свідчить про головне значення ФНП-α.

Таблиця 1 – Цитокіновий профіль у клінічно здорових великої рогатої худоби, свиней і собак

Статистичний показник	ФНП-α, пг/мл	ІЛ-1β, пг/мл	ІЛ-10, пг/мл
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення) n=12			
Min–Max	1,9–4,87	0,52–1,4	7,11–11,75
M±m	$2,8 \pm 0,27$	$0,97 \pm 0,09$	$9,2 \pm 0,51$
Клінічно здорові свині n=10, вік 6–7 міс.			
Min–Max	0,89–1,3	0,91–1,9	18,2–20,57
M±m	$1,0 \pm 0,04$	$1,4 \pm 0,12$	$19,4 \pm 0,28$
Клінічно здорові собаки n=15, вік 1–2 роки			
Min–Max	1,50–2,20	7,84–15,79	11,09–23,75
M±m	$1,9 \pm 0,05$	$11,0 \pm 0,64$	$16,8 \pm 0,89$

Таблиця 2 – Цитокінові індекси у клінічно здорових тварин

ІЛ-10: ФНП-α	ІЛ-10:ІЛ-1β	ФНП-α:ІЛ-1β
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення) n=12		
3,3:1	9,5:1	2,9:1
Клінічно здорові свині n=10, вік 6–7 міс.		
19,4:1	13,9:1	0,7:1
Клінічно здорові собаки n=12, вік 1–2 роки		
8,8:1	1,5:1	0,2:1

У клінічно здорових свиней (n=10) ситуація подібна. Зокрема, рівень ІЛ-10 у них виявився у 2,1 раза (p<0,001) вищим, ніж у корів, а ФНП-α навпаки, у 2,8 раза (p<0,001) меншим. Також вищим, ніж у корів, був рівень ІЛ-1β – в 1,4 раза (p<0,001). Причому в свиней протизапальний профіль цитокінів виявився найбільш вираженим, оскільки цитокінові індекси в них досягали значно більших значень: ІЛ-10:ФНП-α – 19,4:1; ІЛ-10:ІЛ-1β – 13,9:1. Однак у свиней за прозапальним цитокіновим індексом 0,7:1 (у корів – 2,9:1) головним серед прозапальних цитокінів є ІЛ-1β.

Концентрація у крові клінічно здорових собак прозапального цитокіну ФНП-α становила 1,9±0,05 пг/мл, одночасно рівень протизапального ІЛ-10 як і у корів та свиней був значно вищим – 16,8±0,89 пг/мл. Цитокіновий індекс між ІЛ-10 і ІЛ-1β в них мав невелике значення – 1,5:1. Ще меншим у собак виявився індекс між ФНП-α і ІЛ-1β, який становив 0,2:1, між ІЛ-10 і ФНП-α – найвищим, 8,8:1. Тобто у собак за фізіологічної норми за сукупністю цитокінових індексів протизапальний цитокіновий

профіль значно нижчий, а серед прозапальних цитокінів превалюючим є значення ІЛ-1β.

У корів з гострим перебігом гнійно-некротичного запального процесу в ділянці пальців (n=8) різко збільшуються концентрації ФНП-α (табл. 3), порівняно з клінічно здоровими тваринами, в 5,6 раза (P<0,001), а ІЛ-1β – в 3,4 раза (P<0,001), за зростання їх індекса в 1,7 раза, до 4,9:1. Водночас рівень протизапального цитокіна ІЛ-10 збільшується лише в 1,8 раза (p<0,05). Відповідно цитокінові індекси, які відображають співвідношення ІЛ-10 з прозапальними цитокінами, зменшуються в 1,8–3 рази (табл. 4).

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 (p<0,001) ІЛ-1β, тимчасом рівень ІЛ-10 залишався незмінним, порівняно з гострою формою. При цьому цитокіновий індекс ІЛ-10:ФНП-α набув критичного значення – 0,4:1, а ІЛ-10 до ІЛ-1β – 1:1. Водночас співвідношення між прозапальними цитокінами було подібним до клінічно здорових тварин.

**Таблиця 3 – Цитокіновий профіль сироватки крові у корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок**

Статистичний показник	ФНП-α, пг/мл	ІЛ-1β, пг/мл	ІЛ-10, пг/мл
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення) n=12			
M±m	1,9–4,87 2,8±0,27	0,52–1,4 0,97±0,09	7,11–11,75 9,2±0,51
Корови з ураженнями кінцівок (1–1,5 міс. після отелення)			
1 група (гостра) n=8			
M±m	12,8–19,7 15,7±0,82***	1,5–5,68 3,2±0,51 ***	7,9–27,9 16,6±2,78*
2 група (генералізована) n=8			
M±m	21,04–64,8 47,1±5,10***	13,6–22,7 17,3±1,18***	8,4–21,64 16,8±1,85***
3 група (рецидивуючі) n=10			
M±m	11,09–54,28 35,3±5,42***	0,52–6,22 2,3±0,60*	2,7–13,6 9,1±1,19

**Примітка.** Значення p: \* – <0,05; \*\* – <0,01; \*\*\* – <0,001, порівнюючи з клінічно здоровими коровами.

**Таблиця 4 – Цитокінові індекси у корів з гнійно-некротичними ураженнями кінцівок**

ІЛ-10: ФНП-α	ІЛ-10:ІЛ-1β	ФНП-α:ІЛ-1β
Клінічно здорові корови (1–1,5 міс. після отелення), n=12		
3,3:1	9,5:1	2,9:1
Корови з ураженнями кінцівок (1–1,5 міс. після отелення)		
1 група (гостра), n=8		
1,1:1	5,2:1	4,9:1
2 група (генералізована), n=8		
0,4:1	1,0:1	2,7:1
3 група (рецидивуючі), n=10		
0,3:1	4,0:1	15,6:1

Рецидивуючий тип гнійно-некротичних уражень кінцівок у корів 3-ї групи (n=10) характеризувався досить низькими рівнями ІЛ-1 $\beta$  та особливо ІЛ-10. Якщо останній фактично не відрізнявся від показника клінічно здорових корів, то вміст ІЛ-1 $\beta$  був більшим у 2,4 раза (p<0,05). Проте концентрація ФНП- $\alpha$  залишалася досить великою і переважала показник норми в 12,6 раза (p<0,001), що відобразилося на надзвичайно низькому відповідному індексі 0,3:1.

Спрямованих досліджень щодо визначення нормативних показників вмісту різних сімейств цитокінів у сироватці крові обмаль, оскільки їх проводять різних виробників, а тому їх зіставлення не завжди може бути коректним. Водночас співвідношення між концентраціями про- і протизапальними цитокінами дозволяє встановити цитокінові профілі у тварин різних видів.

Ймовірно, потужний протизапальний цитокіновий профіль у жуйних і особливо у свиней є однією із визначальних видових особливостей запальної реакції – масивної фібринозної ексудації.

**Обговорення.** Для встановлення рівнів цитокінів в сироватці крові клінічно здорових корів, свиней і собак було обрано низку головних представників трьох сімейств цитокінів: фактора некрозу пухлин- $\alpha$ ; інтерлейкіна-1 $\beta$  та інтерлейкіна-10. Зокрема, фактор некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) належить до групи прозапальних цитокінів, які продукуються макрофагами і моноцитами. Він забезпечує антиінфекційний та протипухлинний захист, регулювання імунних процесів і бере участь у процесах запальної альтерації та індукції проліферації тканин. ІЛ-1 $\beta$ , який належить до головних прозапальних цитокінів, зумовлює посилення продукції печінкою гострофазних білків і простогландинів. Водночас ІЛ-10, як протизапальний цитокін, виконує функцію гальмування продукції зазначених вище цитокінів [26–30].

Згідно з результатами аналізу отриманих даних встановлено, що для клінічно здорової великої рогатої худоби притаманний протизапальний цитокіновий профіль, а провідне значення належить прозапальному цитокіну ФНП- $\alpha$ . Паралельно вдалося встановити майже аналогічну картину у здорових свиней, у яких значення прозапального цитокінового індексу становило 0,7:1 (у корів – 2,9:1) і перевага належить прозапальному цитокіну ІЛ-1 $\beta$ . У собак за фізіологічної норми протизапальний цитокіновий профіль є значно нижчим, а серед активності прозапальних цитокінів головне значення належить ІЛ-1 $\beta$ . У корів рівень запального цитокіна ІЛ-1 $\beta$  виявився в 2,9

раза (p<0,001) меншим, ніж ФНП- $\alpha$ , а співвідношення ІЛ-10:ІЛ-1 $\beta$  склало 9,5:1. Водночас співвідношення між рівнями прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$  і ІЛ-1 $\beta$  становило лише 2,9:1. В клінічно здорових свиней, рівень ІЛ-10 виявився у 2,1 раза (p<0,001) вищим, ніж у корів, а ФНП- $\alpha$  навпаки, у 2,8 раза (p<0,001) меншим. Також вищим, ніж у корів виявився рівень ІЛ-1 $\beta$  – в 1,4 раза (p<0,001). Цитокіновий індекс між ІЛ-10 і ІЛ-1 $\beta$  у крові здорових собак не досяг великого значення – 1,5:1. Ще меншим у собак виявився індекс між ФНП- $\alpha$  і ІЛ-1 $\beta$ , який становив 0,2:1, між ІЛ-10 і ФНП- $\alpha$  – найвищим, 8,8:1. Загалом співвідношення між концентраціями про- і протизапальними цитокінами дозволяє встановити цитокінові профілі у тварин різних видів.

Щодо корів з гострим перебігом гнійно-некротичного запального процесу в ділянці пальців (n=8), то у них різко збільшуються концентрації ФНП- $\alpha$  у порівнянні з клінічно здоровими тваринами, в 5,6 раза (P<0,001), а ІЛ-1 $\beta$  – в 3,4 раза (P <0,001), за зростання їх індекса в 1,7 раза, до 4,9:1. При цьому рівень протизапального цитокіна ІЛ-10 збільшується лише в 1,8 раза (p<0,05). Цитокінові індекси, які відображають співвідношення ІЛ-10 з прозапальними цитокінами, зменшуються в 1,8–3 рази. Тобто в умовах гострих гнійно-некротичних процесів у ділянці пальців у корів набуває розвитку потужна прозапальна цитокінемія, яка недостатньою мірою компенсується протизапальними цитокінами, що створює умови до пошкодження місцевих біологічних бар'єрів.

За генералізованої форми некробактеріозних уражень у тварин 2-ї групи (n=8) відмічалося критичне збільшення рівня в крові ФНП- $\alpha$  у 16,8 раза, та в 17,8 раза (p<0,001) ІЛ-1 $\beta$ , тимчасом рівень ІЛ-10 залишався незмінним, порівняно з гострою формою. При цьому цитокіновий індекс ІЛ-10:ФНП- $\alpha$  набув критичного значення – 0,4:1, а ІЛ-10 до ІЛ-1 $\beta$  – 1:1. Отже, за генералізованої форми гнійно-некротичних уражень кінцівок некробактеріозного походження розвивається неконтрольована флогенна цитокінемія, що патогенетично відображає синдром системної запальної відповіді.

За рецидивуючого типу гнійно-некротичних уражень кінцівок у корів 3-ї групи (n=10) відмічалося зростання у 2,4 раза (p<0,05) вмісту ІЛ-1 $\beta$ . Проте концентрація ФНП- $\alpha$  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 цьому випадку за хронічного перебігу некробактеріозних уражень кінцівок у корів формується некомпенсована перманент-

на цитокінемія через ФНП-а, що зумовлює рецидивуючий прояв гнійно-некротичного процесу.

**Висновки.** 1. У клінічно здорових великої рогатої худоби, свиней і собак цитокіновий статус характеризується різним типом співвідношення протизапальних і прозапальних цитокінів з виразним протизапальним цитокіновим профілем у жуйних і особливо у свиней, що, ймовірно, є однією із визначальних видових особливостей запальної реакції – масивної фібринозної ексудації.

2. У корів з гострими гнійно-некротичними процесами кінцівок переважає потужна прозапальна цитокінемія, для генералізованої форми властива неконтрольована флогогенна цитокінемія, а у тварин з рецидивуючим типом формується некомпенсована перманентна цитокінемія.

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори засвідчують відсутність конфлікту інтересів між собою.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Фомин В.В., Козловская Л.В. С-реактивный белок и его значение в кардиологической практике. Журн. доказательной медицины для практикующих врачей. 2003. Т. 5. № 5. С. 237–242.
2. Balkwill F. Cytokine amplification and inhibition on immune and inflammatory responses. J. Vira Hepatitis. 1997. no. 4. Suppl. 2.
3. Mainous M., Ertel W., Chaudary I. The gut: a cytokine -generating organ in systemic inflammation. Shock. 1995. no. 3.
4. Нікітін С.В., Чабан Т.В., Сервецький С.К. Сучасні уявлення про систему цитокінів. Інфекційні хвороби. 2007. 21(2). С. 64–69. DOI:10.11603/1681-2727.2007.2.1038
5. Basso F.G., Pansani T.N., Turrioni A.P.S., Soares D. G. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, and IL-8 impair in vitro migration and induce apoptosis of gingival fibroblasts and epithelial cells, delaying wound healing. J. Periodontol. 2016. 87. P. 990–996. DOI:10.1902/jop.2016.150713.
6. Blockade of the kallikrein-kinin system reduces endothelial complement activation in vascular inflammation E Bio Medicine September 2019/L. Ingrid et al. P. 319–328.
7. Cellular Biology of Fracture Healing. Published by Wiley Periodicals, Inc/S.B. Chelsea et al. J Orthop Res. 2019. 37(2). P. 35–50. DOI:10.1002/jor.24170
8. Chan K.F., Siegel M.R., Lenardo J.M. Signaling by the TNF receptor superfamily and T cell homeostasis. Immunity. 2000.13. P. 419–422.
9. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. Annu. Rev. Immunol. 2001.19. P. 683–765.
10. Wang R., Zhang T., Ma Z., Wang Y. The interaction of coagulation factor XII and monocyte/macrophages mediating peritoneal metastasis of epithelial ovarian cancer. Gynecol Oncol. 2010. 117. P. 460–466. DOI:10.1016/j.ygyno.2010.02.015.
11. Vorlova S., Koch M., Manthey H.D, Cochain C. Coagulation factor XII induces pro-inflammatory cytokine responses in macrophages and promotes atherosclerosis in mice. Thromb Haemost. 2017. 117. P. 176–187. DOI:10.1160/TH16-06-0466.
12. Mahdi F., Madar Z.S., Figueroa C.D., Schmaier A.H. Factor XII interacts with the multiprotein assembly of urokinase plasminogen activator receptor, gC1qR, and cytokeratin 1 on endothelial cell membranes. Blood. 2002. 99. P. 3585–3596. DOI:10.1182/blood.V99.10.3585.
13. Lyashenko A.A., Uvarov V.Yu. About systematization of cytokines. Успехи совр. Биологии. 2001. Vol. 121. no. 6. P. 589–603.
14. Лобанов С.Л., Цыбиков Н.Н., Ханина Ю.С. Динамика провоспалительных цитокинов при ферментативном панкреатогенном перитоните. Забайкальский медицинский вестник. 2012. № 1. С. 81–85.
15. Кнорринг Г.Ю. Цитокиновая сеть как мишень системной энзимотерапии. Цитокины и воспаление. 2005. Том 4. № 4. С. 45–49.
16. Рубленко М.В. Патогенетичні особливості запальної реакції у свиней при хірургічних хворобах та методи їх лікування: автореф. дис. ... докт. вет. наук: спец. 16.00.05. Біла Церква, 2000. 36 с.
17. Рубленко М.В., Мельников В.В. Цитокіновий статус свиней з хірургічною патологією. X міжнародний конгрес спеціалістів ветеринарної медицини: матеріали конгресу. 2012. С. 153–154.
18. Рубленко М.В., Мельников В.В. Цитокіновий профіль у корів з некробактеріозними ураженнями пальців. Науковий вісник ветеринарної медицини. Біла Церква, 2020. Вип. 1 (154). С. 121–128.
19. Novel Natural Bovine Bone Graft with Integrated Atelo-Collagen Type I: Atelocollagen Bovine Bone Mineral (ABBM) Characterization *In-vivo*/M. Abd El Raouf et al. Periodontics and Prosthodontics. 2017. 3(1). DOI:10.21767/2471-3082.100029
20. Kołodziejska-Sawerska A., Rychlik A., Depsta A., Wdowiak M. Cytokines in canine inflammatory bowel disease. Pol J Vet Sci. 2013. 16. P. 165–171.
21. Haaland P.J., Sjostorm L., Devor M., Haug A. Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology. 2009. 22(4). P. 309–315. DOI:10.3415/VCO08-05-0044
22. Appendicular fractures of traumatic etiology in dogs: 955 cases (2004-2013)/ R.N. Libardoni et al. Ciência Rural. 2016. 46(3). P. 542–546. DOI:10.1590/0103-8478cr20150219
23. Balaji S., King A., Marsh E., Le Saint. The role of interleukin-10 and hyaluronan in murine fetal fibroblast function *in Vitro*: implications for recapitulating fetal regenerative wound healing. 2015.
24. Cytokines as immunological markers for systemic inflammation in dogs with pyometra/I. Karlsson et al. Reprod Domest Anim. 2012. 47. P. 337–341. DOI: 10.1111/rda.12034.

24. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: council of Europe. Strasbourg. 1986. no. 123. 52 p.

25. Власенко В.М., Козий В.И. Роль этологических, морфометрических и воспалительных факторов в патогенезе подошвенных язв у высокопродуктивных коров: материалы международной научно-практической конференции „Современные проблемы ветеринарной хирургии” 2004 г.: тезисы докл. Санкт-Петербург, 2004. С. 16–17.

26. Чернозуб М.П., Тихонюк Л.А., Нагорний В.В. Малоінвазивний оперативний метод лікування корів при зміщенні сичуга вліво. Вет. медицина України. 2008. № 6. С. 29–32.

27. Морозов М. Епізоотологія кератокон'юнктивітів великої рогатої худоби в господарствах півдня України. Ветеринарна медицина України. 1999. № 5. С. 12–13.

28. Елисеєв А.Н. Травматизм свиней, профілактика, лечение. Ветеринария. 2011. № 7. С. 43–46.

29. Рубленко М.В., Ільницький М.Г. Розповсюдження хірургічної патології у свиней при утриманні на різних підлогах. Неінфекційна патологія тварин: наук.-практ. конф., 7–8 червня 1995 р.: тези доп. Біла Церква, 1995. С. 188–190.

#### REFERENCES

1. Fomin, V.V., Kozlovskaja, L.V. (2003). S-reaktivnyj belok i ego znachenie v kardiologicheskoj praktike [C-reactive protein and its importance in cardiology practice]. Zhurn. dokazatel'noj medicyny dlja praktikujushhih vrachej [Journal. evidence-based medicine for practitioners], Vol. 5, no. 5, pp. 237–242.

2. Balkwill, F. (1997). Cytokine amplification and inhibition on immune and inflammatory responses. *J. Vira Hepatitis*, no. 4, Suppl. 2.

3. Mainous, M., Ertel, W., Chaudary, I. (1995). The gut: a cytokine-generating organ in systemic inflammation. *Shock*. no. 3.

Nikitin, E.V., Chaban, T.V., Servetskyi, S.K. (2007). Suchasni ujavlennja pro systemu cytokiniv [Modern ideas about the cytokine system]. *Infekcijnі hovoroby [Infectious diseases]*. 21(2), pp. 64–69. DOI:10.11603/1681-2727.2007.2.1038

4. Basso, F.G., Pansani, T.N., Turrioni, A.P.S., Soares, D.G. (2016). Tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, and IL-8 impair in vitro migration and induce apoptosis of gingival fibroblasts and epithelial cells, delaying wound healing. *J. Periodontol*, 87, pp. 990–996. DOI:10.1902/jop.2016.150713.

5. Ingrid, L., Fagerströma, Anne-lie., Ståhla Maria, M., Ramesh, T., Ann-Charlotte, K., Kahnab, R., Jean-Loup, B., Kleinde, J., Joost, P.S., Segelmarkfg, M., Karpmana, D. (2019). Blockade of the kallikrein-kinin system reduces endothelial complement activation in vascular inflammation *E Bio Medicine*. pp. 319–328.

6. Chelsea, S.B., Robert, L.Z., Patrick, A., Alekos, T., Jason, W.A., Jaimo, A., Theodore, M., Ralph, S.M., Kurt, D.H. (2019). *Cellular Biology of Fracture Healing*. Published by Wiley Periodicals, Inc. *J Orthop Res.*, 37(2), pp. 35–50. DOI:10.1002/jor.24170

7. Chan, K.F., Siegel, M.R., Lenardo, J.M. (2000). Signaling by the TNF receptor superfamily and T cell homeostasis. *Immunity*. 13, pp. 419–422.

8. Moore, K.W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu. Rev. Immunol.* 19, pp. 683–765.

9. Wang, R., Zhang, T., Ma, Z., Wang, Y. (2010). The interaction of coagulation factor XII and monocyte/macrophages mediating peritoneal metastasis of epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 117, pp. 460–466. DOI:10.1016/j.ygyno.2010.02.015.

10. Vorlova, S., Koch, M., Manthey, H.D., Cochain, C. (2017). Coagulation factor XII induces pro-inflammatory cytokine responses in macrophages and promotes atherosclerosis in mice. *Thromb Haemost.* 117, pp. 176–187. DOI:10.1160/TH16-06-0466.

11. Mahdi, F., Madar, Z.S., Figueroa, C.D., Schmaier, A.H. (2002). Factor XII interacts with the multiprotein assembly of urokinase plasminogen activator receptor, gC1qR, and cytokeratin 1 on endothelial cell membranes. *Blood*. 99, pp. 3585–3596. DOI:10.1182/blood.V99.10.3585.

12. Lyashenko, A.A., Uvarov, V.Yu. (2001). About systematization of cytokines. *Uspehi sov. Biologii [The successes of modern biology]*. Vol. 121, no. 6, pp. 589–603.

13. Lobanov, S.L., Tsybikov, N.N., Khanina, Yu.S. (2012). Dinamika provospalitel'nyh citokinov pri fermentativnom pankreatogennom peritonite [Proinflammatory cytokines dynamics in enzyme pancreatogenic peritonitis]. *Zabaikalskiy medicinskiy vestnik [Transbaikal Medical Bulletin]*. no. 1, pp. 81–85.

14. Knorring, G.Yu. (2005). Citokinovaja set' kak mishaen' sistemnoj jenzimoterapii [Cytokine network as a target of systemic enzyme therapy]. *Cytokini i vospalenie [Cytokines and inflammation]*. Vol. 4, no. 4, pp. 45–49.

15. Rublenko, M.V. (2000). Pathogenetic features of the inflammatory reaction in pigs with surgical diseases and methods of their treatment: autoref. thesis ... *Dr. Vet. Sciences: specialist 16.00.05.* [Pathogenetic features of the inflammatory reaction in pigs with surgical diseases and methods of their treatment: autoref. thesis ... *Dr. Vet. Sciences: specialist 16.00.05.*]. Bila Tserkva, 36 p.

16. Rublenko, M.V., Melnikov, V.V. (2012). Cytokinovyj status svynej z hirurgichnoju patologijeju. [Cytokine status of pigs with surgical pathology]. X mizhnarodnyj kongres specialistiv veterynarnoi' medycyny: materialy kongresu [X International Congress of Veterinary Medicine Specialists: Proceedings of the Congress]. pp. 153–154.

17. Rublenko, M.V., Melnikov, V.V. (2020). Cytokinovyj profil' u koriv z nekrobakteriozyny urazhenjamy pal'civ [Cytokine profile in cows with necrobacterial toe lesions]. *Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]*. Bila Tserkva, Issue 1 (154), pp.121–128.

18. Abd El Raouf, M., Zhang, Y., Serrano, J.C., Miron, R.J. (2017). Novel Natural Bovine Bone Graft with Integrated Atelo-Collagen Type I: Atelocollagen Bovine Bone Mineral (ABBM) Characterization In-vivo. *Periodontics and Prosthodontics*. 3(1). DOI:10.21767/2471-3082.100029

19. Kołodziejewska-Sawerska, A., Rychlik, A., Depta, A., Wdowiak, M. (2013). Cytokines in canine inflammatory bowel disease. *Pol J Vet Sci*. 16, pp. 165–171.

20. Haaland, P.J., Sjostorm, L., Devor, M., Haug, A. (2009). Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 22(4), pp. 309–315. DOI:10.3415/VCOTO8-05-0044

21. Libardoni, R.N., Serafini, G.M.C., Oliveira, C., Schimites, P.I., Chaves, R. O., Feranti, J.P.S., Costa, C.A.S., Amaral, A.S., Raiser, A.G., Soares, A.V. (2016). Appendicular fractures of traumatic etiology in dogs: 955 cases (2004-2013). *Ciência Rural*. 46(3), pp. 542–546. DOI:10.1590/0103-8478cr20150219

22. Balaji, S., King, A., Marsh, E., Le, S. (2015). The role of interleukin-10 and hyaluronan in murine fetal fibroblast function *in Vitro*: implications for recapitulating fetal regenerative wound healing.

23. Karlsson, I., Hagman, R., Johannisson, A., Wang, L., Karlstam, E. (2012). Cytokines as immunological markers for systemic inflammation in dogs with pyometra. *Reprod Domest Anim*. 47, pp. 337–341. DOI:10.1111/rda.12034.

24. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: council of Europe. Strasbourg. 1986, no. 123, 52 p.

25. Vlasenko, V.M., Koziy, V.I. (2004). Rol' jehnologicheskikh, morfometricheskikh i vospalitel'nykh faktorov v patogeneze podoshvennykh jazv u vysokoproduktivnykh korov: materialy mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii „Sovremennye problemy veterinarnoy hirurgii” 2004 g.: tezisy dokl. [The role of ethological, morphometric and inflammatory factors in the pathogenesis of plantar ulcers in highly productive cows: materials of the international scientific-practical conference "Modern problems of veterinary surgery" 2004: abstracts]. St. Petersburg, pp.16–17.

26. Chornozub, M.P., Tikhonyuk, L.A., Nagornyi, V.V. (2008). Maloinvazyvnyj operatyvnyj metod likuvannja koriv pry zmishhenni sychuga vliivo [A minimally invasive operative method of treating cows with a shift of the rennet to the left]. *Vet. medycyna Ukrainy [Vet. medicine of Ukraine]*. no. 6, pp. 29–32.

27. Morozov, M. (1999). Epizootologija keratokon'junktyvitiv velykoi' rogatoi' hudoby v gospodarstvah pivdnja Ukrainy [Epizootology of cattle keratoconjunctivitis in the farms of southern Ukraine]. *Veterynarna medycyna ukrainy [Veterinary medicine of Ukraine]*. no. 5, pp. 12–13.

28. Eliseev, A.N. (2011). Travmatizm svinej, profilaktika, lechenie [Pig injuries, prevention, treatment]. *Veterinarija [Veterinary]*. no. 7, pp. 43–46.

29. Rublenko, M.V., Ilnitskyi, M.G. (1995). Rozpovsjudzhennja hirurgichnoi' patologii' u svynej pry utrymanni na riznyh pidlogah [Distribution of surgical pathology in pigs kept on different floors]. *Neinfekcijnna patologija tvaryn: nauk.-prakt. konf., 7–8 chervnja 1995 r.: tezy dop. [Non-infectious pathology of animals: science and practice. conference, June 7-8, 1995: abstracts]*. Bila Tserkva, pp. 188–190.

### Cytokine levels in clinically healthy cows, pigs and dogs

**Melnikov V., Rublenko M., Ilnitskyi M.**

One of the typical and mandatory reactions of the body to trauma or infectious agents for damage to any tissues and organs is the acute phase reaction, which is an induced increase in the synthesis followed by an increase in the blood and tissues of a number of proteins with immunological, bactericidal, antioxidant and inhibitory functions.

The purpose of the study is to determine the levels of cytokines in clinically healthy cows, pigs and dogs, as well as in cows with purulent-necrotic processes of the limbs.

The levels of pro-inflammatory cytokines and anti-inflammatory IL-10 were determined in blood serum of cows, pigs and dogs. Cows with purulent-necrotic lesions of the limbs (n=26) were divided into: 1st group (n=8) – acute form of purulent-necrotic lesions of the distal limbs; 2nd group (n=8) – generalized lesions; group 3 (n=10) – recurrent foci in the area of the fingers. The content of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-10 interleukins in blood serum was determined by the immunoenzymatic method according to the standard protocol.

It was established that the blood levels of pro-inflammatory TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in clinically healthy cows are significantly lower than anti-inflammatory IL-10, for the ratio of IL-10:TNF- $\alpha$  – 3.3:1, and IL-10: IL-1 $\beta$  – 9.5:1, therefore, for cattle under physiological norms, an inherent anti-inflammatory cytokine profile.

In clinically healthy pigs, the anti-inflammatory cytokine profile turned out to be the most pronounced, as the cytokine indices in them were significantly higher: IL-10:TNF- $\alpha$  – 19.4:1; IL-10:IL-1 $\beta$  – 13.9:1.

In the blood of clinically healthy dogs, the cytokine indices between IL-10:IL-1 $\beta$  are extremely low – 1.5:1, TNF- $\alpha$  : IL-1 $\beta$  – 0.2:1, even lower, and between IL-10:TNF- $\alpha$  – 8.8:1, and therefore the anti-inflammatory cytokine profile is much lower according to the totality of cytokine indices.

In cows with an acute form of necrobacteriosis, compared with clinically healthy animals, the level of TNF- $\alpha$  in the blood is 5.6 times higher (P<0.001), and IL-1 $\beta$  is 3.4 times higher (P<0.001), due to their increase index by 1.7 times, up to 4.9:1. Under such

conditions, the level of IL-10 increases only 1.8 times ( $p < 0.05$ ).

Animals with the generalized form are characterized by a critical increase in the blood level of TNF- $\alpha$  by 16.8 times and IL-1 $\beta$  by 17.8 times ( $p < 0.001$ ), while the level of IL-10 remains unchanged compared to the acute form. Cytokine index IL-10:TNF- $\alpha$  acquires a critical value - 0.4:1, and IL-10 to IL-1 $\beta$  - 1:1. In animals with recurrent lesions, low levels of IL-1 $\beta$ , especially IL-10, are characteristic. However, the con-

centration of TNF- $\alpha$  remains quite high and exceeds the normal value by 12.6 times ( $p < 0.001$ ).

Therefore, various clinical forms of necrobacterial lesions of the limbs in cows have a compensatory or non-compensatory nature of cytokinemia, with an imbalance of the functionality of acute-phase proteins due to the insufficient capacity of the inhibitory potential of sick cows.

**Key words:** cows, pigs, dogs, cytokines, serum, clinically healthy animals, inflammation.



Copyright: Мельніков В.В., Рубленко М.В., Ільницький М.Г. © 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.



ORCID iD:

Мельніков В.В.

Рубленко М.В.

Ільницький М.Г.

<https://orcid.org/0000-0001-9690-9531>

<https://orcid.org/0000-0001-6130-6001>

*Наукове видання*

**Науковий вісник ветеринарної медицини**

*Збірник наукових праць*

**Випуск 2 (176) 2022**

*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 60x84<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Ум. др. арк. 13,95. Зам. .... Тираж 300.

Підписано до друку 27.12.2022 р.

Видавець і виготовлювач:

Білоцерківський національний аграрний університет,

09117, Біла Церква, Соборна площа, 8/1, тел. 33-11-01,

e-mail: [redakciaviddil@ukr.net](mailto: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.