

НАУКОВИЙ ВІСНИК

ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ

Збірник наукових праць

Виходить 2 рази на рік
Заснований 03.03.2009 року

Випуск 2 (152) 2019

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

Збірник розглянуто і затверджено до друку рішенням Вченої ради БНАУ
(Протокол № 15 від 11.12.2019 р.)

Збірник наукових праць «Науковий вісник ветеринарної медицини» є фаховим виданням з ветеринарної медицини (наказ Міністерства освіти і науки України від 06.11.2014 р. №1279) і є продовженням «Вісника Білоцерківського державного аграрного університету», започаткованого 1992 року. Збірник представлено на порталі Національної бібліотеки України ім. В.І. Вернадського, включено до міжнародних наукометричних баз *Index Copernicus*, *Google Scholar*, *Crossref*, РІНЦ.

Редакційна колегія:

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

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

Члени редакційної колегії:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ніщенко 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, Словачька Республіка

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

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

Селюк Х.Б., д-р філософії, проф., Університет Афійон Косатепе, Афійон-Карахісар, Туреччина

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

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

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

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

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

Editorial board:

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

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

Members of editorial board:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Marchuk V.V., PhD, Ass. Prof., Bila Tserkva NAU, Bila Tserkva, Ukraine

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

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

Редакционная коллегия:

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

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

Члены редакционной коллегии:

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

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

ЗМІСТ

АКУШЕРСТВО І БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

Кацемба Н.В., Скларов П.М. Методи визначення оптимального часу осіменіння у нутрій.....	6
Черкавський С.В., Власенко С.А., Єрошенко О.В. Ультразвуковий контроль за перебігом післяродового періоду та діагностика акушерської патології у сук.....	12

ВЕТЕРИНАРНА ГІГІЄНА

Тишківська Н.В., Тишківська А.М. Використання MALDI-TOF мас-спектрометрії у ветеринарній мікології.....	20
--	----

ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

Рубленко І.О., Рубленко С.В. Визначення ефективності методик виділення спор збудника <i>Bacillus anthracis</i> із ґрунту.....	29
Subbotina I., Andamov I., Bakyev B., Kuprijanov I., Safar-zadeh Hamid Rafik ogly. Communicable diseases common to man and animals – current state of the problem (Хвороби, спільні для людини і тварин – сучасний стан проблеми).....	36

ПАЗИТАРНІ ХВОРОБИ

Авраменко Н.В., Козій Н.В., Шаганенко Р.В., Шаганенко В.С. Комплексне лікування великої рогатої худоби за фасціольозу.....	46
Дуда Ю.В. Неспецифічна резистентність організму кролів за впливу збудника пасалурозу.....	53
Гончаров С.Л. Вплив деяких біотичних та абіотичних чинників на стан паразитофауни гідробіонтів природних водоемів Півдня України.....	60

ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

Антоненко П.П., Сулова Н.І., Семьонов О.В., Лисенко О.І. Кардіопротекторна дія препаратів Кардіофіл та Фітохол за умов експериментальної гіпотермії у щурів.....	71
Анфьорова М.В., Брошков М.М., Данчук О.В. Співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят у постнатальний період розвитку.....	81

ТЕРАПІЯ ТА КЛІНІЧНА ДІАГНОСТИКА

Melnyk A., Bezukh V., Dubin O., Moskalenko V., Vovkotrub N., Bogatko L., Tyshkivsky M. Hemocytopenia and microelements metabolism's indices in calves under the influence of national vitamin-amino-acid complex (Показники гемоцитопенії та обмін мікроелементів у телят за впливу вітчизняного вітамінно-амінокислотного комплексу).....	88
---	----

ХІРУРГІЯ

Івашків Б.Б., Мисак А.Р., Хомин Н.М., Прицак В.В. Моніторинг поширення спонтанних неоплазій у собак в умовах м. Львів та в приміській зоні обласного центру.....	97
Sevchenko S., Rublenko M., Bonkovsky O. Technologies for producing platelet masses for regenerative medicine (Технології одержання тромбоцитарних мас для регенеративної медицини).....	105

CONTENT

OBSTETRICS AND BIOTECHNOLOGY REPRODUCTION

Katsemba N., Sklyarov P. Methods for determining optimal insemination time in nutrients.....	6
Cherkavskiy S., Vlasenko S., Yrochenko O. Ultrasonic control over the course of the postnatal period and diagnosis of obstetric pathology in the bitches.....	12

VETERINARY HYGIENE

Tyshkivskaya N., Tyshkivskaya A. Use of Maldi-TOF mass spectrometry in veterinary mycology.....	20
--	----

EPISOOTOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES

Rublenko I., Rublenko S. Determination of efficiency of the methods for isolating <i>Bacillus anthracis</i> pathogen spores from soil.....	29
Subbotina I., Andamov I., Bakyev B., Kuprijanov I., Safar-zadeh Hamid Rafik ogly. Communicable diseases common to man and animals – current state of the problem.....	36

PARASITARY DISEASES

Avramenko N., Kozii N., Shahanenko R., Shahanenko V. Integrated treatment of cattle in fasciolosis.....	46
Duda Y. Nonspecific resistance of the rabbits organism in case of passalurosis.....	53

Honcharov S. The influence of the biotic and abiotic factors on the state of the parasitic fauna of the hydrobionts in natural waters of the Southern Ukraine.....	60
---	----

PHYSIOLOGY, PATHOLOGICAL PHYSIOLOGY AND MORPHOLOGY

Antonenko P., Suslova N., Semenov A., Lysenko A. Cardioprotective effect of cardiophilic and phytochol preparations under experimental hypothermia in rats	71
Anfiorova M., Broshkov M., Danchuk O. The ratio of erythrocyte populations in the blood of puppies during postnatal oxidative stress.....	81

THERAPY AND CLINICAL DIAGNOSTICS

Melnyk A., Bezukh V., Dubin O., Moskalenko V., Vovkotrub N., Bogatko L., Tyshkivsky M. Hemocytopenesis and microelements metabolism's indices in calves under the influence of national vitamin-amino-acid complex	88
---	----

SURGERY

Ivashkiv B., Mysak A., Khomyn N., Pritsak V. Monitoring of spontaneous neoplasia distribution in dogs in the conditions of Lviv and in the suburban area of the regional center.....	97
Sevchenko S., Rublenko M., Bonkovsky O. Technologies for producing platelet masses for regenerative medicine	105

СОДЕРЖАНИЕ

АКУШЕРСТВО И БИОТЕХНОЛОГИЯ ВОСПРОИЗВОДСТВА

Кацемба Н.В., Скляр П.Н. Методы определения оптимального времени осеменения у нутрий	6
Черкавский С.В., Власенко С.А., Ерошенко О.В. Ультразвуковой контроль за течением послеродового периода и диагностика акушерской патологии у сук.....	12

ВЕТЕРИНАРНАЯ ГИГИЕНА

Тышківська Н.В., Тышківська А.М. Использование Maldi-TOF масс-спектрометрии в ветеринарной микологии.....	20
--	----

ЭПИЗООТОЛОГИЯ И ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Рубленко И.А., Рубленко С.В. Определение эффективности методики выделения спор возбудителя <i>Bacillus anthracis</i> с почвы.....	29
Subbotina I., Andamov I., Bakayev B., Kuprijanov I., Safar-zadeh Hamid Rafik ogy. Communicable diseases common to man and animals - current state of the problem (Болезни, общие для человека и животных – современное состояние проблемы)	36

ПАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ

Авраменко Н.В., Козий Н.В., Шаганенко Р.В., Шаганенко В.С. Комплексное лечение крупного рогатого скота при фасциозе.....	46
Дуда Ю.В. Неспецифическая резистентность организма кроликов под влиянием возбудителя пассалуроза.....	53
Гончаров С.Л. Влияние некоторых биотических и абиотических факторов на состояние паразитофауны гидробионтов естественных водоёмов Юга Украины	60

ФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И МОРФОЛОГИЯ

Антоненко П.П., Суслова Н.И., Семёнов А.В., Лысенко А.И. Кардиопротекторное действие препаратов Кардиофил и Фитохол в условиях экспериментальной гипотермии у крыс.....	71
Анфёрова М.В., Брошков Н.Н., Данчук А.В. Соотношение популяций эритроцитов в крови щенков в постнатальный период развития.....	81

ТЕРАПИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

Melnyk A., Bezukh V., Dubin O., Moskalenko V., Vovkotrub N., Bogatko L., Tyshkivsky M. Hemocytopenesis and microelements metabolism's indices in calves under the influence of national vitamin-amino-acid complex (Показатели гемоцитопоза и обмен микроэлементов у телят под влиянием отечественного витаминно-аминокислотного комплекса)	88
--	----

ХИРУРГИЯ

Ивашків Б.Б., Мисак А.Р., Хомин Н.М., Прицак В.В. Мониторинг распространения спонтанных неоплазий у собак в условиях г. Львов и в пригородной зоне областного центра	97
Sevchenko S., Rublenko M., Bonkovsky O. Technologies for producing platelet masses for regenerative medicine (Технологии получения тромбоцитарных масс для регенеративной медицины)	105

АКУШЕРСТВО І БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

УДК 636.932.3.082.454

Методи визначення оптимального часу осіменіння у нутрій (оглядова стаття)

Кацемба Н.В. , Скліаров П.М. 

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

 E-mail: nadyaredmi3@gmail.com, skliarov.p.m@dsau.dp.ua



Кацемба Н.В., Скліаров П.М. Методи визначення оптимального часу осіменіння у нутрій. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 6–11.

Kacemba N.V., Skliarov P.M. Metody vyznachennja optymal'nogo chasu osimeninnja u nutrij. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 6–11.

Рукопис отримано: 06.09.2019р.
Прийнято: 07.10.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-6-11

Реалізація державної аграрної політики передбачає створення сучасних технологій виробництва продукції на основі принципово нових теоретично-практичних досліджень та науково-технічних рішень, які забезпечать динамічний розвиток різних галузей тваринництва. Низька собівартість утримання, висока репродуктивність, стійкість до захворювань різної етіології – саме ті критерії якості, яким відповідає нутривництво.

Нутрії – рослиноїдні, багатоплідні поліциклічні тварини, які можуть розмножуватися протягом усього року, поєднуючи періоди лактації та вагітності. Таким чином за мінімальних затрат кормової бази, господарства мають змогу отримувати високі прибутки. Розведення нутрій є економічно ефективним та потребує більш детального вивчення і розповсюдження даної галузі по всій території України.

За розведення нутрій в умовах закритих приміщень на 20–30 % знижується відтворна здатність молодих самок. Дослідження у напрямку відтворної функції самок нутрій майже не проводять, тому вивчення цього питання на сьогодні є актуальним.

Проведений аналіз методів діагностики оптимального часу осіменіння у нутрій, враховуючи їх недоліки та зручність використання дозволив встановити, що методи, які використовували до 2000-х років: парний, гаремний, косячний, метод підсадки самки до самця – мають ряд недоліків, в результаті яких господарства недоотримують прибуток внаслідок загибелі молодняку, зіпсованої якості хутра через бійки між тваринами.

Використання самця-пробника має позитивний вплив не лише на розвиток репродуктивної системи самок, але дозволяє своєчасно визначити оптимальні строки осіменіння самок нутрій. Натомість, недоліком цього методу є витрати на проведення епіддіотомії та забезпечення післяопераційного періоду.

Колпоцитоскопія – не дорогий, зручний, не травматичний, високоточний метод виявлення оптимального часу осіменіння самок нутрій.

Ключові слова: нутрія, статевий цикл, статева зрілість, самці-пробники, осіменіння, колпоцитоскопія.

Постановка проблеми. Кризові явища у сільському господарстві нашої країни негативно позначилися на усіх галузях тваринництва, що призвело до різкого зниження показників господарської діяльності. Реалізація державної аграрної політики передбачає створення сучасних технологій виробництва продукції на

основі принципово нових теоретично-практичних досліджень та науково-технічних рішень, які забезпечать динамічний розвиток різних галузей тваринництва. Виникає потреба пошуку галузі тваринництва, яка давала б прибуток з мінімальними фінансовими витратами щодо кормової бази.

Низька собівартість утримання, висока репродуктивність, стійкість до захворювань різної етіології – саме ті необхідні критерії до галузі тваринництва, яка створила б умови для виходу нашої держави на новий економічний рівень. Усім цим вимогам відповідає нутріівництво.

Розведення нутрій в присадибних господарствах має особливе значення, оскільки за мінімальних витрат від них отримують цінне хутро, що не поступається за якістю хутру норки та смачне, дієтичне м'ясо (від однієї нутрії отримують 2–3 кг дієтичного м'яса).

Мета роботи – за аналізом літературних джерел провести порівняльну характеристику методів визначення оптимального часу введення сперми нутріям.

Результати дослідження. Нутрії мають високі репродуктивні якості: за одне–два щеніння на рік самка приносить 6–10 щенят, які в тому ж році можуть брати участь у розмноженні. Нутрії – рослиноїдні, багатоплідні поліциклічні тварини, які можуть розмножуватися протягом усього року, поєднуючи періоди лактації та вагітності. Статева зрілість найчастіше настає у чотиримісячному віці, але допускати до репродукції тварин краще у 5–6 місяців, після досягнення твариною ваги у 4–4,5 кг. Статевий цикл нутрії триває в середньому 25–30 діб, у деяких самок він може повторюватись через кожні 14–15 діб. Також особливістю цих тварин є те, що овуляція у них провокована (яйцеклітини потапляють до яйцепроводів тільки після спаровування) і може наставати на 1–3 добу після родів. Ріст і розвиток фолікулів у самок нутрій триває протягом всього року, але найбільш інтенсивно за тічки. Під час вагітності фолікулярна діяльність знижується, тому після родів у деяких самиць фолікули в яєчниках відсутні. Вагітність триває 127–137 діб. Плацента гемохоріального типу [6, 15, 16, 18].

Нутріівництво належить до малорозвинутих галузей сільського господарства нашої країни, тому є ряд невирішених проблем. На сьогодні в Україні немає племінних господарств, не ведеться науково-дослідна робота. Практично не проводять досліджень у напрямку вивчення репродуктивної системи нутрій та діагностики і лікування акушерсько-гінекологічної патології.

За розведення нутрій в умовах закритих приміщень на 20–30 % знижується відтворна здатність молодих самок. Велике значення у комплексі заходів з профілактики неплідності, малопліддя, окрім повноцінної годівлі та оптимальних умов утримання, має активація функцій статевих органів у самиць природни-

ми чинниками (контакт із самцем). Водночас рання вагітність призводить до народження неповноцінного приплоду, зупинки фізіологічного розвитку самки, як наслідок отримання в подальшому хутра низької якості від цієї самки та маловгодованої тушки.

Таким чином, встановлення оптимального часу осіменіння самок нутрій є актуальним питанням розвитку акушерства у галузі нутріівництва.

Для діагностики оптимального часу осіменіння використовують, насамперед, методи огляду та спостереження. Як і в інших тварин [3], зовнішні статеві органи самки набрякають, слизова оболонка піхви стає більш темно-рожевого кольору, але ці зміни менш помітні, ніж у інших видів тварин. Тому зазвичай для цих тварин, після настання статевої зрілості, використовують такі методи: метод підсадки самки до самця (ручний), гаремний, парний, вільний або загінний, косячний [23].

Метод підсадки самки до самця застосовують для породіль. Його суть полягає у тому, що самку, починаючи від першого дня після родів і далі протягом трьох діб поспіль підсаджують до самця і спостерігають за її поведінкою. Якщо самка знаходиться в статевій охоті, вона починає рухатися навколо самця, обнюхує його, при підсадці не чинить опір. Якщо ж феномен охоти був визначений хибно – тварини б'ються. Кратність спаровувань може досягти від 3 до 5, і проходять з невеликими інтервалами. Тривалість статевого акту становить 20–40 секунд, може бути до двох хвилин. У проміжках між спаровуваннями самець і самка чистять хутро та вмиваються [6, 16, 17]. Овуляція у нутрій триває 36 годин, тому доцільно залишити пару разом на дві доби, або спробувати підсаджувати самку повторно на наступний день [1, 4].

Якщо нутрія не перебуває в охоті, то за підсадки вона відбігає від самця, забивається у кутки клітки, відбиваючись від нього передніми лапами. Це часто призводить до травмування тварин, псування зовнішнього вигляду хутра та зниження його якості. Таку самку підсаджують до самця кожні наступні 6–8 діб. Після природного осіменіння на 48–50 добу проводять діагностику вагітності методом трансабдомінальної пальпації. У цей період у рогах матки промацуються фетоплацентарні утворення розмірами з волоський горіх.

Так зване гаремне утримання полягає у тому, що до самця підсаджують п'ять самок, які перебувають поруч із ним постійно. У такому випадку самки можуть запліднюватись,

народжувати та вигодовувати спільне потомство. Але слід зважати, що в окремих випадках самець може проявляти агресію відносно вагітних самок і потомства. Також, інколи через скупчене утримання тварин збільшується падіж молодняку, який затоптують. Тому такий метод утримання тварин для забезпечення осіменіння самок не завжди доцільний і через додаткові економічні збитки.

За подібним принципом застосовують і парний метод. Різниця полягає у тому, що до одного самця підсаджують лише одну самку. Такий метод застосовують, переважно, для високопородних, племінних тварин. Недоліком цього методу є недостатнє навантаження на самця [4, 23].

Загінне або вільне парування практикують у великих господарствах, де утримують 100–200 самок, до яких періодично підсаджують 10–20 самців. Головним недоліком цього методу є неможливість встановлення походження нащадків. Також відмічається збільшення частоти абортів, загибель молодняку та травматизм самців.

Косячну злучку проводять у косяках, які формують заздалегідь, з молодих самок віком 2–3 місяці. Самки повинні мати однакові вагу і розміри. Після досягнення статевої зрілості, до них підсаджують самця, що не має з цією групою самок спадкових зв'язків та старший за них на 2–3 місяці і більший за вагою. Самець перебуває в косяку 2–3 місяці. Кількість самиць на одного самця за цього методу не має перевищувати п'ятнадцяти. У першу добу після формування косяка необхідно слідкувати за поведінкою тварин та відсаджувати агресивних [1, 23, 24].

На сьогодні, крім загальноприйнятих у господарствах методів розведення нутрій, з'явилися два сучасних методи визначення оптимального часу осіменіння, а саме: використання самця-пробника та колпоцитоскопія.

Суть методу визначення оптимального часу осіменіння за допомогою самця-пробника полягає у тому, що самцю проводять резекцію хвоста придатка сім'яника – епідидіотомію, у результаті чого він постійно, перебуваючи із самками, проводить фізіологічну стимуляцію їх відтворної здатності, пришвидшує статеве та фізіологічне дозрівання, сприяє розвитку репродуктивних органів, збільшує показники запліднюваності, багатопліддя, молочності, але не осіменє самок. Крім того, за наявності самця-пробника поруч із самками, можна діагностувати оптимальний час для осіменіння, спостерігаючи за зміною поведінки тварин та підсаджувати самця-плідника,

якщо самка дозволяє садку самцю-пробнику [8, 11, 19, 21, 22, 24, 26].

Суть колпоцитоскопії полягає у тому, що статевий цикл – складний нейрогуморальний рефлекторний процес, який супроводжується комплексом фізіологічних та морфологічних змін у статевих органах та усьому організмі самки від однієї стадії збудження до іншої, а тому, залежно від стадії статевого циклу, епітеліальні клітини піхви зазнають суттєвих морфологічних змін і мають характерні відмінності.

На початку стадії проєструсу у сироватці крові самок підвищується концентрація естрогенів, внаслідок чого виникають зміни у слизовій оболонці піхви – її клітини швидко розмножуються та збільшується кількість шарів. Це є захисним механізмом, що перешкоджає травмуванню статевих шляхів самки під час коїтусу. Процес утворення багатошарової епітеліальної вистилки піхви супроводжується поступовою експлозією – відлущенням клітин поверхневого епітеліального шару, оскільки вони віддаляються від кровоносних судин і не отримують необхідного живлення. Мертві клітини знижують чутливість слизової оболонки піхви та захищають шари, що лежать під ними від механічних ушкоджень. Змертвілі клітини кумулюють кератин, що робить їх більш щільними і являє собою механізм додаткового захисту від механічних ушкоджень [12, 20].

Цю особливість використовують для діагностики оптимального часу осіменіння у багатьох видів тварин. У вагінальному мазку можна виявити різні типи клітин, залежно від стадії статевого циклу. Під час відмирання епітеліальна клітина слизової оболонки піхви набуває більших розмірів та стає неправильної форми. Ядра клітин також зазнають морфологічних змін: вони поступово зменшуються у розмірах та зморщуються перед остаточним розпадом. Таким чином спочатку можна побачити «тінь» ядра, а потім клітина перетворюється на без'ядерну. В період наближення овуляції вагінальний мазок набуває характерного вигляду: 80 % клітинного складу займають поверхневі та без'ядерні клітини, тобто клітини, які утворилися внаслідок змертвіння поверхневого епітеліального шару [2, 5, 7, 9, 13, 25].

Висновки. 1. Ручний, гаремний та косячний методи є малоінформативними та, часом, збитковими у діагностиці оптимального часу для штучного осіменіння нутрій.

2. Метод визначення за допомогою самця-пробника є більш сучасним у діагностиці оптимального часу осіменіння у нутрій, має

сприятливий вплив на розвиток репродуктивної системи самок, але потребує економічних затрат на проведення епідіотомії.

3. Цитологічний аналіз вагінального мазка (колпоцитоскопія) є простим у виконанні, не травматичним, відносно дешевим і досить інформативним методом визначення оптимального часу для осіменіння самок нутрій. Цей метод має актуальність, оскільки підсадження самки до самця саме у період овуляції запобігає травмуванню та забезпечує її осіменіння.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Василенко В.Н. Нутриеводство. Ростов-на-Дону: Феникс, 2003. 315 с.
2. Васильева С.В., Васильева Р.М. Метод определения сроков овуляции у сук. URL: <http://www.veterinarka.ru/for-vet/metod-opredeleniya-srokov-ovulyacii-u-suk.html>.
3. Власенко С.А., Жулінська О.С., Єрошенко О.В. Клініко-лабораторні прогностичні показники щодо заплідненості в овець. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2019. №1. С. 6–14.
4. Миронова Л.П., Фалынскова Н.П., Ретинский Д.А., Пацера А.Н. Воспроизводство нутрий. Научно-практические рекомендации. Ростов-на-Дону: изд. СКНЦ ВШ, 2003. 109 с.
5. Бутенков А. И., Карташов С. Н., Сулейманов С. М. Клиническая цитология в ветеринарной практике мелких домашних животных: методические рекомендации. Новочеркасск, 2006. 62 с.
6. Миронова Л.П. Морфофункциональные основы интенсификации воспроизводства нутрий: дис. ... докт. вет. наук (16.00.07 – ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных, 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных). п. Персиановский, 2005. 321 с.
7. Миронова Л.П., Хижнякова Н.Л. Цитологическая картина влагалищного мазка самок нутрий в стадии возбуждения полового цикла. Материалы Международной научно-практической конференции. пос. Персиановский, 2004. С. 36–37.
8. Ретинский Д.А. Морфофункциональное обоснование анапрепуциопластики и использования оперированных самцов нутрий: дис. ... канд. вет. наук (16.00.02 – патология, онкология и морфология животных, 16.00.07 – ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных). п. Персиановский. 2004. 149 с.
9. Симпсон Дж., Ингланда Г., Харви М. Руководство по репродукции и неонатологии собак и кошек / под ред. Дж. Симпсон пер. с англ. Москва: Софион, 2005. 280 с.
10. Уиллард М.Д., Тведтен Г., Торнвальд Г.Г. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных / под ред. В. В. Макарова. Москва: ООО «АКВАРИУМ БУК», 2004. 432 с.
11. Фалынскова Н.П. Продуктивность, биологические особенности и технология выращивания самок нутрий: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук (06.02.04 – частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства). п. Персиановский, 2005. 24 с.
12. Фелдмен Э., Нелсон Р. Эндокринология и репродукция собак и кошек. Москва: Софион, 2008. 1246 с.
13. Хижнякова Н.Л. Подготовка и использование самцов-пробников нутрий, оперированных способом эпидидимитомии: дис. канд. вет. наук (16.00.07 – ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных). п. Персиановский, 2003. 164 с.
14. Carter J., Leonard B. A review of the literature on the worldwide distribution, spread of and efforts to eradicate the coypu (*Myocastor coypus*). Wildlife Society Bulletin. 2000. 30. P. 162–175.
15. Cocchi R., Riga F. Ontrol of a coypu *Myocastor coypus* population in northern Italy and manadgement implications. Italian Journal of Zoologia. 2008. Vol. 75. P. 37–42.
16. EL-Kouba M.M.A.N., Marques S.M.T. Presence of fasciola hepatica in feral nutria (*Myocastor Coypus*) living in a public park in Brazil. Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 2009. Vol. 40. P. 103–106.
17. Felipe A.E. Characterization of the estrus cycle of the Myocastor coupus (copy) by means of exfoliative colpocytology. Mastozoologia Neotropical. J. Neotrop. Mammal. 2001. Vol. 8. Issue 2. P. 129–137.
18. Felipe A., Cabodevila J. Anatomicohistological characteristics of the ovary of the coypu (*Myocastor coypus*). Anat. Histol. Embryol. 1999. Vol. 28. P. 89–95.
19. Felipe A.E., Teruel M.T., Cabodevila J. A. Pre-implantational timetable of embryonal development of Myocastor coypus (*Coypu*). Reprod. Nutr. Dev. 2002. Vol. 42. P. 15–24.
20. Hayssen V.A., van Tienhoven B. Asdell's Patterns of Mammalian Reproduction: a Compendium of Species-specific Data. Comstock. Cornell University Press. Ithaca, 1993.
21. Hillemann H.H., Gaynor A.I., Stanley H.P. The genital systems of nutria (*Myocastor coypus*). Anat. Rec. 1958. N 130. P. 515–531.
22. Hillemann H.H., Gaynor A.I. The definitive architecture of the placentae of nutria, *Myocastor coypus* (Molina). Amer. J. Anat. 1961. N 109. P. 299–317.
23. Hoffmann B., Riesenbeck A., Klein R. Reproductive endocrinology of bitches. Anim. Reprod. Sci. 1996. Vol. 42. P. 272–288.
24. Jezierski T. Wykorzystanie tresowanego psa do wykrywania rui u krow. Przegl. Hodowl. 1988. T. 56. N 18. S. 15–17.
25. Karlbom J. Attainment of puberty in female pigs: influence jf boar stimulation. Animal Reproduction Science. 1982. T. 4. N 4. P. 313–319.
26. Kinler N.W., Linscombe G., Ramsey P.R. Nutria. Chapter 27. In, Wild Furbearer. P. 326–343.
27. Novak M., Baker J.A., Obbard M.E., Malloch B. Management and Conservation in North America. Ontario Ministry of Natural Resources. Ashton-Potter, Ltd., Concord, Ontario, Canada, 1987.
28. Kirkwood R., Hughes P. Note on the influence of boar effect component stimuli on puberty attainment in the gilt. Animal Production. 1980. T. 31. № 2. P. 209–211.
29. Kobayashi G., Kawashima O., Kobayashi G., Baker A.A. The preparation of teaser bulls by lateral deflection of penis. Japan. J. Anim. Reprod. 1983. T. 29. № 4. P. 220–222.
30. Lowery G.H. The Mammals of Louisiana and its adjacent Waters. Louisiana State University Press, Baton Rouge, LA, 1974.
31. Sherfy M., Mollett T., McGowan K. A reexamination of age-related variation in body weight and morphometry of Maryland Nutria. 2006. Journal of Wildlife Management. 70. P. 1132–1141.

REFERENCES

1. Vasilenko, V.N., Mironova, L.P., Mironova, A.A. (2003). Nutrievodstvo [Nutrition]. Rostov-on-Don.: Feniks, 315 p.
2. Vasil'eva S.V., Vasil'eva R.M. Metod opredeleniya srokov ovuljatsii u suk [The method of determining the timing of ovulation in females]. Available at: <http://www.veterinarka.ru/for-vet/metod-opredeleniya-srokov-ovulyacii-u-suk.html>.
3. Vlasenko, S.A., Zhulinska, O.S., Eroshenko, O.V. (2019). Klinico-laboratorni prognostichni pokazniki shchodo zaplidenosti v ovets [Clinical and laboratory prognostic indicators for fertilization in sheep]. Naukoviy visnik veterinarnoyi medicini [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 1, pp. 6–14.
4. Mironova, L.P., Falynskova, N.P., Retinskij, D.A., Pace-
ra, A.N. (2003). Vospriizvodstvo nutrij. [Nutrient Reproduction]. Nauchno-prakticheskie rekomendacii. [Scientific and practical recommendations]. Rostov-on-Don: ed. SKNTs VSh, 109 p.
5. Butenkov, A.I., Kartashov, S.N., Sulejmanov, S.M. (2006). Klinicheskaja citologija v veterinarnoj praktike melkih domashnih zhivotnyh: metod. rekom. [Clinical cytology in the veterinary practice of small pets: methodical recommendations]. Novocherkassk, 62 p.
6. Mironova, L.P. (2005). Morfofunkcional'nye osnovy intensifikacii vospriizvodstva nutrij: dis. ... dokt. vet. nauk (16.00.07 – veterinarnoe akusherstvo i biotekhnika reprodukcii zhivotnyh, 16.00.02 – patologija, onkologija i morfologija zhivotnyh) [Morphofunctional fundamentals of intensification of reproduction of nutria: dissertation of a doctor of veterinary sciences (16.00.07 - veterinary obstetrics and biotechnology of animal reproduction, 16.00.02 - pathology, oncology and morphology of animals)]. p. Persianovsky, 321 p.
7. Mironova, L.P., Hizhnyakova, N.L. (2004). Citologicheskaja kartina vlagalishhnogo mazka samok nutrij v stadii vzbuzhdenija polovogo cikla [Cytological picture of vaginal smear of female nutrias in the stage of sexual cycle excitation]. Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii [Proceedings of the International Scientific and Practical Conference]. p. Persianovsky, pp. 36–37.
8. Retinskij, D.A. (2004). Morfofunkcional'noe obosnovanie anaprepucioplastiki i ispol'zovanija operirovannyh samcov nutrij: dis. ... kand. vet. nauk (16.00.02 – patologija, onkologija i morfologija zhivotnyh, 16.00.07 – veterinarnoe akusherstvo i biotekhnika reprodukcii zhivotnyh) [Morphofunctional substantiation of anaprepuceoplasty and the use of operated male nutria: dissertation of a candidate of veterinary sciences (16.00.02 - pathology, oncology and morphology of animals, 16.00.07 - veterinary obstetrics and biotechnology of animal reproduction)]. p. Persianovsky, 149 p.
9. Dzh. Simpson., Inglanda, G., Harvi, M. (2005). Ru-
kovodstvo po reprodukcii i neonatologii sobak i koshek / pod red. Dzh. Simpson; per. s angl. [A guide to the reproduction and neonatology of dogs and cats / ed. J. Simpson translation from English]. Moscow: Sofia, 280 p.
10. Uillard, Majkl D., Tvedten, Garol'd., Tornval'd, Grant G. (2004). Laboratornaja diagnostika v klinike melkih domashnih zhivotnyh / pod red. V.V. Makarova [Laboratory diagnostics in the clinic of small pets / ed. V.V. Makarova]. Moscow: AQUARIUM BUK LLC, 432 p.
11. Falunskova, N.P. (2005). Produktivnost', biologicheskie osobennosti i tehnologija vyrashhivaniya samok nutrij: avtoref. dis. ... kand. s.-h. nauk (06.02.04 – chastnaja zootehnija, tehnologija proizvodstva produktov zhivotnovodstva [Productivity, biological features and technology of growing female nutria: abstract. dissertation of the candidate of agricultural sciences (06.02.04 - private zootechnics, livestock production technology)]. Persianovsky, 118 p.
12. Feldmen, Je., Nelson, R. (2008). Jendokrinologija i reprodukcija sobak i koshek [Endocrinology and reproduction of dogs and cats]. Moscow: Sofia, 1246 p.
13. Khizhnyakova, N.L. (2003). Podgotovka i ispol'zovanie samcov-probnikov nutrij, operirovannyh sposobom jepididimitomii: dis. kand. vet. nauk (16.00.07 – veterinarnoe akusherstvo i biotekhnika reprodukcii zhivotnyh) [Preparation and use of male sample probes for nutria operated by the method of epididymotomy: the dissertation of the candidate of veterinary sciences (16.00.07 - veterinary obstetrics and biotechnology of animal reproduction)]. Persianovsky, 164 p.
14. Carter, J., Leonard, B. (2002). A review of the literature on the worldwide distribution, spread of and efforts to eradicate the coypu (*Myocastor coypus*). Wildlife Society Bulletin. Vol. 30, pp. 162–175.
15. Cocchi, R., Riga, F. (2008). Ontrol of a coypu *Myocastor coypus* population in northern Italy and manadgement implications. Italian Journal of Zoologia. Vol. 75, pp. 37–42.
16. EL-Kouba, M.M.A.N., Marques, S.M.T. (2009). Presence of fasciola hepatica in feral nutria (*Myocastor Coypus*) living in a public park in Brazil. Journal of Zoo and Wildlife Medicine. Vol. 40, pp. 103–106.
17. Felipe, A.E. (2001). Characterization of the estrus cycle of the *Myocastor coupus* (copy) by means of exfoliative colpocytology. Mastozoologia Neotropical. J. Neotrop. Mammal. Vol. 8, Issue 2, pp. 129–137.
18. Felipe, A., Cabodevila, J. (1999). Anatomicohistological characteristics of the ovary of the coypu (*Myocastor coypus*). Anat. Histol. Embryol. Vol. 28, pp. 89–95.
19. Felipe, A.E., Teruel, M.T., Cabodevila, J.A. (2002). Pre-implantational timetable of embryonal development of *Myocastor coypus* (Coypu). Reprod. Nutr. Dev. Vol. 42, pp. 15–24.
20. Hayssen, V. A., van Tienhoven, B. (1993). Asdell's Patterns of Mammalian Reproduction: a Compendium of Species-specific Data. Comstock. Cornell University Press. Ithaca.
21. Hillemann, H.H., Gaynor, A.I., Stanley, H.P. (1958). The genital systems of nutria (*Myocastor coypus*). Anat. Rec. no. 130, pp. 515–531.
22. Hillemann, H.H., Gaynor, A.I. (1961). The definitive architecture of the placentae of nutria, *Myocastor coypus* (Molina). Amer. J. Anat. no. 109, pp. 299–317.
23. Hoffmann, B., Riesenbeck, A., Klein, R. (1996). Reproductive endocrinology of bitches. Anim. Reprod. Sci. Vol. 42, pp. 272–288.
24. Jezierski, T. (1988). Wykorzystanie tresowanego psa do wykrywania rui u krow. Przegl. Hodowl. Vol. 56, no. 18, pp. 15–17.
25. Karlbom, J. (1982). Attainment of puberty in female pigs: influence of boar stimulation. Animal Reproduction Science. Vol. 4, no. 4, pp. 313–319.
26. Kinler, N.W., Linscombe, G., Ramsey, P.R. Nutria. Chapter 27. Wild Furbearer. pp. 326–343.
27. Novak, M., Baker, J.A., Obbard, M.E., Malloch, B. (1987). Management and Conservation in North America. Ontario Ministry of Natural Resources. Ashton-Potter, Ltd., Concord, Ontario, Canada.

28. Kirkwood, R., Hughes, P. (1980). Note on the influence of boar effect component stimuli on puberty attainment in the gilt. *Animal Production*. Vol. 31, no. 2, pp. 209–211.

29. Kobayashi, G., Kawashima, O., Kobayashi, G., Baker, A.A. (1983). The preparation of teaser bulls by lateral deflection of penis. *Japan. J. Anim. Reprod.* Vol. 29, no. 4, pp. 220–222.

30. Lowery, G.H. (1974). The Mammals of Louisiana and its adjacent Waters. Louisiana State University Press, Baton Rouge, LA.

31. Sherfy, M., Mollett, T., McGowan, K. (2006). A reexamination of age-related variation in body weight and morphometry of Maryland Nutria. *Journal of Wildlife Management*. Vol. 70, pp. 1132–1141.

Методы определения оптимального времени осеменения у нутрий

Кацемба Н.В., Скляр П.Н.

Реализация государственной аграрной политики предусматривает создание современных технологий производства продукции на основании принципиально новых теоретически-практических исследований и научно-технических решений, которые обеспечат динамическое развитие разных отраслей животноводства.

Низкая себестоимость содержания, высокая репродуктивность, стойкость к заболеваниям разной этиологии – именно те критерии, которым соответствует нутриеводство.

Нутрии – растительноядные, многоплодные полициклические животные, которые размножаясь объединяют периоды лактации и беременности. Таким образом, при минимальных расходах на корма, хозяйство имеет возможность получать высокую прибыль. Разведение нутрий является экономически эффективным и требует более детального изучения, развития данной отрасли во всех регионах Украины.

При разведении нутрий в условиях закрытых помещений на 20–30 % снижается воспроизводительная способность молодых самок. Исследования в направлении воспроизводительной функции самок нутрий практически не ведутся, поэтому изучение этого вопроса является актуальным.

Проведен анализ методов диагностики оптимального времени осеменения у нутрий, учитывая их недостатки и удобство в использовании. Установлено, что раннее используемые методы (до 2000 годов) имеют много недостатков, в результате которых хозяйства недополучают прибыль из-за падежа, а также испорченного качества меха и шкурок во время драк между зверьками.

Использование самца-пробника оказывает не только благотворное влияние на развитие репродуктивной системы самок нутрий, но также позволяет своевременно

определить оптимальные сроки осеменения самок нутрий. Недостатком данного метода являются затраты на препараты для проведения эпидидиотомии и послеоперационного периода.

Колпосцитоскопия является не дорогим, удобным, не травматичным, и высокоточным методом определения оптимального срока осеменения у самок нутрий.

Ключевые слова: нутрия, половой цикл, половая зрелость, самцы-пробники, осеменение, колпосцитоскопия.

Methods for determining optimal insemination time in nutria

Katsemba N., Sklyarov P.

The implementation of the state agrarian policy provides for the creation of modern production technologies based on fundamentally new theoretical and practical research and scientific and technical solutions that will ensure the dynamic development of various livestock industries.

Low cost of maintenance, high reproduction, resistance to diseases of various etiologies – these are exactly the criteria that nutraceuticals meet.

Nutria are herbivorous, multiple polycyclic animals that multiply combine periods of lactation and pregnancy. Thus, with minimal costs for feed, the farm has the opportunity to make high profits. Breeding nutria is cost-effective and requires a more detailed study, the development of this industry in all regions of Ukraine.

When breeding nutria in closed conditions, the reproductive ability of young females decreases by 20–30%. Research in the direction of the reproductive function of female nutria is practically not conducted, therefore, the study of this issue is relevant.

In this article, we analyzed the methods for diagnosing the optimal insemination time for nutria, taking into account their shortcomings and ease of use, and found that the earlier methods used (before 2000) have many shortcomings, as a result of which farms receive less profit due to death, as well as spoiled quality of fur and skins during fights between animals.

The use of a male probe provides not only a beneficial effect on the development of the reproductive system of female nutria, but also allows timely determination of the optimal time for insemination of female nutria. The disadvantage of this method is the cost of drugs for epididiotomy and the postoperative period.

Colpocytoscopy is an inexpensive, convenient, non-traumatic, and highly accurate method for determining the optimal insemination period in female nutria.

Key words: nutria, reproductive cycle, puberty, male probes, insemination, colpocytoscopy.



Copyright: © Katsemba N., Sklyarov P. 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.



Кацемба Н.В.
Скляр П. Н.

ID <https://orcid.org/0000-0002-4518-1242>
ID <https://orcid.org/0000-0002-4379-9583>

АКУШЕРСТВО І БІОТЕХНОЛОГІЯ ВІДТВОРЕННЯ

УДК 619:616-073:618.56:636.7

Ультразвуковий контроль за перебігом післяродового періоду та діагностика акушерської патології у сук

Черкавський С.В.^{id}, Власенко С.А.^{id}, Єрошенко О.В.^{id}

Білоцерківський національний аграрний університет

✉ Черкавський С.В., segcherkes1994@gmail.com; Власенко С.А., sveta.vet9@gmail.com;
Єрошенко О.В., sacha.yerochenko@gmail.com



Черкавський С.В., Власенко С.А., Єрошенко О.В. Ультразвуковий контроль за перебігом післяродового періоду та діагностика акушерської патології у сук. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 12–19.

Cherkavs'kyj S.V., Vlasenko S.A., Jero-shenko O.V. Ul'trazvukovyj kontrol' za perebigom pisljarodovogo periodu ta diagnostyka akushers'koj' patologii' u suk. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 12–19.

Рукопис отримано: 05.09.2019р.
Прийнято: 04.10.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-12-19

Наведено результати ультразвукового дослідження матки сук в після-родовий період. Встановлено, що за його фізіологічного перебігу на 3-ю добу, шийка та тіло матки розміщені в тазовій порожнині дорсально відносно сечового міхура, а роги матки – в черевній порожнині краніально, в ділянці петель товстого кишечника. На ехограмі відмічається, що роги матки розширені, діаметром 15–18 мм. Стінки рогів потовщені, ділянками від 4 до 6 мм. Її тканини середньої ехогенності, неоднорідної консистенції. У візуалізованій порожнині матки спостерігається гіпоехогенний однорідний вміст. У сук із затриманням посліду в цей період візуалізували роги матки діаметром 1,91–1,96 см, з потовщеною стінкою, яка мала гіпоехогенні ділянки. Окрім цього рельєф ендометрія був складчастим, нерівним, в окремих місцях спостерігали його десквамовані фрагменти. Діагностичною ознакою затримання посліду було виявлення у порожнині матки тканинних структур навколоплідних оболонок з підвищеною ехогенністю. На 7-у добу після родів, на тлі затримання посліду, були виявлені ультразвукові ознаки розвитку метриту. При цьому стінка матки досягала 3,3–3,9 см, мала неоднорідну структуру тканин та підвищену ехогенність. На внутрішньому рельєфі матки візуалізували ділянки десквамованого ендометрія, а в порожнині матки – гіперехогенний вміст. Доведено, що ультразвукове сканування матки у сук є ефективним методом контролю за перебігом післяродової інволюції та забезпечує ранню діагностику акушерської патології. Основним діагностичним ультразвуковим показником за затримання посліду у сук є візуалізація структур навколоплідних оболонок в порожнині матки, гіперехогенних ділянок та потовщення її стінок. На розвиток післяродового метриту вказують значне потовщення матки та її слизової оболонки, ділянки десквамованого ендометрія та наявність в порожнині матки гіперехогенного вмісту.

Ключові слова: сука, післяродовий період, інволюція матки, затримання посліду, метрит, ультразвуковий метод.

Постановка проблеми. Перебіг післяродових інволюційних процесів визначає повноцінність відновлення статеві функції самок у наступному репродуктивному циклі. Фізіологічні закономірності пуерперію досить глибоко вивчені у самок продуктивних тварин [1–4]. Натомість у репродуктології сук залишається ряд відкритих питань щодо особливостей післяродового періоду, що утруднює створення чіткої системи контролю за його перебігом і ранньої діагностики акушерської патології. Водночас захворювання репродук-

тивних органів у собак зустрічаються досить часто і становлять 12,4–20,5 % від загальної кількості незаразної патології [5, 6]. За іншими повідомленнями [7, 8], частка акушерської і гінекологічної патології може досягати 34,3 %, при цьому в 8,9 % випадках самки потребують оперативного лікування [9]. Такі хвороби як затримання посліду, субінволюція матки та метрит, у більшості випадків, перебігають на тлі гострого ендотоксикозу та розвитку поліморбідних порушень, аж до летального результату. Вони в перспективі створюють патогенетичні

передумови для еклампсії, піометри, абортів за наступної вагітності, дисфункції яєчників та неплідності [10–13]. Окрім цього, суки з післяродовими патологіями стають джерелом інтенсивного виділення патогенної мікрофлори, що в умовах тісного контакту з власниками, несе загрозу їх здоров'ю.

Тому, розробка системного моніторингу перебігу післяродової інволюції у сук залишається нагальним питанням як для науковців, так і практикуючих лікарів ветеринарної медицини.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Післяродова інволюція статевих органів у сук відбувається впродовж 3–4 тижнів [14–15]. Найбільш інтенсивно її процеси проявляються у перші 2–3 доби. В цей період зникає набряк та почервоніння вульви, тазові зв'язки ущільнюються, підтягуються вниз та боки черева, стабілізується кров'яний тиск. Матка скорочується, її стінка потовщується до 1–1,5 см, активно проходить десквамація епітелію ендометрія. Інтенсивно виділяються кров'яністі лохії, які складаються з фрагментів плаценти, залишків плідних оболонок, крові, злушеного епітелію та секрету маткових залоз [16–17].

Із 3–4-ї доби лохії стають бурими із зеленим відтінком (вміст білівердину), їх кількість значно зменшується [18]. Через тиждень після родів проходить регенерація ендометрія, що клінічно проявляється у зміні виділень. Вони стають мутними з жовтуватим відтінком, тягучої консистенції, без запаху. Із 12-ї доби пуерперію лохії набувають слизоподібної консистенції, прозорості, виділяються в незначній кількості, а з 14–15-ї доби – повністю припиняються виділятися. По завершенню лохіального періоду шийка матки закривається.

До четвертого тижня плацентарні ділянки зменшуються і мають вигляд вузлових сірувато-коричневих ділянок з прозорою слизовою оболонкою. На 7-й тиждень вони стають світло-коричневого кольору, а до дев'ятого – вузькими, світлими смугами. Матка скорочується до початкових розмірів і через три місяці відновлює морфофункціональну повноцінність до наступної вагітності [15–18].

В репродуктології собак для діагностики хвороб і дисфункцій статевих органів застосовують дослідження вагінальних виділень, вагіноскопію, вагінальну цитологію, мікробіологічні дослідження, рентгенографію, цитологічні дослідження епітелію слизової оболонки матки, гістероскопію, гістерографію, ультразвукове сканування, гістеросальпінгографію, визначення рівня статевих гормонів в плазмі крові [19, 20]. У післяродовий період, зважаючи на особливість інволюційних про-

цесів та відкриту шийку матки, використання більшості з перерахованих методів порушують фізіологічну „стерильність“ генітального каналу, окремі з них – травмогенні, або недостатньо інформативні для ранньої діагностики акушерської патології.

Тому основним методом діагностики післяродових ускладнень у сук є сонографічне дослідження, яке характеризується неінвазивністю, зручністю використання, швидкою результативністю та можливою візуальною оцінкою [20–23].

Ультразвукове дослідження репродуктивних органів у сук проводять лінійним чи конвексним датчиком, зазвичай без застосування нейролептиків, попередньо вистригши шерсть в ділянці черева. Обстеження тварини проводять у положенні на спині. Акустичним вікном сканування матки є сечовий міхур. При цьому оптимальною середньою частотою датчика є 7,5 МГц. Для візуалізації яєчників сканування проводять в ділянці каудального кінця нирки, трансдуктором з частотою 10–15 МГц. Основні параметри, що враховують за ультразвукового сканування матки – розмір її рогів, товщина стінки, ехогенність і структура тканин, наявність плодів та їх розвиток, новоутворень тощо. За ультразвукової оцінки яєчників визначають форму, розмір, ехогенність, наявність функціональних та патологічних структур (фолікулів, кіст, новоутворень, жовтих тіл) [20–22].

Отже, для оцінки перебігу післяродового періоду у сук необхідно визначити ультразвукові показники нормальної інволюції та розвитку акушерської патології.

Мета роботи – провести ультразвукове дослідження матки у сук в післяродовий період та визначити показники фізіологічної інволюції та акушерської патології.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводили на базі «Клініки дрібних тварин БНАУ» м. Біла Церква. Матеріалом для дослідження були 9 сук, масою тіла від 10 до 15 кг, віком 2–7 років, у післяродовому періоді. Ультразвукове дослідження проводили за допомогою апарату «Neusoft N7», з використанням мікроконвексного датчика за частоти 5–8 МГц.

Перед ультразвуковим скануванням матки досліджували загальний стан самок, проводили термометрію та оцінювали лохії за їх кількістю, кольором, консистенцією, запахом та наявністю включень. Тварину фіксували в спинному положенні, виконували вистригання з подальшим вибриттям волосяного покриву в ділянці доступу, проводили знезаражування шкіри та нанесення спеціального гелю для забезпечення безповітряного контакту датчика зі шкірою.

Результати дослідження. На першому етапі досліджень проводили ультразвукове сканування матки у чотирьох сук на 3-ю добу після нормальних родів. Слід зазначити, що роди були нормальними, усі новонароджені цуценята були живими і нормотрофіками. Загальний стан самок був задовільним, температура – в межах норми, апетит виражений. В усіх сук відмічали повноцінну лактацію. Із статевої щілини виділялися лохії в незначній кількості, жовтуватого відтінку, тягучої консистенції, без запаху.

За результатами проведених ультразвукових досліджень встановлено, що шийка та тіло матки розміщені в тазовій порожнині дорсально відносно сечового міхура, а роги матки – в черевній порожнині краніально, в ділянці петель товстого кишечника (рис. 1).

Таке топографічне розміщення внутрішніх статевих органів ускладнює пошук матки, тому як орієнтир доцільно використовувати краніальну стінку помірно наповненого сечового міхура. На наведеній ехограмі відмічається, що роги матки розширені, діаметром 15 та 18 мм. Стінки рогів потовщені, ділянками від 4 до 6 мм. Її тканини середньої ехогенності, неоднорідної консистенції. У візуалізованій порожнині матки спостерігається гіпоехогенний однорідний вміст.

Завданням наступного етапу досліджень було визначити особливість ультразвукової

характеристики матки у сук із затриманням посліду. За ветеринарною допомогою звернулися власники чотирьох сук на третю добу та однієї – на сьому добу після родів. Трьом самкам (60 %) надавали рододопомогу через первинну слабкість перейм і потуг, а двоє (40 %) – народили по двоє мертвонароджених цуценят. За анамнестичними даними та результатами клінічного обстеження було встановлено, що в усіх хворих собак відмічали пригнічення загального стану та зниження апетиту. У чотирьох (80 %) із них – гіпертермію (39,6–40,0 °C), у трьох (60 %) – виражену спрагу, в однієї (20 %) – агалактію.

Водночас ехограма матки (рис. 2) у сук із затриманням посліду на 3-ю добу після родів характеризувалась розширеними рогами до 1,91 та 1,96 см, потовщеною стінкою матки з гіпоехогенними ділянками.

Діагностичною ознакою затримання посліду була візуалізація у порожнині матки тканинних структур навколоплідних оболонок з підвищеною ехогенністю.

В однієї суки, дослідження якої проводили на 7-у добу після родів, на тлі затримання посліду були виявлені ультразвукові ознаки розвитку метриту (рис. 3).

Стінка матки була товщиною – 3,4 см, мала неоднорідну консистенцію та підвищену



Рис. 1. Ехозображення матки суки на 3-ю добу після нормальних родів:
1 – лівий ріг матки; 2 – правий ріг матки; 3 – стінка матки; 4 – гіпоехогенний вміст.

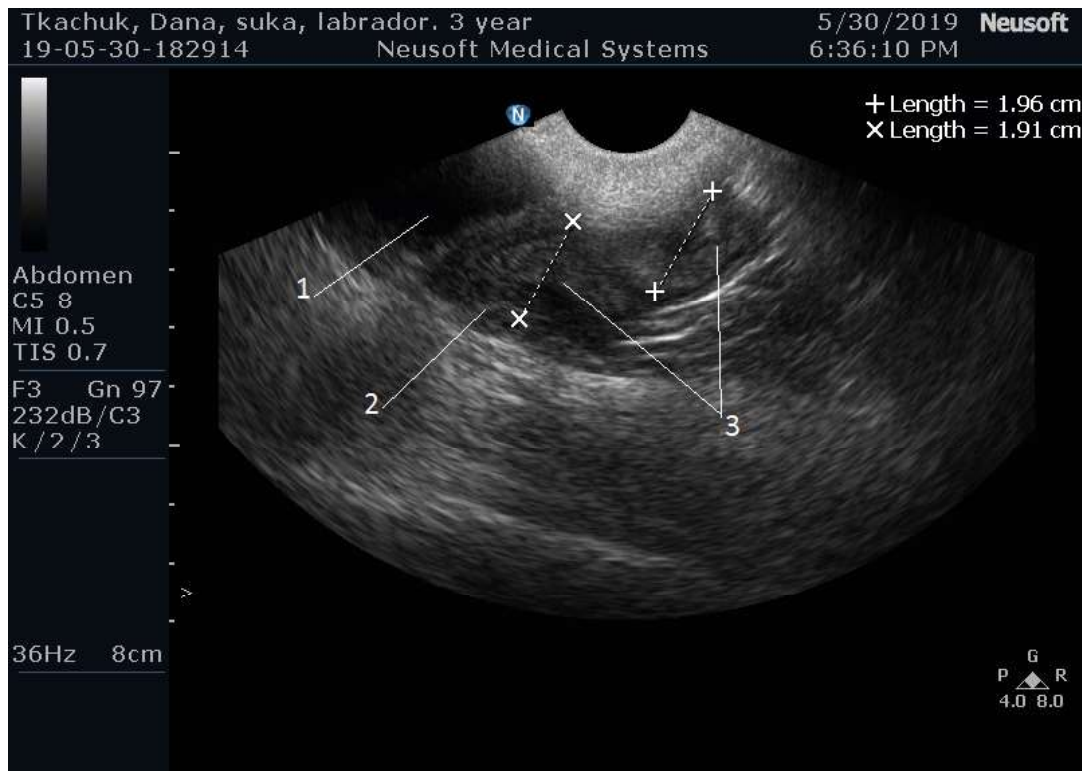


Рис. 2. Ехограма матки за затримки посліду на 3-ю добу після родів:
1 – сечовий міхур; 2 – стінка матки; 3 – послід в правому та лівому рогах матки.



Рис. 3. Ехозображення матки у суки за гострого метриту на 7-у добу після родів:
1 – порожнина матки; 2 – стінка матки; 3 – послід в матці.

ехогенність. На внутрішньому рельєфі матки візуалізуються досить помітні ділянки десквамованого ендометрія, а в порожнині матки – гіперехогенний вміст.

Після проведеного лікування самок із затриманням посліду, яке передбачало застосування утеротоніків, спазмолітичних та антибактеріальних препаратів встановлено, що на 21-у добу після родів діаметр матки досліджуваних тварин зменшувався до 0,9–1,1 см (рис. 4).

Ехогенність тканин стінок була середньою і однорідною. В її порожнині візуалізувалася незначна кількість гіпоехогенного вмісту. Визначені ехозміни в тканинах матки суки після лікування засвідчили їх позитивну динаміку та одужання тварини, що підтверджувалося й клінічними показниками.

Обговорення. На основі ультрасонографічних досліджень встановлено, що після нормальних родів роги матки у сук були розширені, діаметром від 15 до 18 мм. Стінки рогів потовщені, ділянками від 4 до 6 мм, а тканини середньої ехогенності та неоднорідної консистенції. Водночас у порожнині матки візуалізується анехогенний однорідний вміст. Подібні результати були встановлені й іншими науковцями [24, 25]. Згідно з їх дослідженнями, матка на 1, 3, 7-у добу після родів була в діаметрі від 15 до 20 мм, а внутрішній шар ендометрія одного

рогу матки був не чітко візуалізований від іншого, що ймовірно пов'язано з виділенням лохій та залишком в порожнині матки структур тканинного походження. Водночас є повідомлення [26], в яких вказується, що у сук на 16-й тиждень після родів матка може бути діаметром від 0,3 до 0,6 см. Інші автори зазначають, що вже на 6-й тиждень після родів у сук не завжди можна візуалізувати матку, особливо у випадках інтенсивного утворення кишкових газів.

За затримання посліду встановлено, що на 3-ю добу після родів роги матки мали діаметр від 1,91 до 1,96 см, стінка була потовщеною, а в її порожнині знаходився неоднорідний, підвищеної ехогенності вміст. На відміну від отриманих даних, інші дослідники [27] зазначають, що основними ультразвуковими ознаками затримання посліду на 4-у добу після родів є потовщення слизової оболонки матки до 2,3–3,1 см. Стосовно характеристики вмісту в порожнині матки, то результати власних досліджень повністю узгоджуються з іншими повідомленнями [28], які описують його як гіпоехогенну структуру, що заповнює усю порожнину матки.

Висновки. 1. Ультразвукове сканування матки у сук є ефективним методом контролю за перебігом післяродової інволюції та забезпечує ранню діагностику акушерської патології.



Рис. 4. Ехограма матки у суки із затримкою посліду після лікування на 27-у добу післяродового періоду.

2. Основним діагностичним ультразвуковим показником за затримання посліду у сук є візуалізація структур навколоплідних оболонок в порожнині матки. На розвиток післяродового метриту вказують значне потовщення матки, ділянки десквамованого ендометрія та наявність в порожнині матки гіперехогенного умісту.

В подальших дослідженнях для детального вивчення особливостей інволюції статевих органів у сук та розвитку акушерської патології планується вивчити динаміку ендокринних змін за фізіологічного і патологічного перебігу пуерперію.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Експериментальних тварин для дослідження не використовували.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ордін Ю.М., Плахотнюк І.М. Ендокринний профіль крові корів за норми і акушерської патології. Вісник Житомирського національного агроєкологічного університету. 2017. №1. С. 285–291.
2. Перебіг післяродового періоду в корів за норми та патології / М.В. Вельбівець та ін. Матеріали міжнародної наук. практ. конф. „Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту (Біла Церква 27-28 вересня). 2018.
3. Власенко С.А. Статеві стероїди у крові корів протягом репродуктивного циклу за гнійно-некротичних уражень в ділянці пальців. Біологія тварин. Львів, 2015.
4. Стравський Я. С., Сергєєв В. І. Дезінтоксикація організму корів у післяродовий період. Ветеринарна біотехнологія. 2018. Вип. 32(2). С. 515–521.
5. Харенко М.І., Хомин С.П., Кошовий В.П. Фізіологія та патологія розмноження дрібних тварин: навчальний посібник. Суми: Видавництво «Козацький вал», 2005. С. 473–477.
6. Пономарьова О.С. Поширення акушерських і гінекологічних хвороб у сук: матеріали наук.-практ. конф., факультету ветеринарної медицини ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнології ім. С.Ж. Гжицького. (Львів 19–20 квітня 2012 р.). Львів, 2012. С. 39–40.
7. Омеляненко М.М. Ендометрит і піометра сук (клініко-експериментальні дані): автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.07. Київ, 2004. 20 с.
8. Омеляненко М.М. Хронічний прихований ендометрит: етіологія, патогенез, діагностика. Вісник Державної агроєкологічної академії України. Житомир, 2000. С. 214–215.
9. Рубленко С.В., Єрошенко О.В. Моніторинг ветеринарної допомоги і структура хірургічної патології серед дрібних свійських тварин в умовах міської клініки. Вісник Сумського нац. аграр. ун-ту. Суми, 2012. С. 150–154.
10. Рубленко М. В., Єрошенко О. В., Плахотнюк І. М. Вміст деяких показників системи гемостазу в крові собак за піометри: матеріали II міжнар. наук.-практ. Інтернет-конф. (Тернопіль 20–21 жовтня 2015 р.). Тернопіль, 2015. С. 145–147.
11. Verstegen J., Dhaliwal G., Verstegen-Onclin K. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: advances in treatment and assessment of future reproductive success. New York, 2008. P. 374.
12. Maddens B., Daminet S., Smets P. Escherichia coli pyometra induces transient glomerular and tubular dysfunction in dogs. Vet Intern Med. 2010. P. 1270.

13. Whitehead M.L. Risk of pyometra in bitches treated for mismating with low doses of oestradiol benzoate. Vet Rec. 2008. № 2. P. 746–749.

14. Simpson G., England G., Harvey M. Manual of small animal reproduction and neonatology. Bsava. 2004. 246 p.

15. Feldman E.C., Nelson R.W. Canine and feline endocrinology and reproduction 3rd edition. M: Saunders, 2004. 867 p.

16. Kustritz M.R. Clinical canine and feline reproduction. Evidence-Based Answers. 2010. №12. 335 p.

17. Аллен В.Э. Полный курс акушерства и гинекологии собак. (Второе издание исправленное и дополненное Гэри К.У. Инглэнд.). Пер. с англ. О.Суворова. Москва: «АКВАРИУМ ЛТД», 2002. 448 с.

18. Дюльгер Г.П. Физиология размножения и репродуктивная патология собак. Колос, 2002. 149 с.

19. Голумбійовська Т.В., Стефанік В.Ю. Порушення відтворної функції у сук та методи діагностики. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. 2018. № 83. С. 385–395.

20. Інглэнд Д. Ультразвукове дослідження репродуктивних органів у сук. Здоров'я дрібних тварин. 2007. №1. С. 13–15.

21. Johnston S.D., Root M.V., Olson P.N. Clinical approach to infertility in the bitch. Canine and Feline Theriogenology. 2001. P. 257–275.

22. Барр Ф. Ультразвуковая диагностика заболеваний собак и кошек. Аквариум ЛТД. 1999. С. 208.

23. Margaret Rot Rustritz. Clinical canine and feline reproduction. University of Minesota college of veterinary medicine. Wiley-Blackwell. 2010. P. 37–49.

24. Ferri S.T.S., Vicente, W.R.R., Toniolo G.H. Estudo da involução uterina por meio da ultra-sonografia (modo-B) em cadelas submetidas a cesariana. 2003.

25. Dickie A. Imaging of the reproductive tract. Diagnostic Ultrasound in Small Animal Practice / ed. P. Mannion. Blackwell, Iowa, USA. 2006. P. 154–155.

26. England G., Yeager A., Concannon P.W. Ultrasound imaging of the reproductive Tract of the bitch. Recent Advances in Small Animal Reproduction / ed. P.W. Concannon, G. England, J. Verstegen, C. Linde-Forsberg. International Veterinary Information Service (www.ivia.org). Ithaca, New York, USA. 2003.

27. Accuracy of prediction of canine litter size and gestational age with ultrasound / Z.M. Lenard et al. Australian Veterinary Journal. 2007. 85(6). P. 222–225.

28. Gil E.M.U., Garcia D.A.A., Giannico A.T., Froes T.R. Use of B-mode ultrasonography for fetal sex determination in dogs. Theriogenology. 2015. 84. P. 875–879.

REFERENCES

1. Ordín, Y.M., Plakhotniuk, I.M. (2017). Endokrynnyy profil krvi koriv za normy i akusherskoi patolohii [Endocrine profile of cows blood for norm and obstetric pathology]. Visnyk Zhytomyrskoho natsionalnoho ahroekolohichnoho universytetu [Bulletin of Zhytomyr National Agro-Ecological University]. no.1, pp. 285–291.
2. Velbivets, M.V., Plakhotniuk, I.M., Baban, O.A., Ordín, Y.M., Yeroshenko, O.V. (2018). Perebih pisliarodovoho periodu v koriv za normy ta patolohii [Postpartum period in cows for norms and pathologies]. Materialy mizhnarodnoi nauk. prakt. konf. „Ahrarna osvita ta nauka: dosiahnennia, rol, faktory rostu (Bila Tserkva 27-28 veresnia) [Proceedings of the International Scientific and Practical Conference,

Agrarian Education and Science: Achievements, Role, Growth Factors (Bila Tserkva, September 27-28)].

3. Vlasenko, S.A. (2015). Statevi steroidy u krovi koriv protiahom reproduktyvnoho tsyklu za hniino-nekrotychnykh urazhen v diliantiis paltsiv [Sex steroids in the blood of cows during the reproductive cycle for purulent-necrotic lesions in the area of the fingers]. *Bioloheia tvaryn* [Animal biology]. Lviv.

4. Stravskiy, Y.S., Serheiev, V.I. (2018). Dezintoksykatsiia orhanizmu koriv u pisliarodovoyi period [Disinfection of the body of cows in the postpartum period]. *Veterynarna biotekhnolohiia* [Veterinary biotechnology]. Issue 32(2), pp. 515–521.

5. Kharenko, M.I., Khomyn, S.P., Koshovyi, V.P. (2005). Fizioloheia ta patoloheia rozmnozhennia dribnykh tvaryn: navchalnyi posibnyk [Physiology and pathology of reproduction of small animals]. Sumy: Cossack Shaft Publishing House, pp. 473–477.

6. Ponomarova, O.S. (2012). Poshyrennia akusherskykh i hinekolohichnykh khvorob u suk: materialy nauk.-prakt. konf., fakultetu veterynarnoi medytsyny LNU veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S.Zh. Hzhyskoho. (Lviv 19–20 kvitnia 2012 r.) [Dissemination of obstetric and gynecological diseases in females: materials of scientific conference of the Faculty of Veterinary Medicine, LNU Veterinary Medicine and Biotechnology. S.J. Gzycki. (Lviv, April 19–20, 2012)]. Lviv, pp. 39–40.

7. Omelianenko, M.M. (2004). Endometryt i piometra suk (kliniko-eksperymentalni dani): avtoref. dys. ... kand. vet. nauk: 16.00.07. [Endometritis and pyometra of boughs (clinical and experimental data): abstract of the dissertation of the candidate of veterinary sciences: 16.00.07.]. Kyiv, 20 p.

8. Omelianenko, M.M. (2000). Khronichnyi prykhovanyi endometryt: etioloheia, patohenez, diahnozyka [Chronic latent endometritis: etiology, pathogenesis, diagnosis]. *Visnyk Derzhavnoi ahroekolohichnoi akademii Ukrainy* [Bulletin of the State Agro-ecological Academy of Ukraine]. Zhytomyr, pp. 214–215.

9. Rublenko, S.V., Yeroshenko, O.V. (2012). Monitorynh veterynarnoi dopomohy i struktura khirurhichnoi patoloheii sered dribnykh sviiskykh tvaryn v umovakh miskoi kliniky [Monitoring of veterinary care and the structure of surgical pathology among small domestic animals in the conditions of the city clinic]. *Visnyk Sumskoho nats. ahrar. un-tu* [Bulletin of Sumy National Agrarian University]. Sumy, pp. 150–154.

10. Rublenko, M.V., Yeroshenko, O. V., Plakhotniuk, I. M. (2015). Vmist deiakykh pokaznykiv systemy hemostazu v krovi sobak za piometry: materialy II mizhnar. nauk.-prakt. Internet-konf. (Ternopil 20–21 zhovtnia 2015 r.) [Content of Some Indicators of Hemostasis in Dog Blood by Pyrometers: Proceedings of the Second International Scientific Internet Conference (Ternopil October 20–21, 2015)]. Ternopil, pp. 145–147.

11. Verstegen, J., Dhaliwal, G., Verstegen-Onclin, K. (2008). Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: advances in treatment and assessment of future reproductive success. *New York*, 374 p.

12. Maddens, B., Daminet, S., Smets, P. (2010). *Escherichia coli* pyometra induces transient glomerular and tubular dysfunction in dogs. *Vet Intern Med.* 1270 p.

13. Whitehead, M.L. (2008). Risk of pyometra in bitches treated for mismating with low doses of oestradiol benzoate. *Vet Rec.* no. 2, pp. 746–749.

14. Simpson, G., England, G., Harvey, M. (2004). *Manual of small animal reproduction and neonatology*. Bsava. 246 p.

15. Feldman, E.C., Nelson, R.W. (2004). *Canine and feline endocrinology and reproduction*. 3rd edition. M.: Saunders, 867 p.

16. Kustritz, M.R. (2010). *Clinical canine and feline reproduction. Evidence-Based Answers.* no. 12, 335 p.

17. Allen, V.Je. (2002). *Polnyj kurs akusherstva i ginekologii sobak* [Full course of obstetrics and gynecology of dogs]. (Vtoroe izdanie ispravlennoe i dopolnennoe Gjeri K.U. Ingland.). Per. s angl. O.Suvorov [(Second Edition revised and supplemented by Gary C.W. England.). Translation from English by O. Suvorov.]. Moscow: AQUARIUM LTD, 448 p.

18. Diulher, H.P. (2002). *Fyzioloheia rozmnozhennia y reproduktyvnaia patoloheia sobak* [Physiology of reproduction and reproductive pathology of dogs]. Kolos. 149 p.

19. Holumbiiivska, T.V., Stefanyk, V.Yu. (2018). Porushennia vidtvornoii funktsii u suk ta metody diahnozyky [Violation of reproductive function in females and diagnostic methods]. *Naukovyi visnyk LNUVMB imeni S.Z. Gzhyskoho* [Science News of LNUVMB imeni S.Z. Zhitsky]. no. 83, pp. 385–395.

20. Inhlend, D. (2007). *Ultrazvukove doslidzhennia reproduktyvnykh orhaniv u suk* [Ultrasound examination of reproductive organs in females]. *Zdorov'ia dribnykh tvaryn* [The health of small animals]. no. 1, pp. 13–15.

21. Johnston, S.D., Root, M.V., Olson, P.N. (2001). *Clinical approach to infertility in the bitch*. *Canine and Feline Theriogenology*. pp. 257–275.

22. Barr, F. (1999). *Ultrazvukovaia dyahnozyka zabohevanyi sobak y koshek*. [Ultrasound diagnosis of diseases of dogs and cats]. Aquarium LTD. 208 p.

23. Margaret, Rot Rustritz. (2010). *Clinical canine and feline reproduction*. University of Minesota college of veterinary medicine. Wiley-Blackwell. pp. 37–49.

24. Ferri, S.T.S., Vicente, W.R.R., Toniollo, G.H. (2003). *Estudo da involucao uterina por meio da ultra-sonografia (modo-B) em cadelas submetidas a cesariana*.

25. Dickie, A. (2006). *Imaging of the reproductive tract. Diagnostic Ultrasound in Small Animal Practice* / ed. P. Mannion. Blackwell, Iowa, USA. pp. 154–155.

26. England, G., Yeager, A., Concannon, P.W. (2003). *Ultrasound imaging of the reproductive Tract of the bitch. Recent Advances in Small Animal Reproduction* / ed. P.W. Concannon, G. England, J. Verstegen, C. Linde-Forsberg. International Veterinary Information Service (www.ivis.org). Ithaca, New York, USA.

27. Lenard, Z.M., Hopper, B.J., Lester, N.V., Richardson, J.L., Robertson, I.D. (2007). Accuracy of prediction of canine litter size and gestational age with ultrasound. *Australian Veterinary Journal.* 85(6), pp. 222–225.

28. Gil, E.M.U., Garcia, D.A.A., Giannico, A.T., Froes, T.R. (2015). Use of B-mode ultrasonography for fetal sex determination in dogs. *Theriogenology.* 84, pp. 875–879.

Ультразвуковой контроль за течением послеродового периода и диагностика акушерской патологии у сук

Черкавский С.В., Власенко С.А., Ерошенко О.В.

Приведены результаты ультразвукового исследования матки сук в послеродовой период. Установлено,

что при его физиологическом течение на третьи сутки, шейка и тело матки размещены в тазовой полости дорсально по отношению к мочевому пузырю, а рога матки – в брюшной полости краниально, в области петель толстого кишечника. На эхограмме отмечается, что рога матки расширены, диаметром 15–18 мм. Стенки рогов утолщенные, участками от 4 до 6 мм. Ее ткани средней эхогенности, неоднородной консистенции. В визуализированной полости матки наблюдается гипоехогенное однородное содержание. У сук с задержанием последа в этот период визуализировались рога матки диаметром 1,91–1,96 см, с утолщенной стенкой, которая имела гипоехогенные участки. Кроме этого рельеф эндометрия был складчатым, неровным, в отдельных местах визуализировались его десквамированные фрагменты. Диагностическим признаком задержания последа было выявление в полости матки тканевых структур околоплодных оболочек с повышенной эхогенностью. На седьмые сутки после родов, на фоне задержания последа, были обнаружены ультразвуковые признаки развития метрита. При этом стенка матки достигала 3,3–3,9 см, имела неоднородную структуру тканей и повышенную эхогенность. На внутреннем рельефе матки визуализировались участки десквамированного эндометрия, а в полости матки – гиперэхогенное содержание. Доказано, что ультразвуковое сканирование матки у сук является эффективным методом контроля за ходом послеродовой инволюции и обеспечивает раннюю диагностику акушерской патологии. Основным диагностическим ультразвуковым показателем за задержания последа у сук является визуализация структур околоплодных оболочек в полости матки, гиперэхогенных участков и утолщение ее стенок. На развитие послеродового метрита указывают значительное утолщение матки и ее слизистой оболочки, участки десквамированного эндометрия и наличие в полости матки гиперэхогенного содержания.

Ключевые слова: сука, послеродовой период, инволюция матки, задержание последа, метрит, ультразвуковой метод.

Ultrasonic control over the course of the postnatal period and diagnosis of obstetric pathology in the bitches

Cherkavskiy S., Vlasenko S., Jerochenko O.

The article presents the results of ultrasound examination of uterine females in the postpartum period. It is established that during its physiological course on the 3rd day, the cervix and body of the uterus are placed in the pelvic cavity dorsally with respect to the bladder, and the horns of the uterus - in the abdominal cavity cranially, in the area of - the loops of the large intestine. On the ultrasound it is noted that the horns of the uterus are expanded, with a diameter of 15-18 mm. The walls of the horns are thickened, with sections from 4 mm to 6 mm. Its tissues are of average echogenicity, of heterogeneous consistency. Hypoechoic homogeneous content is observed in the visualized uterine cavity. In females with delayed litter during this period, uterine horns with a diameter of 1.91–1.96 cm were visualized, with a thickened wall that had hypoechoic areas. In addition, the endometrial relief was folded, uneven, and in some places, its desquamated fragments were visualized. Diagnostic sign of delay of litter was the detection in the uterine cavity of tissue structures of amniotic membranes with increased echogenicity. On the 7th day after childbirth, ultrasound signs of metritis were detected on the background of the delay of the litter. The uterine wall reached 3.3–3.9 cm, had a heterogeneous tissue structure and increased echogenicity. In the internal relief of the uterus, areas of desquamated endometrium were visualized and hyperechoic contents were present in the uterine cavity. It is proved that ultrasound scan of the uterus into the bough is an effective method of monitoring the course of postpartum involution and provides early diagnosis of obstetric pathology. The main diagnostic ultrasound indicator for the delay of litter in the boughs is the visualization of the structures of the amniotic membranes in the uterine cavity, hyperechoic areas and thickening of its walls. The development of postpartum metritis is indicated by significant thickening of the uterus and its mucous membrane, areas of desquamated endometrium and the presence of hyperechoic content in the uterine cavity.

Key words: bitch, postpartum period, uterine involution, delay of litter, metritis, ultrasound.



Copyright: © Cherkavskiy S., Vlasenko S., Jerochenko O. 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.



Черкавський С.В.

ID <https://orcid.org/0000-0001-7182-6166>

Власенко С.А.

ID <https://orcid.org/0000-0002-1291-1085>

Єрошенко О.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-3461-6095>

ВЕТЕРИНАРНА ГІГІЄНА

УДК 619.384.8:576.32

Використання MALDI-TOF мас-спектрометрії у ветеринарній мікології

Тишківська Н.В.¹ , Тишківська А.М.² 

¹Білоцерківський національний аграрний університет

²Національний університет біоресурсів і природокористування України

 Тишківська Н.В., БНАУ, м.Біла Церква, Соборна площа, 8/1. E-mail: anatalya_tyshkivska@ukr.net



Тишківська Н.В., Тишківська А.М.
Використання MALDI-TOF мас-спектрометрії у ветеринарній мікології. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 20–28.

Tyshkivs'ka N.V., Tyshkivs'ka A.M.
Vykorystannja MALDI-TOF masspektrometrii u veterynarnij mikologii'. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 20–28.

Рукопис отримано: 06.09.2019р.
Прийнято: 05.11.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-20-28

Досліджено використання MALDI-TOF мас-спектрометрії для ідентифікації дріжджів та пліснявих грибів у кормах для тварин.

Матеріалом для роботи були зразки кормів для тварин, що надходили для дослідження з різних регіонів України. Наявність дріжджів та пліснявих грибів визначали згідно з ДСТУ ISO 7954:2006. Для встановлення загальної заспореності кормів мікроміцетами проводили первинне виділення грибів із кормів шляхом посіву їх на середовище Сабуро, при цьому застосовували метод серійних розведень для підрахунку вмісту діаспор грибів в 1 г корму. Інкубували досліджені зразки корму за температури 24 °С протягом 5–7 діб. Ідентифікацію пліснявих грибів проводили методом MALDI-TOF.

У процесі мікологічного обстеження кормів протягом 2018–2019 рр. було досліджено 198 зразків для тварин.

За дослідний період найбільшу кількість обстежено комбікормів, що становило 30,4 % у 2018 році, від загальної кількості зразків (19,6 % – комбікорми для птиці, 10,8 % – для свиней). За п'ять місяців 2019 року спостерігаємо таку ж тенденцію: у 31,1 % випадків переважало визначення дріжджів та плісневих грибів у комбікормах, із них 19,8 % припадає на комбікорми для птиці і у 11,3 % випадків – для свиней. На другому місці за кількістю досліджень зразки кукурудзи – 11,9 і 11,3 % у 2018 та 2019 рр. відповідно.

Найбільш поширеними видами грибів у кормах були представники родів *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*.

Належність мікроскопічних грибів до певних родів визначали шляхом оцінювання морфології колоній грибів на середовищах та морфологію конідиєносних структур.

Особливу увагу звертали на мікроскопічні гриби родини *Fusarium*, які є продуцентами різних мікотоксинів. За допомогою програмного забезпечення MALDI Biotyper проводили автоматичну ідентифікацію на підставі порівняння зібраних вихідних спектрів гриба із референтними спектрами бази даних самого приладу, а також із бібліотекою Бельгійського університету (BCCM, Belgian Co-Ordinateo collections of micro-organism).

За результатами мас-спектрометрії, мікроскопічні гриби родини *Fusarium* були представлені 9 видами. Із них найчастіше зустрічали 5 видів: *F. proliferatum*, *F. acutatum*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides*. Серед грибів родини *Aspergillus* переважали *A. flavus*, *A. pseudoglaucus*, *A. tubingensis*, *A. niger*.

Проведення видової ідентифікації мікроскопічних грибів за допомогою мас-спектрометрії допомагає швидко та якісно ідентифікувати плісняві гриби і дріжджі. Визначення видової належності мікроскопічних організмів відбувається за рахунок аналізу білкової фракції лізату мікроскопічних грибів та дріжджів ("пряме білкове профілювання"). Програмне забезпечення MALDI Biotyper включає автоматичну ідентифікацію пліснявих грибів на підставі порівняння вихідних спектрів з референтними спектрами бази даних. Ідентифікація мікроорганізмів за допомогою MALDI-TOF MS ґрунтується на оцінці рибосомних білків, які зазвичай наявні у клітині.

Чутливість методу MALDI-TOF MS становить 10^3 – 10^6 м.к./см³. При цьому точність ідентифікації залежить від кількості досліджуваного матеріалу.

Для визначення ймовірності ідентифікації заданий логарифмічний показник – коефіцієнт відповідності Score, щодо значення якого оцінюють надійність і адекватність результатів. Чим вище коефіцієнт відповідності, тим імовірніше отримання правильного результату ідентифікації.

Технологія MALDI-TOF мас-спектрометричної ідентифікації мікроміцетів характеризується високою швидкістю вимірювання, низькою вартістю використовуваних реагентів і матеріалів та простою пробопідготовкою.

Ключові слова: ідентифікація пліснявих грибів, MALDI-TOF, мас-спектрометрія, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Метод мас-спектрометрії широко використовували в наукових дослідженнях десятиліттями, переважно в галузі хімічних наук, але тільки в 1975 р. група авторів [1] вперше висловила припущення, що з використанням цієї технології можна отримувати мас-спектрометричні характеристики бактерій. Вони відзначили, що бактеріальні екстракти різних родів і видів мають унікальні спектри. Поява і розвиток в кінці 1980-х років [2] м'яких іонізуючих технологій, таких як MALDI і електроспрей-іонізації (ESI), уможливили проведення мас-спектрометричного аналізу великих біологічних молекул, зокрема, білків. Holland і співавт. в 1996 р. вперше повідомили про можливості отримання мас-спектрометричних "відбитків пальців" інтактних бактеріальних клітин з використанням MALDI-TOF [3]. З цього часу почалося зростання кількості публікацій з видової ідентифікації бактерій за допомогою цієї технології [4–7].

Здатність MALDI-TOF до швидкої ідентифікації мікроорганізмів дозволяє використовувати цей метод в різних галузях науки і практики: клінічній мікробіологічній діагностики, дослідженнях довкілля, контроль якості фармацевтичних і харчових продуктів. Вкрай важливі ознаки методу – висока продуктивність і низький рівень витрат – роблять його перспективною альтернативою стандартним лабораторним біохімічним і молекулярним ідентифікаційним системам [8, 9].

MALDI-TOF MS (з англ. matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry) – метод матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації з використанням часпролітної мас-спектрометрії, який позиціонується як швидка, надійна і економічно вигідна альтернатива класичного методу ідентифікації [10–16]. Він заснований на екстракції пептидів і білків з клітин гриба та працює за принципом "fingerprint" (молекулярний "відбиток пальця"), що зрівняється з еталонними спектрами в базі MALDI.

MALDI-TOF мас-спектрометр складається з трьох функціональних частин:

1) лазер, під впливом якого відбувається десорбція/іонізація;

2) аналізатор мас, який ділить іони згідно з їх співвідношенням маса/заряд (m/z) за часом польоту в вакуумі;

3) детектор – пристрій для визначення розділених іонів.

За використання MALDI-аналізу у мікробіології досліджувані зразки культур мікроорганізмів змішують з матрицею, яка володіє оптичною абсорбцією в діапазоні використовуваних довжин хвиль [17]. Склад матриці може змінюватися залежно від аналізованих біомолекул і типу використовуваного лазера [18]. Найбільш часто використовувані матриці – це α -ціано-4-гідроксикорична кислота, яка показала високу ефективність для детекції біомаркерів протеїнів [13–15], і 2,4-гідроксифенілбензойна кислота, має переваги за детекції глікопептидів і глікопротеїнів [19–22].

Процесинг інтактних мікроорганізмів у MALDI-TOF може проходити без попередньої підготовки, оскільки більшість бактерій лізуються після контакту з водою, органічним розчинником і/або сильною кислотою в матриці.

Під час ідентифікації стійких мікроорганізмів, таких як спори бактерій, деякі віруси, клітини дріжджів, з використанням MALDI за підготовчих процедур зазвичай додають сильні органічні кислоти і/або спирт. За дослідження деяких родів бактерій, таких як *Actinomyces*, може бути доцільним проведення попередньої екстракції білка [23].

Отже, MALDI-TOF – автоматизована молекулярна платформа, яка являє собою швидкий, простий і надійний метод видової ідентифікації бактерій та грибів.

Мета дослідження – використання MALDI-TOF мас-спектрометрії для ідентифікації дріжджів та пліснявих грибів у кормах для тварин.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом для роботи були зразки кормів, що надходили для дослідження у експертний центр діагностики та лабораторного супроводу "Біолайтс" з різних областей України протягом

2018–2019 рр. Наявність дріжджів та пліснявих грибів визначали згідно з ДСТУ ISO 7954:2006 [24]. Для встановлення загальної заспореності кормів мікроміцетами проводили первинне виділення грибів із кормів шляхом посіву їх на середовище Сабуро, при цьому застосовували метод серійних розведень для підрахунку вмісту діаспор грибів в 1 г корму. Інкубували досліджені зразки корму за температури 24 °C протягом 5–7 діб. Ідентифікацію пліснявих грибів проводили методом MALDI-TOF мас-спектрометром Bruker MALDI, із використанням рідинного культивування зразків мікроскопічних грибів та екстракцією у етанолово-мурашиній кислоті для приготування зразків.

Із чашки з первинним посівом ізолювали колонії для ідентифікації, з яких готували суспензію в 300 мкл ультрачистої води для ВЕРХ та ретельно перемішували для досягнення максимальної гомогенізованої суспензії. Потім в пробірці з препаратами додавали по 900 мкл абсолютного етанолу, перемішували та інкубували за кімнатної температури протягом півгодини. Після експозиції центрифугували 2 хв за 13 000 об/хв, видаляли супернатант, висушували на повітрі. У пробірці вносили по 50 мкл ацетонітрилу і 70 % розчину мурашиної кислоти, знову перемішували і наносили матеріал в обсязі 1 мкл на лунки металевої мішені (чіпа). На кожну пробу наносили по 1 мкл матриці для MALDI-TOF (α -ціано-гідроксикорична кислота в розчині 50 % ацетонітрилу і 2,5 % трихлороцтової кислоти). Після кристалізації проб мішень із зразками поміщали в камеру мас-аналізатора. Для отримання одиничного мас-спектра використовували 100 імпульсів лазера (частота 60 Гц); діапазон реєстрації становив 1000–20000 m/z, фіксували тільки позитивні іони, сумарний спектр кожного зразка складали на основі 100 пострілів. Із кожної лунки чіпа знімали спектр, що являє собою суму 6 одиничних спектрів (600 імпульсів лазера). Усі мас-спектри реєстрували у лінійному режимі, без використання рефлектрона.

Результати досліджень. У процесі мікологічного обстеження кормів протягом 2018–2019 рр. було досліджено 198 зразків для тварин (табл. 1).

Задослідний період найбільшу кількість обстежено комбікормів, що становило 30,4 % у 2018 році, від загальної кількості зразків (19,6 % – комбікорми для птиці, 10,8 % – для свиней). За п'ять місяців 2019 року спостерігаємо таку ж тенденцію: у 31,1 % випадків переважало визначення дріжджів та плісневих грибів у комбікормах, із них 19,8 % припадає на комбікорми для птиці і у 11,3 % випадків –

для свиней. На другому місці за кількістю досліджень зразки кукурудзи – 11,9 та 11,3 % у 2018 та 2019 рр. відповідно.

Таблиця 1 – Кількість досліджених зразків кормів упродовж 2018–2019 років

Корм	Роки	
	2018	2019
Макуха соєва	10	14
Шрот сояшино-вий	8	11
Комбікорм ПК	18	21
Комбікорм СК	10	12
Ячмінь	8	6
Кукурудзяний силос	5	7
Люцерновий сінаж	6	8
Кукурудза	11	12
Пшениця	9	7
Ячмінь	7	8
Всього	92	106

Аналізуючи результати мікологічного дослідження слід відмітити, що 95,7 % досліджених зразків були уражені потенційно небезпечними мікроскопічними грибами (рис. 1).

Найбільш поширеними видами грибів у кормах були представники родів *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*.

Належність мікроскопічних грибів до певних родів визначали шляхом оцінювання морфології колоній грибів на середовищах та морфологію конідієносних структур [25].

Описуючи колонії, спиралися на такі діагностичні ознаки як діаметр колоній, їх колір, форма, консистенція, форма краю колоній, реверзум колоній. Ідентифікацію мікропрепаратів мікроскопічних грибів проводили на основі таких діагностичних ознак як форма апікального розширення, його діаметр, довжина та ширина конідієносця, стеригм, форма конідій.

Особливу увагу звертали на мікроскопічні гриби родини *Fusarium*, адже ряд вчених [26–28] вказують, що представники цього роду є найбільш небезпечними у глобальному масштабі – вони уражають рослини як на стадії вегетації, накопичуючи в їх органах і тканинах фітотоксини, так і грубі корми й зерно під час зберігання. Фузаріоз найчастіше переважає у зерні до збирання врожаю і при цьому можуть продукуватись різні мікотоксини, важливими з яких є трихотецени, фумонізени, зеараленон, моніліформін та фузарієва кислота. Популяція грибів *Fusarium* в сільськогосподарських ґрунтах є дуже розповсюдженою і включає як сапрофіти, що розщеплюють залишки, так і патогенні, які можуть бути причиною хвороб рослин і тварин [29]. Саме тому, важли-

во визначити видову належність грибів роду *Fusarium*, з цією метою застосовували метод мас-спектрометрії MALDI-TOF MS.

Колонії грибів, що виростили на середовищі Сабуро відбирали, екстрагували згідно з методикою та наносили на лунки металевої мішені мас-спектрометра для ідентифікації.

За допомогою програмного забезпечення MALDI Biotyper проводили автоматичну ідентифікацію на підставі порівняння зібраних вихідних спектрів гриба із референтними спектрами бази даних самого приладу, а також із бібліоте-

кою Бельгійського університету (BCCM, Belgian Co-Ordinateo collections of micro-organism).

За результатами мас-спектрометрії, мікроскопічні гриби родини *Fusarium* були представлені 9 видами. Із них найчастіше зустрічали 5 видів: *F. proliferatum*, *F. acutatum*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides* (рис. 2).

Виявлені гриби роду *Fusarium* здатні продукувати мікотоксини: *F. proliferatum* – моноформін і фумонізін; *F. acutatum* – моноформін; *F. subglutinans* – зеараленон і моноформін; *F. verticillioides* – фумонізін. *F. poae* є відносно

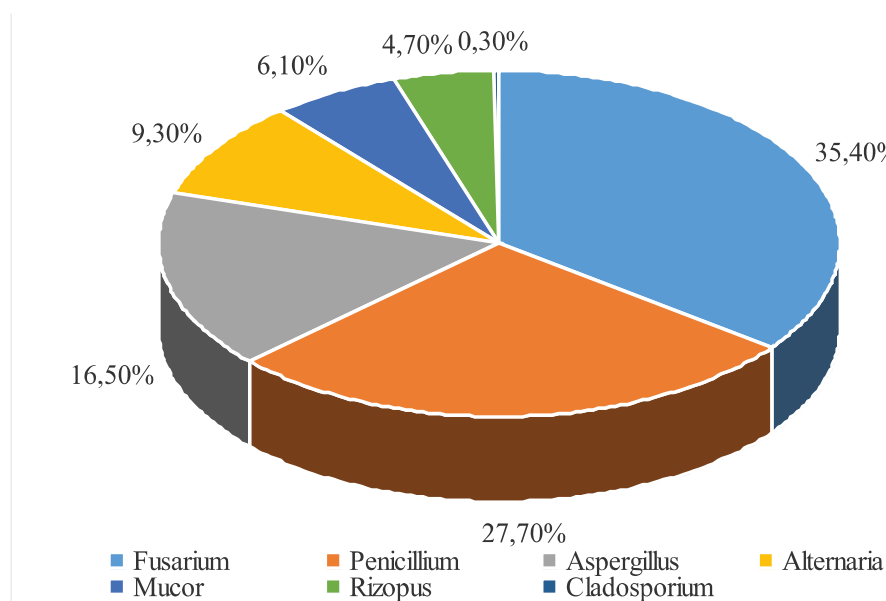


Рис.1. Основні види плісневих грибів, забруднювачів кормів.

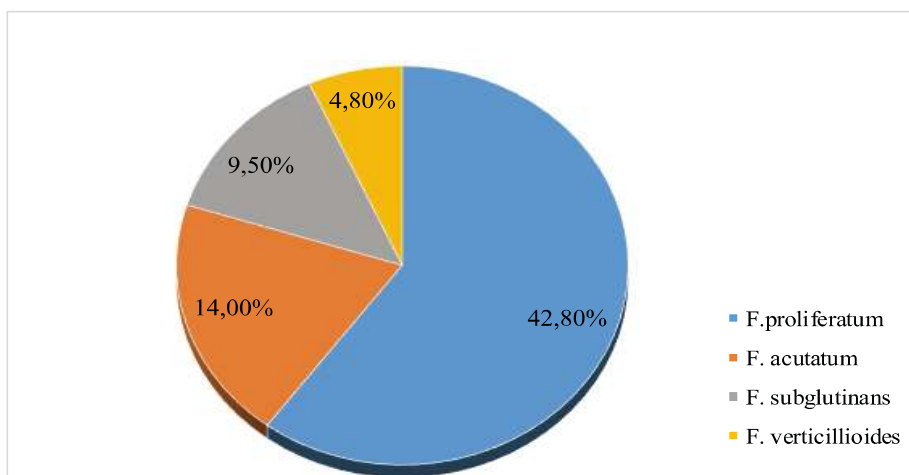


Рис. 2. Видова належність грибів роду *Fusarium*.

слабкими патогенами, але здатні до синтезу токсинів [30].

Саме тому, надзвичайно важливо ідентифікувати гриби за видом застосовуючи надійні методи MALDI TOF мас-спектрометрії.

Значне поширення у досліджених зразках мали гриби родини *Aspergillus*. Серед яких переважали *A. flavus*, *A. pseudoglaucus*, *A. tubingensis*, *A. niger*.

A. niger та *A. pseudoglaucus* за ростом і формою колоній та за мікроскопії дуже схожі між собою. Саме тому, лише за допомогою мас-спектрометрії вдалося ідентифікувати мікроскопічні гриби.

Спори *Aspergillus flavus*, потрапляючи через дихальні шляхи або травний тракт до організму птиці, зумовлюють плісневий мікоз, який характеризується фібринозним вузликовим ураженням органів дихання (повітряних мішків, бронхів, легень) і серозних покривів. Також захворювання птиці можливе в разі проникнення спор і міцелію аспергіл через неушкоджену шкаралупу яйця з подальшим розвитком в білку, жовтку і повітряній камері. У новонароджених курчат захворювання проявляється вже в перші години життя [31].

Тому, сучасний спектр мікологічних досліджень кормів та біологічного матеріалу обов'язково має включати родову та видову ідентифікацію мікроміцетів.

Таблиця 2 – Ступінь достовірності отриманих результатів за допомогою MALDI-TOF мас-спектрометрії

№ п/п	Діапазон Score	Опис
1	2000–3000	Висока ймовірність видової ідентифікації
2	1700–1999	Надійна родова ідентифікація, можлива видова ідентифікація
3	0–1700	Ненадійна ідентифікація

Обговорення. Проведення видової ідентифікації мікроскопічних грибів за допомогою мас-спектрометрії допомагає швидко і якісно ідентифікувати плісняві гриби та дріжджі. Визначення видової належності мікроскопічних організмів відбувається за рахунок аналізу білкової фракції лізату мікроскопічних грибів та дріжджів ("пряме білкове профілювання"). Програмне забезпечення MALDI Biotyper включає автоматичну ідентифікацію пліснявих грибів на підставі порівняння вихідних спектрів з референтними спектрами бази даних. Ідентифікація мікроорганізмів за допомогою MALDI-TOF MS ґрунтується на оцінці рибосомних білків, які зазвичай наявні в клітині.

Чутливість методу MALDI-TOF MS становить 10^3 – 10^6 м.к./см³. При цьому точність ідентифікації залежить від кількості досліджуваного матеріалу.

Як єдина система, цей метод дозволяє аналізувати біомолекули (такі як ДНК, білки, пептиди) і великі органічні молекули (такі як полімери). Ці молекули, зазвичай, тендітні і фрагментуються за іонізації більш традиційними методами. Після іонізації, викликаної лазерним променем, система виконує сканування на наявність білків грибів, які в основному потрапляють в діапазон від 4000 до 20000 Дальтон.

Для визначення ймовірності ідентифікації заданий логарифмічний показник – коефіцієнт відповідності Score, щодо значення якого і оцінюють надійність і адекватність результатів. Чим вище коефіцієнт відповідності, тим імовірніше отримання правильного результату ідентифікації.

Дані про результат ідентифікації досліджуваного зразка виводять у вигляді звіту, що включає два найбільш близьких мікроорганізмів і більш детальну інформацію по десяти інших мікроорганізмах, що мають ознаки подібності з мас-спектром досліджуваного зразка.

Достовірність отриманих результатів характеризується значенням від 0 до 3000, а також колірним, символьним і літерним позначенням, представленим у таблиці 2.

Результат ідентифікації мікроорганізмів, що містяться в зразку, записують у журнал мікробіологічного дослідження і/або вносять у

комп'ютерно-інформаційну систему, що зберігає інформацію лабораторних результатів. Звіт також зберігають в базі програмного забезпечення приладу.

Періодичність контролю стабільності вимірювань регламентують у Керівництві по якості лабораторії. Залежно від обраної періодичності, але не рідше 1 разу на місяць, проводять ідентифікацію контрольних тест-штамів мікроорганізмів.

Висновки. Технологія MALDI-TOF мас-спектрометричної ідентифікації мікроміцетів характеризується високою швидкістю вимірювання, низькою вартістю використовуваних реактивів і матеріалів та простою пробопідготовкою.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Тварин для дослідження не використовували.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Корноухова Л.Л. Результативность применения масс-спектрометрии при автоматизации микробиологической диагностики. Клин. лаб. диагностика. 2014. № 9. 73 с.
2. Sauer S., Kliem M. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010. Vol. 8. P. 74–82.
3. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology / S.Emonet, et al. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010. Vol. 16. P. 1604–1613.
4. Полищук А.Г. MALDI-TOF масс-спектрометрическая идентификация медицински значимых микроорганизмов (обзор). Проблемы медицинской микологии, 2011. Т.13. №4. С. 8–10.
5. Identification of dermatophyte species causing onychomycosis and tinea pedis by MALDI-TOF mass spectrometry / M. Erhard et al. *Exp. Dermatol.* 2008. Vol. 17. P. 356–361.
6. Rapid species diagnosis for invasive candidiasis using mass spectrometry / C. Marinach-Patrice et al. *PLoS One.* 2010. Vol. 5. 8862 p.
7. Real-time identification of bacteria and Candida species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry / A. Ferroni et al. *J. Clin. Microbiol.* 2010. Vol. 48. P. 1542–1548.
8. Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р. Масс-спектрометрия – новое слово в клинической микробиологии. Клиническая лабораторная диагностика. 2016. № 61(12). С. 842–848.
9. Improved identification of yeast species directly from positive blood culture media by combining Sepsityper specimen processing and Microflex analysis with the matrix-assisted laser desorption ionization Biotyper system / Y. Yan et al. *J. Clin. Microbiol.* 2011. Vol. 49. P. 2528–2532.
10. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for fast and accurate identification of clinically relevant Aspergillus species / A. Alanio et al. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011. Vol. 17. P. 750–755.
11. Use of mass spectrometry to identify clinical Fusarium isolates / C. Marinach-Patrice et al. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009. Vol. 15. P. 634–642.
12. The use of ITS DNA sequence analysis and MALDI-TOF mass spectrometry in diagnosing an infection with Fusarium proliferatum / F. Seyfarth et al. *Exp. Dermatol.* 2008. Vol. 17. P. 965–971.
13. Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of Candida parapsilosis, C. orthopsilosis and C. metapsilosis / I.Quiles-Melero et al. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011. Vol. 12. P. 1364–1385.
14. Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry / O. Bader et al. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011. Vol. 17. P. 1359–1365.
15. MALDI-TOF mass spectrometry proteomic phenotyping of clinically relevant fungi / L.Putignani et al. *Mol. Biosyst.* 2011. Vol. 7. P. 620–629.
16. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of clinically important yeast species / L. G. Stevenson et al. *J. Clin. Microbiol.* 2010. Vol. 48. P. 3482–3486.
17. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of

clinical yeast isolates / G. Marklein et al. *J. Clin. Microbiol.* 2009. Vol. 47. P. 2912–2917.

18. Van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper Ed J. J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *Clin. Microbiol.* 2010. Vol. 48. P. 900–907.

19. Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species Candida orthopsilosis and Candida metapsilosis in comparison to the closely related species Candida parapsilosis / S. R. Lockhart et al. *J. Clin. Microbiol.* 2008. Vol. 46. P. 2659–2664.

20. Interaction of bacteria and ion-exchange particles and its potential in separation for matrixassisted laser desorption/ionization mass spectrometric identification of bacteria in water / Z. Guo et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2009. Vol. 23. P. 3983–3993.

21. Whole-cell matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid identification of bacteria cultured in liquid media / N. Zhou et al. *Sci. China Life Sci.* 2011. Vol. 54. P. 48–53.

22. Aspergillus PCR: One Step Closer to Standardization / P. L. White et al. *J. Clin. Microbiol.* 2010. Vol. 48. P. 1231–1240.

23. Discrimination of Penicillium isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry fingerprinting / J. M. Hettick et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2008. Vol. 22. P. 2555–2560.

24. ДСТУ ISO 7954:2006 Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Загальні настанови з підрахунку дріжджів і мікроскопічних грибів. Техніка підрахунку колоній, культивованих за температури 25°C (ISO 7954:1997, IDT). Київ: Держспоживстандарт України, 2008. 5 с.

25. Саттон Д., Фотергил А., Ринальди М. Определи- тель патогенных и условно патогенных грибов. Москва: Мир, 2001. 467 с.

26. Аак О.В. Аллергены грибов, особенности мико- генной сенсibilизации (Обзор). Пробл. мед. микологии. 2005. Т.7. № 2. С. 12–15.

27. Журавлева Н.П., Бегаева Н.Н., Бабенко Г.А. Ес- тественная изменчивость микроорганизмов – продуцентов аллергено активных веществ. Пробл. мед. микологии. 2001. Т.3. № 2. С. 3–5.

28. Тревор К. Шміт. Современные концепции мико- токсикозов. Ефективне птахівництво та тваринництво. 2004. № 9. С. 67–73.

29. Ярошенко М.О. Плісеневі сапрофіти – біотичні контамінанти кормів як можливе джерело мікозів сіль- ськогосподарської птиці. Ветеринарна медицина. 2016. В. 102. С. 235–240.

30. Марфенина О.Е., Фомичева Г.М. Потенциальные патогенные мицелиальные грибы в среде обитания чело- века. Современные тенденции. Микология сегодня / под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева. Москва: Националь- ная академия микологии, 2007. Т. 1. С. 235–266.

31. A dark strain in the Fusarium solani species complex isolated from primary subcutaneous sporotrichoid lesions associated with traumatic inoculation via a rose bush thorn / A.S. Kantarcioglu et al. *Med. Mycol.* 2009. Vol. 30. P. 1–7.

REFERENCES

1. Kornoukhova, L.L. (2014). Rezultativnost prymeneniyia mass-spektrometriyu pry avtomatyzatsyy mykrobiyolohychoi dyahnostyky [The effectiveness of mass spectrometry in

the automation of microbiological diagnostics]. *Klyn. lab. Dyahnostyka* [Wedge. lab. diagnostics]. no. 9, pp. 73–73.

2. Sauer, S., Kliem, M. (2010). Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria *Nat. Rev. Microbiol.* Vol. 8, pp. 74–82.

3. Emonet, S., Shah, H.N., Cherkaoui, L.A. (2010). Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. *Clin. Microbiol. Infect.* Vol. 16, pp. 1604–1613.

4. Polyshchuk, A.H. (2011). MALDI-TOF mass-spektrometricheskaja identifikacija medicinski znachimyh mikromicetov (obzor) [MALDI-TOF mass spectrometric identification of medically significant micromycetes (review)]. *Problemy medicinskoj mikologii* [Problems of Medical Mycology]. Vol. 13, no. 4, pp. 8–11.

5. Erhard, M., Hippler, U.C., Burmester, A. (2008). Identification of dermatophyte species causing onychomycosis and tinea pedis by MALDI-TOF mass spectrometry. *Exp. Dermatol.* Vol. 17, pp. 356–361.

6. Marinach-Patrice, C., Fekkar, A., Atanasova, R. (2010). Rapid species diagnosis for invasive candidiasis using mass spectrometry. *PLoS One.* Vol. 5, 8862 p.

7. Ferroni, A., Suarez, S., Beretti, J.L. (2010). Real-time identification of bacteria and *Candida* species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 48, pp. 1542–1548.

8. Pryputnevych, T.V., Melkumian, A.R. (2016). Mass-spektrometriya – novoe slovo v klynicheskoi mykrobiologii [Mass spectrometry is a new word in clinical microbiology]. *Klynicheskaja laboratornaia dyahnostyka* [Clinical Laboratory Diagnostics]. no. 61(12), pp. 842–848.

9. Yan, Y., He, Y., Maier, T. (2011). Improved identification of yeast species directly from positive blood culture media by combining Sepsityper specimen processing and Microflex analysis with the matrix-assisted laser desorption/ionization Biotyper system. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 49, pp. 2528–2532.

10. Alanio, A., Beretti, J.L., Dauphin, B. (2011). Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for fast and accurate identification of clinically relevant *Aspergillus* species. *Clin. Microbiol. Infect.* Vol. 17, pp. 750–755.

11. Marinach-Patrice, C., Lethuillier, A., Marly, A. (2009). Use of mass spectrometry to identify clinical *Fusarium* isolates. *Clin. Microbiol. Infect.* Vol. 15, pp. 634–642.

12. Seyfarth, F., Ziemer, M., Sayer, H.G. (2008). The use of ITS DNA sequence analysis and MALDI-TOF mass spectrometry in diagnosing an infection with *Fusarium proliferatum*. *Exp. Dermatol.* Vol. 17, pp. 965–971.

13. Quiles-Melero, I., Garcia-Rodriguez, J., Gomez-Lopez, A. (2011). Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* Vol. 12, pp. 1364–1385.

14. Bader, O., Weig, M., Taverne-Ghadwal, L. (2011). Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin. Microbiol. Infect.* Vol. 17, pp. 1359–1365.

15. Putignani, L., Del Chierico, F., Onori, M. (2011). MALDI-TOF mass spectrometry proteomic phenotyping of clinically relevant fungi. *Mol. Biosyst.* Vol. 7, pp. 620–629.

16. Stevenson, L.G., Drake, S.K., Shea, Y.R. (2010). Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry for identification of clinically important yeast species. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 48, pp. 3482–3486.

17. Marklein, G., Josten, M., Klanke, U. (2009). Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 47, pp. 2912–2917.

18. Van Veen, S.Q., Claas, E.C.J., Kuijper, Ed J. J. (2010). High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *Clin. Microbiol.* Vol. 48, pp. 900–907.

19. Lockhart, S.R., Messer, S.A., Pfaller, M.A. (2008). Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in comparison to the closely related species *Candida parapsilosis*. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 46, pp. 2659–2664.

20. Guo, Z., Liu, Y., Li, S. (2009). Interaction of bacteria and ion-exchange particles and its potential in separation for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric identification of bacteria in water. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* Vol. 23, pp. 3983–3993.

21. Zhou, N., Wang, N., Xu, B. (2011). Whole-cell matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid identification of bacteria cultured in liquid media. *Sci. China Life Sci.* Vol. 54, pp. 48–53.

22. White, P.L., Bretagne, S., Klingspor, L. (2010). *Aspergillus* PCR: One Step Closer to Standardization. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 48, pp. 1231–1240.

23. Hettick, J.M., Green, B.J., Buskirk, A.D. (2008). Discrimination of *Penicillium* isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry fingerprinting. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* Vol. 22, pp. 2555–2560.

24. DSTU ISO 7954:2006. Mikrobiologhiia kharchovykh produktiv i kormiv dlia tvaryn. Zahalni nstanovy z pidrakhunku drizhdzhiv i mikroskopichnykh hrybiv. Tekhnika pidrakhunku kolonii, kultyvovanykh za temperatury 25°C (ISO 7954:1997, IDT) [DSTU ISO 7954: 2006 Microbiology of food and animal feed. General guidelines for counting yeast and microscopic fungi. Technique for counting colonies cultured at 25°C (ISO 7954: 1997, IDT)]. Kyiv: State Consumer Standard of Ukraine Publ., 2008. 5 p.

25. Satton, D., Foterhyll, A., Rynaldy, M. (2001). *Opredelitel' patogennyh i uslovno patogennyh gribov* [Determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi]. Moscow: World, 486 p.

26. Aak, O.V. (2005). Allergeny gribov, osobennosti mikogennoj sensibilizacii (Obzor) [Fungus allergens, especially mycogenic sensitization (Review)]. *Probl. med. Mikologii* [Problems honey. mycology]. Vol. 7, no. 2, pp. 12–15.

27. Zhuravleva, N.P., Begaeva, N.N., Babenko, G.A. (2001). Estestvennaja izmenchivost' mikromicetov – producentov allergeno aktivnih veshhestv [The natural variability of micromycetes – producers of allergenic active substances]. *Probl. med. Mikologii* [Problems honey. Mycology]. Vol. 3, no. 2, pp. 3–5.

28. Trevor, K. Shmit. (2004). Sovremennye koncepcii mikotoksikozov [Modern concepts of mycotoxicosis].

Efektivne ptahivnictvo ta tvarinnictvo [Effective poultry and livestock]. no. 9, pp. 67–73.

29. Jaroshenko, M.O. (2016). Plisenevi saprofiti – biotichni kontaminanti kormiv jak mozhlive dzherelo mikoziv sil'skogospodars'koї ptici [Mold saprophytes - biotic contaminants of forage as a possible source of mycosis of farm poultry]. Veterinarna medicina [Veterinary medicine]. Issue 102, pp. 235–240.

30. Marfenina, O.E., Fomicheva, G.M. (2007). Potencial'nye patogennye micelial'nye griby v srede obitanija cheloveka [Potential pathogenic mycelial fungi in the human environment]. Sovremennye tendencii [Modern tendencies]. Mikologija segodnja / pod red. Ju.T. D'jakova, Ju.V. Sergeeva [Mycology Today / Ed. Yu.T. Dyakova, Yu.V. Sergeeva]. Moscow: National Academy of Mycology, Vol. 1, pp. 235–266.

31. Kantarcioglu, A.S., Summerbell, R.C., Sutton, D.A. (2009). A dark strain in the *Fusarium solani* species complex isolated from primary subcutaneous sporotrichoid lesions associated with traumatic inoculation via a rose bush thorn. Med. Mycol. Vol. 30, pp. 1–7.

Использование Maldi-TOF масс-спектрометрии в ветеринарной микологии

Тышківська Н.В., Тышківська А.М.

Исследовано использование MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации дрожжей и плесневых грибов в кормах для животных.

Материалом для работы были образцы кормов для животных, поступавшие для исследования из разных регионов Украины. Наличие дрожжей и плесневых грибов определяли согласно ДСТУ ISO 7954: 2006. Для установления общей засоренности кормов микромицетами проводили первичное выделение грибов с кормов путем посева их на среду Сабуро, при этом применяли метод серийных разведений для подсчета содержания диаспор грибов в 1 г корма. Инкубировали исследованные образцы корма за температуры 24 ° C в течение 5–7 суток. Идентификацию плесневых грибов проводили методом MALDI-TOF.

В процессе микологического обследования кормов в течение 2018–2019 гг. было исследовано 198 образцов кормов для животных.

За исследовательский период наибольшее количество обследовано комбикормов, что составляло 30,4 % в 2018 году, от общего количества образцов (19,6 % – комбикорма для птицы, 10,8 % – для свиней). За пять месяцев 2019 г. наблюдаем ту же тенденцию: в 31,1 % случаев преобладало определение дрожжей и плесневых грибов в комбикормах, из них 19,8 % приходится на комбикорма для птицы и в 11,3 % случаев – для свиней. На втором месте по количеству исследований образцы кукурузы – 11,9 и 11,3 % в 2018 и 2019 соответственно.

Наиболее распространенными видами грибов в кормах были представители родов *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*.

Принадлежность микроскопических грибов к определенным родам определяли путем оценки морфологии колонии грибов на средах и морфологию конидиеносных структур.

Особое внимание обращали на микроскопические грибы семейства *Fusarium*, которые являются продуцентами различных микотоксинов. С помощью программно-

го обеспечения MALDI Biotyper проводили автоматическую идентификацию на основании сравнения собранных исходных спектров гриба с референтными спектрами базы данных самого прибора, а также с библиотекой Бельгийского университета (BCCM, Belgian Co-Ordinateo collections of micro-organism).

За результатами масс-спектрометрии, микроскопические грибы семейства *Fusarium* были представлены 9 видами. Из них чаще всего встречали 5 видов: *F. proliferatum*, *F. acutatum*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides*. Среди грибов семьи *Aspergillus* преобладали *A. flavus*, *A. pseudoglaucus*, *A. tubingensis*, *A. niger*.

Проведение видовой идентификации микроскопических грибов с помощью масс-спектрометрии помогает быстро и качественно идентифицировать плесневые грибы и дрожжи. Определение видовой принадлежности микроскопических организмов происходит за счет анализа белковой фракции лизата микроскопических грибов и дрожжей ("прямое белковое профилирование"). Программное обеспечение MALDI Biotyper включает автоматическую идентификацию плесневых грибов на основании сравнения выходных спектров с референтными спектрами базы данных. Идентификация микроорганизмов с помощью MALDI-TOF MS основывается на оценке рибосомальных белков, которые обычно присутствуют в клетке.

Чувствительность метода MALDI-TOF MS составляет 10^3 – 10^6 м.к./см³. При этом точность идентификации зависит от количества исследуемого материала.

Для определения вероятности идентификации заданный логарифмический показатель – коэффициент соответствия Score, по значению которого и оценивают надежность и адекватность результатов. Чем выше коэффициент соответствия, тем вероятнее получение правильного результата идентификации.

Технология MALDI-TOF масс-спектрометрической идентификации микромицетов характеризуется высокой скоростью измерения, низкой стоимостью используемых реактивов и материалов и простой пробоподготовкой.

MALDI-TOF MC имеет высокую диагностическую чувствительность.

Ключевые слова: идентификация плесневых грибов, MALDI-TOF, масс-спектрометрия, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*.

Use of Maldi-TOF mass spectrometry in veterinary mycology

Tyshkivskaya N., Tyshkivskaya A.

Use of MALDI-TOF mass spectrometry to identify yeast and molds in animal feed.

The material for the work was animal feed samples received for research from different regions of Ukraine. The presence of yeast and molds was determined according to DSTU ISO 7954:2006. To establish the general contamination of the feed with micromycetes, the fungi were first isolated from the feed by planting them on Saburo medium, and the serial dilution method was used to calculate the content of fungi diaspores in 1 g of feed. The feed samples were incubated and studied at a temperature of 24 ° C for 5–7 days. The identification of molds was carried out using the MALDI-TOF method.

In the process of mycological examination of feed during 2018–2019. 198 animal feed samples were examined.

During the study period, the largest number of feed was examined, which was 30.4% in 2018, of the total number of samples (19.6% - feed for poultry, 10.8% - for pigs). For five months of 2019, we observed the same trend: in 31.1% of cases, the definitions of yeast and molds in compound feeds prevailed, of which 19.8% accounted for compound feeds for poultry and in 11.3% of cases for pigs. In second place in the number of studies, corn samples are 11.9 and 11.3% in 2018 and 2019, respectively.

The most common types of fungi in the feed were representatives of the genera *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*.

The affiliation of microscopic fungi to specific genera was determined by assessing the morphology of the fungal colony on media and the morphology of conidiophore structures

Particular attention was paid to microscopic fungi of the *Fusarium* family, which are producers of various mycotoxins. Using the MALDI Biotyper software, automatic identification was performed based on a comparison of the collected initial spectra of the fungus with the reference spectra of the database of the instrument itself, as well as with the library of the University of Belgium (BCCM, Belgian Co-Ordinateo collections of micro-organism).

Following the results of mass spectrometry, microscopic fungi of the *Fusarium* family were represented by 9 species. Of these, 5 species were most often found: *F. proliferatum*,

F. acutatum, *F. subglutinans*, *F. verticillioides*. Among the fungi of the *Aspergillus* family, *A. flavus*, *A. pseudoglaucus*, *A. tubingensis*, and *A. niger* predominated.

Species identification of microscopic fungi using mass spectrometry helps quickly and accurately identify mold fungi and yeast. Determination of the species affiliation of microscopic organisms occurs through analysis of the protein fraction of the lysate of microscopic fungi and yeast ("direct protein profiling"). MALDI Biotyper software includes automatic identification of molds based on a comparison of the output spectra with the reference spectra of the database. Identification of microorganisms using MALDI-TOF MS is based on the assessment of ribosomal proteins that are usually present in the cell.

The sensitivity of the MALDI-TOF MS method is 103–106 m.k./cm³. In this case, the accuracy of identification depends on the amount of test material.

To determine the likelihood of identification, a given logarithmic indicator is the compliance coefficient Score, the value of which is used to evaluate the reliability and adequacy of the results. The higher the match rate, the more likely it is to get the correct identification result.

MALDI-TOF technology for mass spectrometric identification of micromycetes has a high measurement speed, low cost of reagents and materials used, and simple preparation holes.

MALDI-TOF MS has a high diagnostic sensitivity.

Key words: mold identification, MALDI-TOF, mass spectrometry, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium*.



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



Тишківська Н.В.
Тишківська А.М.

ID <https://orcid.org/0000-0003-4937-1390>
ID <https://orcid.org/0000-0003-4419-2174>

ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.981.51:615.373/.383:636.1

Визначення ефективності методик виділення спор збудника *Bacillus anthracis* із ґрунту

Рубленко І.О. , Рубленко С.В. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 БНАУ, м.Біла Церква, Соборна площа, 8/1. E-mail: rubs@ukr.net



Рубленко І.О., Рубленко С.В. Визначення ефективності методик виділення спор збудника *Bacillus anthracis* із ґрунту. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 29–35.

Rublenko I.O., Rublenko S.V. Vyznachennja efektyvnosti metodyk vydilennja spor zbudnyka *Bacillus anthracis* iz g'runtu. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 29–35.

Рукопис отримано: 06.10.2019р.

Прийнято: 03.11.2019р.

Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-29-35

Захворювання тварин та людей на сибірку продовжує з'являтися у традиційно ендемічних регіонах, що свідчить про реальну загрозу виникнення хвороби на будь-якій території: у країнах Європи, Азії, та інших регіонах земної кулі. Спори збудника сибірки дуже стійкі у навколишньому середовищі, вони залишаються життєздатними до 300 років. За сприятливих умов активація (мобілізація метаболічних процесів) спор відбувається протягом 1–2 хв із наступною ініціацією і проростанням (20–30 хв) та виростанням у вегетативну клітину (60–90 хв). Зоонозне захворювання на сибірку є актуальним не лише для України, а й для більшості країн Європи та всього світу, оскільки захворюваність залишається на високому рівні, щорічно реєструють тисячі летальних випадків, на лікування хворих витрачають великі кошти громадян та держав, а виробники тваринницької продукції несуть значні економічні збитки через загибель тварин та проведення протиепізоотичних, протиепідеміологічних і профілактичних заходів.

Наведено результати визначення ефективності методик виділення спор збудника штаму *Bacillus anthracis* UA-07 із ґрунту. Встановлено, що використання методики із застосуванням твіну-80, 1 % сироваткового альбуміну у фосфатно-сольовому буфері та агару PLET, дозволяє підвищити виділення спор збудника із ґрунту на 16,8 % ($p < 0,001$). Водночас слід зазначити що за незначної контамінації досліджуваного ґрунту чи матеріалу, ймовірно, існує проблема отримання недостовірного результату дослідження. За удосконаленою методикою для дослідження необхідно всього 2,5 г ґрунту, тоді як за методикою № 1 – 60 г, № 2 і 3 – 95, № 4 – 10 г, окрім того для відмивання спор використовують сучасні детергенти, більшу швидкість центрифугування, 100 % етиловий спирт, який знищує ґрунтову вегетативну та деяку спорову форму мікрофлори (окрім спор *Bac. anthracis*).

Ключові слова: сибірка, спори, *Bacillus anthracis*, тварини, ґрунт, поширення, методика.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Епізоотичне благополуччя України має стратегічне значення для розвитку аграрного сектору економіки. Сучасний розвиток світової ринкової конкуренції зумовлює збільшення продуктивності галузі тваринництва й одночасно потребує вдосконалення профілактики інфекційних захворювань, оскільки їх збудники мають здатність змінювати свої біологічні властивості, у зв'язку з чим існує ризик розповсюдження їх, інфікування та загибелі тварин і людей [1–3].

Щорічна реєстрація у світі спалахів захворювання тварин і людей на сибірку призводить до економічних збитків. Це спонукає вчених до подальшого вивчення особливостей біологічних властивостей збудника *Bacillus anthracis* (морфологічних і патогенних, чутливості до антибактеріальних препаратів), пошуку нових препаратів для профілактики захворювання і вдосконалення засобів лабораторної діагностики, оскільки збудник сибірки тривалий час зберігає патогенність у природних умовах і може використовуватися як чинник біологічної зброї

або тероризму [4–8]. Однією з причин вивчення збудника є поширеність *Bacillus anthracis* у різних країнах та його зміни внаслідок впливу різноманітних екзо- та ендогенних чинників. Зокрема, лише на території України знаходиться більше 13,5 тис. захоронень тварин, що загинули від сибірки.

Оскільки спори сибірки довготривалий час зберігаються у ґрунті, який може бути і резервуаром, тому завданням було удосконалити метод, описаний в інструкції виділення спор *Bac. anthracis* із ґрунту [9–10].

Мета дослідження полягала у визначенні ефективності методик виділення спор збудника *Bac. anthracis* із ґрунту.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводили в Державному науково-контрольному інституті біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ). Під час визначення ефективності методик проводили порівняння отриманих показників за досліджень виділення спор із стерильного та нестерильного ґрунту.

Для проведення бактеріологічних методів дослідження, зокрема виділення спор із ґрунту, обрали зареєстровані у різних країнах (Україна, Республіка Білорусь та Російська Федерація) методики та сучасних науковців щодо досліджень *Bac. anthracis* [11–15].

Кількість КУО підраховували після культивування бактеріологічних чашок із посівами в термостаті за температури 37 °C протягом 24 год. У дослідженнях використовували проби ґрунту, попередньо видаливши з них корінці рослин, камінці тощо – стерильний (до внесення спор) та нестерильний ґрунт. Для отримання стерильних проб ґрунт стерилізували в автоклаві за 1,5 атм протягом 20 хв, двічі, з інтервалом 24 год. Готували спорову суспензію та визначали її концентрацію.

Для отримання спорової зависі культуру культивували на середовищі МПА за температури 37 °C протягом 7 діб. Для змивання культури з поживного середовища використовували 0,85 % розчин натрію хлориду. Потім спорову суспензію із штаму *Bac. anthracis* UA-07 розводили за методом серійних розведень [16] у пробірках зі стерильним МПБ (по 9 см³). Для цього у першу пробірку вносили 1,0 см³ суспензії, перемішували та 1,0 см³ суміші переносили у другу пробірку і знову перемішували (3 рази, не доторкуючись стінок пробірки), аналогічний об'єм переносили з другої у третю. Таких розведень проводили до отримання розведення 10⁻⁶.

Для кожного наступного розведення використовували стерильну піпетку. Виконували

розведення (10⁻²–10⁻⁶) спорової суспензії [17] та по 0,2 см³ вносили у флакони зі стерильним ґрунтом. Наступні дії із підготовленими пробами проводили відповідно до описаних методик [11–14] (табл. 1).

Для постановки методики № 5 відбирали 2,5 г ґрунту, розміщуючи його у скляну колбу і заливали 12–15 см³ розчину для екстракції (100 см³ дистильованої води, 1,22 г сахарози, 1,0 см³, твін-80). Після ручного струшування протягом 1 хв витримували 30–40 хв у стані спокою. Відбирали 3 см³ рідини з поверхні надосадової рідини у стерильну пробірку, додавали 6–8 см³ БСА/ФСБ (фільтрованого 1 % бичачого сироваткового альбуміну у 0,01 моль/см³ фосфатно-сольовому буфері, рН 7,0–7,2) – для забезпечення осадження спор центрифугуванням, яке проводили за 5000 об./хв, протягом 10 хв.

Надосадову рідину зливали шляхом автоклавування, а до осаду додавали 1,0 см³ БСА/ФСБ. Потім очищали спори штаму від сторонньої мікрофлори, додаючи до осаду 5 см³ 100 % етиловий спирт (який отримували шляхом додавання до 96 % етилового спирту висушеного, зневодненого CuSO₄) протягом 1 год за кімнатної температури. Суспензії із ґрунту висівали на живильні середовища МПА (м'ясо-пептонний агар), кров'яний МПА (КМПА) середовища PLET та агар Хоттінгера, содовий МПА. Слід зазначити, що за використання у досліді нестерильного ґрунту (до внесення спор штаму *Bac. anthracis* UA-07) суспензію висівали на 2–3 бактеріологічні чашки методом Дригальського на середовища PLET. Застосування даного методу було пов'язано з великою кількістю ґрунтової мікрофлори, яка заважала ідентифікувати колонії *Bac. anthracis*. Культивували посіви за температури 37 °C протягом 24–48 год.

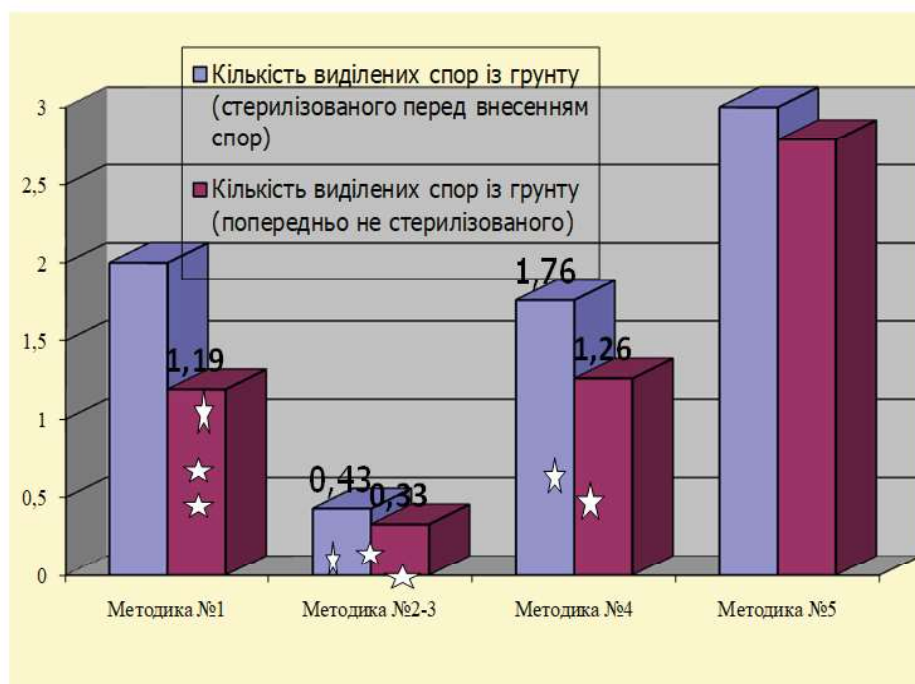
Результати дослідження. Результати визначення ефективності методик виділення спор *Bac. anthracis* із ґрунту представлено на рисунку 1.

За використання методик № 1–5 для виділення спор із ґрунту встановлено, що із нестерильного ґрунту отримано меншу кількість спор, ніж із стерильного. Можливо, це пов'язано із великою кількістю спор ґрунтових мікроорганізмів.

У ході дослідження ґрунту за допомогою методики № 1, з використанням 15,0 см³ 0,85 % фізіологічного розчину, 15-хвилинного центрифугування за 3000 об./хв, більшу кількість спор виділяли із стерильного ґрунту (на 0,81 спор/г досліджуваного ґрунту), що становило 2,9 % спор від внесених із стерильного ґрунту та 1,8 % – із нестерильного.

Таблиця 1 – Схема дослідження спор

Етап досліджень	Методика			
	№ 1	№ 2 і 3	№ 4	№ 5
Розчин для екстракції	0,85 % NaCl, до об'єму 15–20 см ³	0,85 % NaCl, до об'єму 15–20 см ³	сахароза-третон 30,0 см ³	розчин для екстракції (дистильована вода, сахароза, Твін-80) 12–15 см ³
Струшування, хв	25	10	1	1
Осадження, хв	5–8	5	–	30–40
Фільтрування	+	–	–	–
Додавання пірофосфату натрію	–	+	–	–
Струшування, хв	–	10	–	–
Температурна обробка	80 хв, 65 °C	–	–	–
Відстоювання, хв	–	5	–	–
Центрифугування	3000 об./хв, 15 хв	1000 об./хв, 15 хв	1187 об./хв, 1 хв	3 см ³ надосадової рідини та 6–8 см ³ БСА/ФСБ 5000 об./хв, 10 хв
БСА/ФСБ	–	–	–	1 см ³ до осаду
ФСБ із 0,05 % Твін-20	–	–	до 50 см ³	–
Центрифугування	–	15 хв центрифугування 6000 об./хв	5000 об./хв 10 хв, 4 °C	–
100 % етанол для очищення від сторонньої мікрофлори	–	–	до осаду – 5 см ³ , 1 год	5 см ³ 100 % етанол, 1 год
Надосадова рідина	осад – посів на середовище МПА з 0,01 % фенолфталеїн-фосфатом натрію	до осаду додати 1 см ³ 0,85 % NaCl	–	–

Рис. 1. Кількість спор *Bacillus anthracis*, що виділено з ґрунту на МПА, КУО,★★★★ $p < 0,001$ та ★★★ $p < 0,01$ – порівняно з показниками методики №5.

Окрім того, у методиках № 1–3 вказано проводити посів лише з осаду (після центрифугування), а надосадову рідину видаляти. Нами ж було виявлено (шляхом посіву на поживні середовища) спори *Bac. anthracis* у надосадовій рідині після центрифугування суспензії (рис. 2). Ймовірно, 3000 об./хв недостатньо для осадження всіх спор у пробі.

Під час порівняння результатів досліджень методик виділення спор *Bac. anthracis* із стерильного і нестерильного ґрунтів встановлено, що за культивування на живильному середовищі МПА кількість спор, виділених за методиками № 2 і 3, була найменшою ($0,43 \pm 0,2$ КУО, що складало 1 % від внесених спор у 1 г ґрунту та $0,33 \pm 0,04$ КУО – 0,8 % від внесених спор у 1 г ґрунту відповідно).

Ймовірно, меншу кількість виділених спор отримали за рахунок внесення $15,0 \text{ см}^3$ 0,85 % фізіологічного розчину та 15-хвилинного центрифугування за 1000 об./хв.

Показники, отримані за методикою № 4, були вищими за показники виділених спор із стерильного та нестерильного ґрунту, порівняно з отриманими результатами за методиками № 1–3. Більшу кількість виділених спор за методикою № 4 пов'язуємо з використанням меншої кількості ґрунту для дослідження. Внаслідок цього у пробі нестерильного ґрунту

може міститися менша кількість сторонньої мікрофлори і спори збудника сибірки більше та легше виділяються. Підтвердженням більшої ефективності використання методики є дослідження спор у стерильному ґрунті. Кількість спор перевищувала показники, отримані з використанням методик № 1–3 на 1,2–3,7 %.

Слід зазначити, що методика № 5 більш ефективна, порівняно з іншими (№ 1–4), оскільки за допомогою неї виявляють спори, за внесення у ґрунт найменшої кількості ($16,54$ КУО/г ґрунту), а виділяється – найбільша кількість ($3,0$ КУО/г ґрунту), як за постановки досліді зі стерильним, так і нестерильним ґрунтом. Можливо, це пояснюється (відповідно до удосконаленої методики) більшою швидкістю центрифугування, використанням детергенту твіну-80 [18]. На нашу думку, це і призвело до вищої концентрації спор у досліджуваній суспензії ґрунту.

Обговорення. Недоліком методик № 1–4 під час проведення дослідження щодо виділення спор із ґрунту є один із етапів видалення надосадової рідини у дезінфекційний розчин. Оскільки у ході дослідження надосадової рідини, призначеної для видалення, було виділено спори збудника. Окрім того, за постановки перших трьох методик необхідно виконувати фільтрування суспензії ґрунту через марлевий

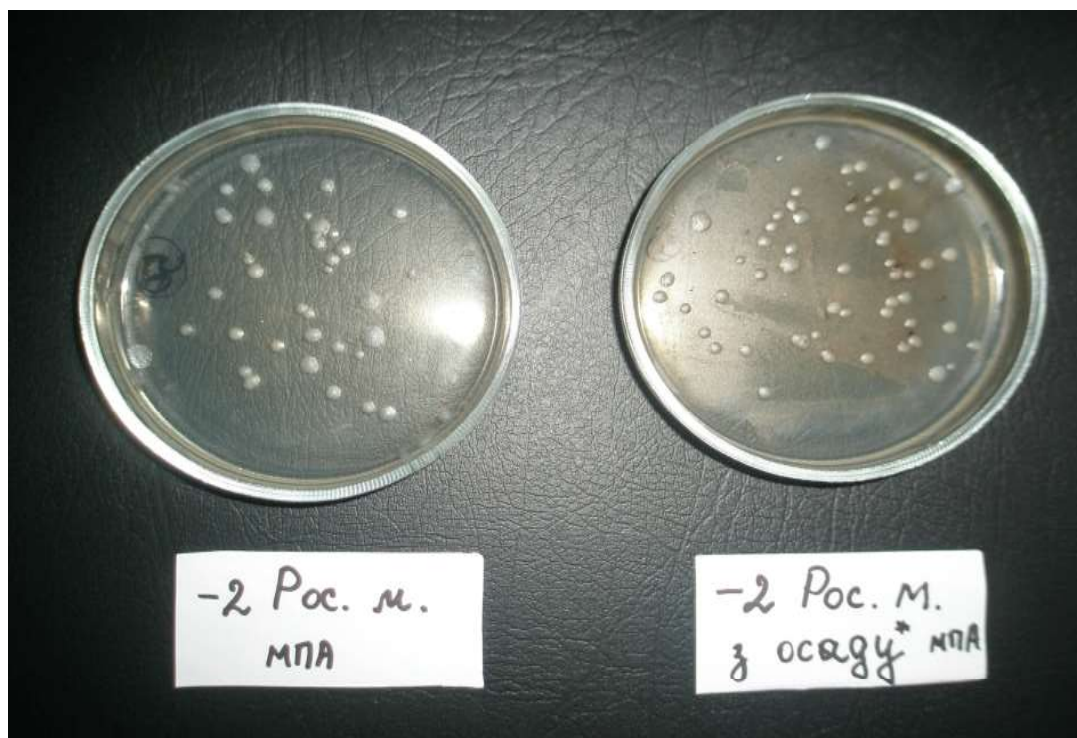


Рис. 2. Ріст *Bac. anthracis* на живильному середовищі МПА у разі виділення за методикою № 2 із надосадової рідини та осаду.

фільтр та центрифугування за 3000 об./хв, а це, ймовірно, є причиною зниження кількості виділених спор. Також, одним із недоліків є прогрівання суспензії за температури 65 °C протягом 80 хв, що не знищує всю сторонню ґрунтову мікрофлору, притаманну ґрунту і ускладнює подальшу ідентифікацію отриманих культур.

За удосконаленою нами методикою для дослідження необхідно всього 2,5 г ґрунту, тоді як за методикою № 1 – 60 г, № 2 і 3 – 95, № 4 – 10 г, використовуються сучасні детергенти (а не 0,85 % розчин натрію хлориду) для відмивання спор, більша швидкість центрифугування (5000 об./хв), 100 % етиловий спирт, який знищує ґрунтову вегетативну та деяку спорову форму мікрофлори (окрім спор *Bac. anthracis*).

Висновки. Використання методики із застосуванням твіну-80, 1 % сироваткового альбуміну у фосфатно-сольовому буфері та агару PLET, дозволяє підвищити виділення спор збудника із ґрунту на 16,8 % ($p < 0,001$), порівняно з методикою, описаною в чинній інструкції, за використання фізіологічного розчину натрію хлориду, диференційно-діагностичного середовища МПА з додаванням 0,01 % фенолфталейну фосфату натрію.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Тварин для дослідження не використовували.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Gómez J.P., Nekorchuk D.M., Liang Mao., Blackburn J.K. Decoupling environmental effects and host population dynamics for anthrax, a classic reservoir-driven disease. *Journal of PLOS one*. 2018. P. 1–20. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208621>
- Morris L., Proffitt K., Asher V., Blackburn J. Elk resource selection and implications for anthrax management in Montana. *Journal of wildlife management*. 2015. № 80. P. 235–244. Doi: <https://doi.org/10.1002/jwmg.1016>
- Blackburn J., Asher V., Stokke S., Hunter D. Dances with Anthrax: Wolves (*Canis lupus*) Kill Anthrax Bacteremic plains bison in Southwestern Montana. *Journal of Wildlife disease*. 2014. № 50. P. 393–396. Doi: <https://doi.org/10.7589/2013-08-204>
- Salb A., Stephen C., Ribble C., Elkin B. Descriptive epidemiology of detected anthrax outbreaks in wild wood bison (*Bison bison* at *habascae*) in northern Canada, 1962–2008. *Journal of Wildlife Disease*. 2014. P. 459–468. Doi: <https://doi.org/10.7589/2013-04-095>
- Blackburn J.K., Van Ert M., Mullins J.C., Hadfield T.L., Hugh-Jones M.E. The necrophagous fly anthrax transmission pathway: empirical and genetic evidence from wildlife epizootics. *Vector-Borne and Zoonotic Disease*. 2014. *Journal of PLOS one*. 2018. 20. 14 (8). P. 576–583. Doi: <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1538>
- Driciru M., Driciru M., Rwego I.B., Asiimwe B., Pelican K. Spatio-temporal epidemiology of anthrax in Hippopotamus amphibious in Queen Elizabeth Protected Area, Uganda. *Journal of PLOS one*. 2018. 13 (11). 21 p. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206922>. https://www.researchgate.net/publication/329262956_Spatio-temporal_epidemiology_of_anthrax_in_Hippopotamus_amphibious_in_Queen
- Lepheana R.J., Oguttu J.W., Nenene Q. Temporal patterns of anthrax outbreaks among livestock in Lesotho, 2005–2016. *Journal of public health*. 2018. P. 1–12. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204758>
- Changing livestock vaccination policy alters the epidemiology of human anthrax, Georgia, 2000–2013 / I. Kracalik, et al. *Journal vaccine*. 2017. Vol. 35. Issue 46. P. 6283–6289. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.09.081>
- Рубленко І.О., Скрипник В.Г. Аналіз даних епізоотичних спалахів сибірки на території України (період 1994 – 2016 рр.). *Наук. вісник вет. мед: збірник наукових праць*. Вип. 1 (127). Біла Церква. 2016. № 1 (127). С. 87–95.
- Anthrax in dogs / V.G. Skrypnik, et al. *Ветеринарна медицина*. 2014. № 1 (215). С. 14–17.
- Інструкції з лабораторної діагностики сибірки у людей, в сировині тваринного походження та об'єктах довкілля: Наказ МОЗ України від 21.08.2002, № 321. URL: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/laws_2002.html
- Инструкция 4.2.10–19–60–2005. Лабораторная диагностика сибирской язвы у людей и выделение возбудителя сибирской язвы из объектов внешней среды: Постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 21 ноября 2005, № 181.
- Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы: методические указания. МУК 4.2.2413–08: Утверждено Руководителем федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко от 29 июля 2008.
- Dragon D.C., Rennie R.P. Evaluation of spore extraction and purification methods for selective recovery of viable *Bacillus anthracis* spores. *The Society for Applied Microbiology*. 2001. № 33. P. 100–105.
- Schuch R., V.A. Fischetti The secret life of the Anthrax agent *Bacillus anthracis*: bacteriophage mediated ecological adaptations. *Plos one*. A Peer-Reviewed, one. Access journal. 2009. № 4 (8). Doi: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2001.00966.x>. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19672290>
- Загальна мікробіологія: методичні вказівки для практичної та самостійної роботи студентів факультету ветеринарної медицини з мікробіологічних методів досліджень / В.М. Зоценко, та ін. Біла Церква, 2018. 80 с.
- Grimes S.E. A Basic Laboratory Manual for the Small-Scale Production and Testing of I-2 Newcastle Disease Vaccine. Ten-fold serial dilutions. Appendix 5. № 22. 2002. URL: <http://www.fao.org/3/ac802e/ac802e0r.htm>
- Лабораторна діагностика сибірки тварин, індикація збудника з патологічного та біологічного матеріалу, сировини тваринного походження та об'єктів навколишнього середовища: науково-методичні рекомендації для забезпечення практичної та самостійної роботи фахівців

лабораторій та науково-дослідних установ ветеринарної медицини, викладачів та студентів факультетів ветеринарної медицини ВНЗ / В.Г. Скрипник та ін. Київ, 2015. 78 с.

REFERENCES

1. Gómez, J.P., Nekorchuk, D.M., Liang Mao., Blackburn J.K. (2018). Decoupling environmental effects and host population dynamics for anthrax, a classic reservoir-driven disease. *Journal of PLOS one*. pp. 1–20. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208621>

2. Morris, L., Proffitt, K., Asher, V., Blackburn, J. (2015). Elk resource selection and implications for anthrax management in Montana. *Journal of wildlife management*. no. 80, pp. 235–244.

3. Blackburn, J., Asher, V., Stokke, S., Hunter, D. (2014). Dances with Anthrax: Wolves (*Canis lupus*) Kill Anthrax Bacteremic plains bison in Southwestern Montana. *Journal of Wildlife disease*. no. 50, pp. 393–396.

4. Salb, A., Stephen, C., Ribble, C., Elkin, B. (2014). Descriptive epidemiology of detected anthrax outbreaks in wild wood bison (*Bison bison* at *habascae*) in northern Canada, 1962–2008. *Journal of Wildlife Disease*. pp. 459–468.

5. Blackburn, J.K., Van, Ert, M., Mullins, J.C., Hadfield, T.L., Hugh-Jones, M.E. (2018). The necrophagous fly anthrax transmits ion pathway: empirical and genetic evidence from wildlife epizootics. *Vector-Borne and Zoonotic Disease* 2014. *Journal of PLOS one*. 20, 14 (8), pp. 576–583.

6. Driciru, M., Rwego, I.B., Asiimwe, B., Pelican, K. (2018). Spatio-temporal epidemiology of anthrax in Hippopotamus amphibious in Queen Elizabeth Protected Area, Uganda. *Journal of PLOS one*. 13 (11). 21 p. Available at: https://www.researchgate.net/publication/329262956_Spatio-temporal_epidemiology_of_anthrax_in_Hippopotamus_amphibious_in_Queen.

7. Lepheana, R.J., Oguttu, J.W., Nenene, Q. (2018). Temporal patterns of anthrax outbreaks among livestock in Lesotho, 2005–2016. *Journal of public health*. pp. 1–12.

8. Kracalik, I., Malania, L., Broladze, M., Navdarashvili, A., Imnadze, P., Ryan, S.J., Blackburn, J.K. (2017). Changing livestock vaccination policy alters the epidemiology of human anthrax, Georgia, 2000–2013. *Journal vaccine*. Vol. 35, Issue 46, pp. 6283–6289.

9. Rublenko, I.O., Skripnik, V.G. (2016). Analiz danih epizootichnih spalakhiv sibirki na terytorii' Ukrayiny (period 1994 – 2016 rr.) [Analysis of epizootic outbreaks of anthrax in Ukraine (1994 - 2016)]. *Nauk. visnik vet. med: zbirnik naukovih prac'* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine: Collection of Scientific Papers]. Bila Tserkva, Issue 1 (127), no. 1 (127), pp. 87–95.

10. Skrypnyk, V.G., Koziy, R.V., Skrypnyk, A.V., Rublenko, I.O. (2014). Anthrax in dogs. *Veterinarna medicina* [Veterinary medicine]. no. 1 (215), pp. 14–17.

11. Instrukcii' z laboratornoi' diagnostyki sybirky u ljudej, v syrovyni tvarynnogo pohodzhennja ta ob'jektiv dovkillja: Nakaz MOZ Ukrainy vid 21.08.2002, № 321 [Instructions for laboratory diagnostics of anthrax in humans, in raw materials of animal origin and environmental objects: Order of the Ministry of Health of Ukraine of 21.08.2002, No. 321.]. Available at: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/laws_2002.html.

12. Instrukcija 4.2.10–19–60–2005 [Instruction 4.2.10–19–60–2005]. Laboratornaja diagnostika sibirskoj jazvy u

ljudej i vydelenie vozбудitelja sibirskoj jazvy iz ob'ektov vneshnej sredy: Postanovlenie Glavnogo gosudarstvennogo sanitarnogo vracha Respubliki Belarus' ot 21 nojabrja 2005, № 181 [Laboratory diagnosis of anthrax in humans and the isolation of the causative agent of anthrax from environmental objects: Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Republic of Belarus of November 21, 2005, No. 181].

13. Laboratornaja diagnostika i obnaruzhenie vozбудitelja sibirskoj jazvy: metodicheskie ukazanija [Laboratory diagnosis and detection of anthrax pathogen: guidelines]. MUK 4.2.2413–08: Utverzhdeno Rukovoditelem federal'noj sluzhby po nadzoru vsfere zashhity prav potrebitelej i blagopoluchija cheloveka, Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom Rossijskoj Federacii G.G. Onishchenko ot 29 ijulja 2008 [MUK 4.2.2413–08: Approved by G.G., Head of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being, Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation Onishchenko on July 29, 2008].

14. Dragon, D.C., Rennie, R.P. (2001). Evaluation of spore extraction and purification methods for selective recovery of viable *Bacillus anthracis* spores. *The Society for Applied Microbiology*. no. 33, pp. 100–105.

15. Schuch, R., Fischetti, V.A. (2009). The secret life of the Anthrax agent *Bacillus anthracis*: bacteriophage mediated ecological adaptations. // *Plos one*. A Peer-Reviewed, one. Access journal. no. 4 (8). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19672290>.

16. Zocenko, V.M., Rublenko, I.O., Andrijchuk, A.V. (2018). Zagal'na mikrobiologija: metodichni vказivki dlja praktichnoi' ta samostijnoi' roboti studentiv fakultetu veterinarnoi' medicini z mikrobiologichnih metodiv doslidzen' [Mental practice: methodological instructions for practical and independent work of students in the Faculty of Veterinary Medicine with microbiological methods]. Bila Tserkva, 80 p.

17. Grimes, S.E. (2002). A Basic Laboratory Manual for the Small-Scale Production and Testing of I-2 Newcastle Disease Vaccine. Ten-fold serial dilutions. Appendix 5. no. 22, Available at: <http://www.fao.org/3/ac802e/ac802e0r.htm>

18. V.G. Skripnik, I.O. Rublenko, T.O. (2015). Laboratornaja diagnostyka sybirky tvaryn, indykacija zbudnyka z patologichnogo ta biologichnogo materialu, syrovyny tvarynnogo pohodzhennja ta ob'jektiv navkolyshn'ogo seredovyshha: naukovy-metodychni rekomendacii' dlja zabezpechennja praktychnoi' ta samostijnoi' roboty fahivciv laboratorij ta naukovy-doslidnyh ustanov veterinarnoi' medycyny, vykladachiv ta studentiv fakultetiv veterinarnoi' medycyny VNZ [Laboratory diagnostics of animal anthrax, indication of pathogen and biological agent, raw material of animal origin and environmental objects: scientific and methodological recommendations for ensuring the practical and independent work of specialists of laboratories and research institutions of veterinary medicine, teachers and students]. Kyiv, 78 p.

Определение эффективности методики выделения спор возбудителя *Bacillus anthracis* с почвы
Рубленко И.А., Рубленко С.В.

Заболевания животных и людей сибирской язвой продолжает появляться в традиционно эндемичных регионах, что свидетельствует о реальной угрозе возникнове-

ния болезни на любой территории: в странах Европы, Азии и других регионах земного шара. Споры возбудителя сибирской язвы очень устойчивы в окружающей среде, они остаются жизнеспособными до 300 лет. При благоприятных условиях активация (мобилизация метаболических процессов) спор происходит в течение 1–2 мин с последующей инициацией и прорастанием (20–30 мин) и вырастанием в вегетативную клетку (60–90 мин). Сибирская язва является актуальной не только для Украины, но и для большинства стран Европы и всего мира, поскольку заболеваемость остается на высоком уровне, ежегодно регистрируют тысячи летальных случаев, на лечение больных тратят большие средства граждан и государств, а производители животноводческой продукции несут значительный экономический ущерб из-за гибели животных и проведения противоэпизоотических, противоэпидемических и профилактических мероприятий.

Приведены результаты определения эффективности методик выделения спор штамма *Bacillus anthracis* UA-07 из почвы. Установлено, что использование методики с применением твина-80, 1 % сывроточного альбумина в фосфатно-солевом буфере и агара PLET, позволяет повысить выделение спор возбудителя из почвы на 16,8 % ($p < 0,001$). Вместе с тем следует обратить внимание на то, что при незначительной контаминации исследуемого грунта или материала, вероятно, существует проблема получения недостоверного результата исследования.

По усовершенствованной методике для исследования необходимо всего 2,5 г почвы, тогда как по методике № 1 – 60 г, № 2 и 3 – 95, № 4 – 10 г, кроме того, для отмывания спор используют современные детергенты, большую скорость центрифугирования, 100 % этиловый спирт, который уничтожает почвенную вегетативную и некоторую споровую форму микрофлоры (кроме спор *Bac. anthracis*).

Ключевые слова: сибирская язва, споры, *Bacillus anthracis*, животные, почва, распространение, методика.

Determination of efficiency of the methods for isolating *Bacillus anthracis* pathogen spores from soil

Rublenko I., Rublenko S.

Diseases of animals and people with anthrax continues to appear in traditionally endemic regions, indicating a real threat of disease in any territory: in Europe, Asia and other regions of the globe. Spores of the causative agent of anthrax are very stable in the environment. It is known that they remain viable for up to 300 years. Under favorable conditions, activation (mobilization of metabolic processes) of spores occurs within 1–2 minutes, followed by initiation and germination (20–30 minutes) and growth into a vegetative cell (60–90 minutes).

Zoonotic anthrax disease is relevant not only for Ukraine, but also for most countries in Europe and around the world, as the incidence remains high, thousands of deaths are registered annually, large sums of citizens and states are spent on the treatment of patients, and producers of livestock products bear considerable economic losses due to the death of animals and carrying out anti-epizootic, anti-epidemiological and preventive measures.

The article presents the results of determining the effectiveness of methods for isolating the spores of the causative agent of the strain *Bacillus anthracis* UA-07 from the soil. It was found that using the method using Tween-80, 1 % serum albumin in phosphate-buffered saline and PLET agar, it was possible to increase the excretion of pathogen spores from the soil by 16.8 % ($p < 0.001$). At the same time, it should be noted that with a slight contamination of the soil or material under study, there is probably a problem of obtaining an unreliable study result. According to our advanced methodology, only 2.5 g of soil is needed for the study, whereas according to the method № 1 – 60 g, according to the method № 2 and № 3 – 95, № 4 – 10 g. higher spin speed, uses 100% ethyl alcohol, which destroys the soil's vegetative and some spore like microflora (except for spores of *Bac. anthracis*).

Key words: anthrax, spores, *Bacillus anthracis*, animals, soil, distribution, methodology.



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



Рубленко І.О.
Рубленко С.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-1401-0969>
ID <https://orcid.org/0000-0003-0678-5497>

ЕПІЗООТОЛОГІЯ ТА ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

UDC 619:616.9 - 022.39

Communicable diseases common to man and animals – current state of the problem

Subbotina I.¹ , Andamov I.², Bakayev B.¹,

Kuprijanov I.¹, Safar-zadeh Hamid Rafik ogly¹

¹The Vitebsk Order "Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus

²The Ministry of Agriculture of the Republic of Tajikistan, Dushanbe, Republic of Tajikistan

 Subbotina Irina, e-mail: irin150680@mail.ru



Subbotina I., Andamov I., Bakayev B., Kuprijanov I., Safar-zadeh Hamid Rafik ogly. Communicable diseases common to man and animals – current state of the problem. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 36–45.

Рукопис отримано: 06.10.2019р.

Прийнято: 02.11.2019р.

Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-36-45

One of the significant problems for the veterinary service and for human medicine workers around the world are infectious diseases (parasitic and infectious), common to humans and animals. In most countries, this group of diseases is called “zoonoses,” although in many countries and many researchers this term raises many questions and disagreements. In a number of countries, it is customary to strictly divide them into “zooanthroponoses” and “anthropozoonoses”.

However, despite the difference in terminology, the importance of zoonotic diseases remains relevant for everyone.

Of course, in countries with different climatic, geographical, cultural and gastronomic characteristics, certain diseases will prevail, but their social and economic significance, however, will be similar for everyone.

In our work, we wanted in a comparative aspect to show the most significant zoonoses and the dependence of their distribution on climatic, geographical, gastronomic, cultural and a number of other features of the countries. We have carried out work in such countries as the Republic of Belarus, Turkmenistan, Tajikistan and Azerbaijan.

In our work, we identified the most significant zoonoses for the above countries and determined the main causes and factors contributing to the emergence and dissemination of these pathologies

The studies were carried out using modern research methods, such as epizootological, virological, bacteriological, molecular genetic, statistical.

As a result of the studies, it was found that a number of zoonotic diseases, such as rabies, pasteurellosis, tuberculosis, are quite widespread in almost all of these countries, while anthrax, brucellosis, echinococcosis, have a significant difference in the intensity of spread, and the immediate causes of this difference are both climatic and geographical factors, and features of agriculture, and a number of others.

Key words: zoonoses, infections, infestations, rabies, pasteurellosis, anthrax, brucellosis, tuberculosis, echinococcosis, cestodosis, trichinosis, ascariasis, cryptosporidiosis.

Problem statement and analysis of recent research. The most important task in modern veterinary medicine is to develop effective measures in preventing contagious diseases, especially zoonosis - diseases that are common to animals and humans. Nowadays there are a number of differences in the terminology of this group of diseases, despite of a

clear WHO classification. A number of researchers and authors believe that this designation is absolutely wrong, others consider that the terms “anthropozoonosis” and “zooanthroponosis” should be separated rather than joint into one concept - “zoonosis”. Anyway, most researchers consider that the term “zoonosis” is the most acceptable and compre-

hensible and a number of diseases cannot be particularly classified as anthroozoonosis or zooanthroponosis, so there are various terminology in various literary sources.

There are zoonotic diseases of infectious nature and zoonotic diseases of parasitic nature among all diversity of zoonotic diseases. For each separate country, there are some of the most common and most significant zoonotic diseases, which depends on both the climatic and geographical characteristics of the country and on the special features of agriculture, cultural characteristics and gastronomic preferences.

Of course, all zoonotic diseases cause some socio-economic damage, but from all their diversity the most significant ones should be distinguished.

Today, rabies, anthrax, brucellosis, echinococcosis and some other diseases are the most dangerous for both humans and animals. It is favourable that a number of diseases mentioned above can be prevented by vaccinations, but, unfortunately, not all. At the same time, strict compliance of veterinary and sanitary rules, animal keeping rules allows to prevent the emergence and spread of those diseases in which specific prevention has not been developed. And it is precisely these rules that are quite often violated by ordinary people and in some cases by specialists of veterinary or human medicine, so that leads to the emergence and spread of zoonotic diseases.

Nowadays scientists in a number of countries (India, China, the United States, etc.) have shown the impact of a number of zoonoses, such as echinococcosis, opisthorchiasis, cryptosporidiosis, and a number of others on carcinogenesis. It has been proved that the chronic course of opisthorchiasis can lead to the development of cholangiocarcinoma, liver sarcoma, pancreatic cancer. People with colorectal cancer in 40-60% of cases were diagnosed with cryptosporidium, concurrently with echinococcosis localizing in the brain, and, in some cases, neuroglioma was also diagnosed. Blood cancer can be evolved in malaria, schistosomiasis can lead to bladder cancer [1, 13].

In recent decades, researchers and scientists have detected that cryptosporidiosis is becoming an increasingly serious problem in agriculture, especially in that the disease affects young farm animals, resulting in large economic losses. The disease is characterized by the development of severe immunodeficiency, diseases of the respiratory system, as well as diarrhea syndrome. There are also reports of mass people diseases by "water" cryptosporidiosis (because of eating poor quality water). Outbreaks of cryptosporidiosis caused by water sometimes can be large. Already in 1993 chrestomatic had the example of the largest water

epidemic in American history (Milwaukee, USA). As a result of drinking water from a communal water supply network containing the oocysts of cryptosporidium, at least 400,000 people were officially ill. At the same time, 54 deaths were registered. According to other information, the number of deaths was significantly higher.

At present, cryptosporidia have been selected from 170 species of pets. According to Levine N., over 20 species of cryptosporidium parasite in various species of animals. Most researchers note that in farm animals, *Cryptosporidium parvum* and *Cr. muris*, in birds - *Cr. meleagridis*, *Cr. Bailey* and *Cr. galli*. They parasite on the mucous membranes of the gastrointestinal tract, in respiratory organs, conjunctiva, in birds - also in the factory bag. Parasite development lasts 3-7 days on mucous membrane surface with formation of parasiform vacuum [1, 13].

It should be noted that close attention to this problem among the population began to be paid only in the 1970's due to the exacerbation of the problem of immunodeficiency in HIV-sick people and the detection of cryptosporidia in them. Many studies have shown that cryptosporidium infection is significantly more common than the reported incidence. For example, in Germany, *C. parvum* is diagnosed in about 2% of patients with severe kidney, but antibodies are detected in 15.4% of examined children. There are reports of detection of antibodies to cryptosporides in children under 16 years in 57.5% of cases (East China) and in almost 100% of children under 4 years (Brazil) [1, 2, 13, 16].

Echinococcosis - from the zoonosis point of view, it primarily has the importance of larval echinococcosis, which has a wide distribution among herbivores and omnivores animals (pigs, sheep, rodents, less often cattle, etc.). Parasitosis is particularly common in countries with developed sheep farming. Carnivores infected with imaginal echinococcosis (dogs, foxes, etc.) [1, 6, 13, 14] are dangerous to humans directly in terms of the transmission of invasion.

Opisthorchiasis is a widespread parasitosis among carnivores, especially in cat family, as well as among omnivores, including humans. Opisthorchiasis is particularly common in countries with advanced industrial fish farming, where river and lake fish make up a large part of the diet of humans and animals. As mentioned earlier, opisthorchiasis can contribute to the development of oncological pathologies [1, 13].

Rabies and anthrax are some of the most dangerous diseases for both humans and animals. Today, thanks to regular vaccinations of domestic or domestic and wild animals, rabies have been eliminated among domestic animals, and in a num-

ber of countries - by almost 100% in wild fauna. However, in Africa, India and several other Asian countries, rabies claimed thousands of lives every year, where a large percent of them are children. Almost the same situation is with anthrax: as for many developed countries it is either a long-forgotten disease, or recorded in the form of sporadic cases among animals, and rarely - among humans. At the same time, anthrax poses a real threat in Asia and Africa (primarily), where all conditions and prerequisites exist for its spread to both animals and humans. In the same countries, foot-and-mouth disease is widespread among farm animals. This disease also belongs to the group of zoonosis, but cases of registration among the population are isolated [2, 3, 4, 7, 8, 11, 12, 19].

Given the relevance of the chosen topic, the purpose of our work is to identify the most common zoonoses in the territory of the Republic of Belarus, Turkmenistan, Azerbaijan and Tajikistan and to determine the main ways and reasons for their spread.

Research materials and techniques. During the research parasitological (Darling's and Fulleborn's flotation methods, full and partial parasitological autopsy, Cil-Nielsen fecal smear colouring to diagnose cryptosporidiosis, trichinelloscopy), Microbiological (virological and bacteriological (seeding on selective nutrient media, seeding on cell cultures, and further identification of the agent), Histological (detection of Babesh-Negri bodies for rabies diagnosis), microscopic (preparation and colouring of smears from pathological material according to Gram), Serological (to detect specific antibodies), molecular genetic (PCR to diagnose a number of viral diseases) and statistical research methods, summary data from veterinary laboratories and epidemiological stations were conducted in each country. Researches were conducted among animals of different species and ages, both agricultural and domestic, ranging from 1.5 to 2000 and more on average for each country. All researches were carried out as part of mandatory dispensary studies, according to the plans of diagnostic and anti-epizootic measures in each separate country. Data on morbidity of the population were taken from the consolidated reports of the Ministry of Health.

Results of researches. As a result of conducted research on the spread of the main zoonosis in the territory of the Republic of Belarus, it has been detected that nowadays the most significant zoonosis are rabies, tuberculosis, pasteurellosis, leptospirosis, chlamydiosis, cryptosporidiosis, visceral toxocarosis (for the population) and ascaridatosis in general, opisthorchiasis, echinococcosis. Unfortunately, it is also worth to mention anthrax, that has been recorded this year for the first time since 1999 (a horse fell in one of the districts of Brest region).

From the above-mentioned diseases, special attention should be paid to rabies, this disease is recorded annually in wild fauna, less often - among dogs, on average from 600 to 1000 cases per year (in the last 5 years). It should be noted that rabies in pets is recorded in the form of sporadic cases (dogs account for up to 90% of cases from all registered), but "forest" rabies is more massive, here the main animal is fox, less often - raccoon dog, wolf and other animals. Among the population of the Republic of Belarus, the latest case of human rabies was recorded in 2012.

Tuberculosis, leptospirosis, pasteurellosis, salmonellosis, chlamydia are detected in a number of areas of the Republic, but are sporadic and do not tend to spread, as rapid and targeted measures are taken to eliminate diseases in unfavorable farms.

Brucellosis has not been registered in the Republic of Belarus for more than 30 years.

Regarding to parasitic zoonosis, the importance of cryptosporidiosis, ascaridatosis (visceral toxocarosis, neoascariasis, pig ascaridosis), echinococcosis and trichinellosis, and cysticercose is to be noted.

At present, cryptosporidiosis are relatively frequent (compared to previous years) registered in individual farms throughout the territory of the Republic of Belarus, although they are not epizootic. More often, cryptosporidiosis is recorded in young cattle aged from a few days (the most previously detected being 2 days old) to a month (95% of all reported cases) (Table 1). Rarely (5% of all cases) cryptosporidiosis was recorded by us in young people over 1 month, and the number of oocysts detected in the smear was 30-50% less than in young people before the month. During all the research, the oocysts of cryptosporidium in adults were detected only in 3 animals (3-5 oocysts in 20 fields of vision).

Among small cattle (sheep), the oocysts of cryptosporidium were detected by us in 23% of all animals examined with medium or low invasion intensity. The age of animals - lambs of 10-25 days old.

In Belarus, cases of cryptosporidiosis are also registered among the population. On average, about 30 cases of human disease are detected per year. There is also uneven distribution, which shows the extent of its damage much wider. The main distribution is in the east of the country (Mogilev and part of Gomel regions) up to 77%, and among the population of Brest, Grodno and Vitebsk regions this invasion has not been detected.

Ascaridatosis - here we release quite wide distribution (up to 70-80% of the animals examined) dog toxocarosis, toxascariasis, cat toxocarosis, from 10 to 60% of pig ascaridosis. It is also worth to note the annual registration of visceral toxocarosis in the population (on average 150-200

cases per year, in the vast majority of them are children from 3 to 10 years old) (Table 2).

Echinococcosis and trichinellosis have practically ceased to be registered among pig heads, which is due to the introduction of strict rules for the maintenance of pigs in closed enterprises and the prohibition of the holding of animals even in the private sector. During the last 5 years, only isolated cases of echinococcosis and trichinellosis in domestic pig were recorded (Table 1).

With regard to echinococcosis (larval) in farm animals, it should be noted that in the vast majority of cases echinococcus was recorded in sheep (in the opening of fallen animals or in the post-slaughter veterinary and sanitary examination of carcasses and organs). Here it should be noted that the greatest degree of invasion by echinococcus larvae, thin-neck and pisiform cysticercas (25-45% of all animals examined (carcasses)) we have noted in the private sector, where pastures are used on non-cultured pastures, near forest areas or on the outskirts of cities, where there is a high probability of falling on pastures of vagrants or rural agitators, fox and other and other. Among the probably and main reasons of spreading of larval cestodes are the harvesting of fodders in the area of forest and suburban areas, non-cultured pastures.

In the research of the spread of imaginal echinococcosis among dogs, we noted single cases of echinococcosis in domestic dogs (3-5%), while a high

percent (up to 60%) is in vagrant, rural and hunting dogs, which is related to the conditions of detention and feeding, as well as the level of veterinary care of animals. Rural and stray dogs are not regularly dehelminated and feed more often on waste and poor quality feeds. Hunting dogs are more likely to contact (especially when hunter-owners are illiterate) with infected larval stage echinococcus (and other cestodes) feeds, thereby infecting themselves and re-contaminating the environment. The highest percentage of echinococcosis infection from wild carnivores is observed in the fox.

With regard to human infection with echinococcosis, 10+3 cases in average per year have been recorded in recent years.

Opisthorchiasis is registered by us in domestic carnivores, mainly (about 70% of all reported cases are cats), was registered in wild carnivores. The main percentage of opisthorchiasis is found in the Gomel region, both in animals and in humans, which is due to the natural reservoir of this invasion in the area. In humans, opisthorchiasis is recorded in sporadic cases, as often as possible in the Gomel region (Table 3).

Fasciolosis is widespread among cattle, averaging 30-40% of the population in a number of farms. However, there have been no cases of registration of human fasciolosis in the territory of the Republic of Belarus in the last 5 years.

In Turkmenistan, compared to the Republic of Belarus, the issue of zoonosis is more topical,

Table 1 – The intensity of parasitic zoonosis among farm animals for the last 5 years according to reports from meat processing companies and regional veterinary laboratories

Name of diseases	Number of cases				
	2018 year	2017 year	2016 year	2015 year	2014 year
Echinococcosis of pigs	-	1	-	1	2
Echinococcosis of sheep.	-	2	-	2	-
Cryptosporidiosis of cattle.	742	1473	1187	1154	872
Cryptosporidiosis of pigs	15	31	11	23	7
Opisthorchiasis of fishes	-	4	-	4	15

Table 2 – The incidence rate of visceral toxocarosis among the human population averages in the region depending on age

Age, years	Quantity of cases in 2014	Quantity of cases in 2015	Quantity of cases in 2016	Quantity of cases in 2017	Quantity of cases in 2018
0-2	7	5	0	1	3
3-6	8	18	8	7	6
7-10	12	13	10	4	6
10-17	52	29	22	13	24

Table 3 – Intensity of rare helminthosis among the population in the Republic of Belarus in 2018

Name of diseases	Quantity of the registered cases	Percentage (%) of total cases
Visceral toxocarosis	162	51,6%
Trichocephalosis	59	18,8%
Opisthorchiasis	61	19,4%
Echinococcosis	13	4,2%
Trichinellosis	9	2,9%
Difillobotriosis	3	0,9%
Others	7	2,2%

especially with regard to a number of particularly dangerous diseases (rabies, anthrax, brucellosis, echinococcosis). As a result of the studies and statistical analysis carried out, it was found that parasitic zoonoses such as echinococcosis, cryptosporidiosis, visceral toxocarosis, cysticercosis are the most spread in the territory of Turkmenistan.

Echinococcosis larval is widespread among small cattle, especially sheep (up to 70% of the total study sheep carcasses in a number of farms). Imaginal echinococcosis is widespread among shepherd dogs (up to 40-60% of the animals tested). The basic reasons of imaginal echinococcosis spread among dogs (and other carnivorous) are violations in maintenance and feeding of dogs, feeding not neutralized and raw waste, lack of the planned and forced deworming, lack of isolation for dogs during expulsion of helminths and some other. From the point of view in the spread of larval echinococcosis, the main reasons are the co-maintenance, drinking and feeding of ruminant and carnivorous animals, grazing of animals in non-cultured, contaminated pastures, absence of planned deworming, etc.

Along with echinococcosis, other cestodoses pose a rather significant problem, or rather their larval stages - cysticercis. Cysticercis thin-neck (tenuicole) and cysticercis pisiform are most common among small cattle. The main causes of these invasions are identical, as in echinococcosis.

Cryptosporidiosis has become more common today than in previous years, and special attention is paid to it in human medicine, while veterinary services of the country often ignore this disease. The spread of cryptosporidiosis in the country is facilitated both by climatic conditions and by the peculiarities of agriculture, and by the late diagnosis and treatment of this disease both among animals and among the population.

The medical services of the country show that the incidence in Turkmenistan is significant, particularly high among children (on average between the ages of 2 and 7) or among adults with low immune status or with concomitant pathologies of the immune system (average age of adults is 30-50 years). The disease is recorded everywhere and year-round. The main route of infection for both animals and humans is oral, most often humans and animals are infected through contaminated water or food (feed).

Among animals, cryptosporidiosis is most common among cattle (about 10-35% of the studied population), it is registered in a number of sheep farms (5-7% of the studied population) and is the cause of high mortality of young people.

Fasciolosis is also quite common among farm animals: cattle is about 40%, sheep - 50%, goats - 40%, camels - 10-15% of the tested population. In recent years, diseases have not been officially

recorded among people, but the risk of infection exists especially among herders, shepherds and people living in rural areas.

The Republic of Tajikistan, due to its climatic and geographical location, also records quite a large number of zoonotic infections and invasions, among which anthrax, brucellosis, rabies, salmonellosis, leptospirosis, echinococcosis, cysticercosis are the most common.

Anthrax is the most common in the Republic of Tajikistan among animals and the population, where the main role in epizootic and epidemic of this disease is played by both climatic and geographical features, as well as features of agriculture, also the low sanitary literacy of the population is important. Every year the Republic records the disease both among the population and among animals. The main sources of infection are sick farm animals: cattle, horses, donkeys, sheep, goats, deer, camels. Between 2015 and 2018, a total of 38 unfavorable points were registered, in which 61 animals died.

In Tajikistan, education is constantly being provided to the population, especially in rural areas, with a view to preventing anthrax infection.

Rabies is also a major problem among zoonotic diseases in Tajikistan. Previously, the main source of rabies in the Republic was dogs, in recent years due to the introduction of strict and controlled vaccination their role in distribution has decreased. But the source of rabies today are foxes, and, often, stray cats. But unfortunately, despite of the vaccination of pets, the situation on rabies continues to be tense. During 2018, 61 rabies-affected animals were registered in 12 settlements. Over the past 3 years, more than 12,000 people have been injured by a rabid animal attack in the Republic. Rabies were most common in the southern regions (92.3%) and only 7.7% in the northern regions. More than 300 cases of rabies have been reported among farm animals in the last 3 years (Table 5).

Unfortunately, cases of rabies are also recorded in Tajikistan. In recent years (from 2015 to 2018) 44 people have died.

The next rather significant problem for Tajikistan is brucellosis. To date, 500-800 heads of cattle and 2000-2500 heads of small cattle with brucellosis are detected annually by veterinary specialists (Table 5). The main reasons for the spread of brucellosis are also primarily the low sanitary literacy of the population. Every year quite a large number of people are diagnosed with "brucellosis" - up to 1000 cases per year (Table 6).

Tuberculosis is less common than brucellosis, but an average of 100-200 cases per year are recorded among livestock.

Salmonellosis and leptospirosis are fairly common and widely recorded in the Republic of

Table 4 – Information on brucellosis of ruminants in the Republic of Tajikistan for 2015-2018 years

Name of diseases	Number of cases							
	2015 year		2016 year		2017 year		2018 year	
	Number of examinations	Positive result	Number of examinations	Positive result	Number of examinations	Positive result	Number of examinations	Positive result
Cattle brucellosis	341298	802	335092	661	340404	611	285520	294
Sheep brucellosis	466724	2650	423536	2099	444072	1194	335607	462

Table 5 – Information on communicable diseases of farm animals in the Republic of Tajikistan for 2015-2018 years

Name of diseases	Number of cases			
	2015 year	2016 year	2017 year	2018 year
Anthrax	18	12	4	4
Tuberculosis	116	192	184	170
Rabies	260	192	191	121
Echinococcosis	87	60	68	51

Table 6 – Epidemic situation on brucellosis among people in the Republic of Tajikistan according to the epidemiological reports of Ministry of Health of the Republic of Tajikistan for 2010-2018 years

Administr. territory	Number of human disease cases per year								
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
GBAO	64	128	130	262	368	276	317	479	210
Dushanbe	5	0	1	31	20	0	25	53	28
RRP	251	287	257	357	388	425	469	491	359
Kulob	54	48	31	25	23	21	21	16	26
Qurghonteppa	289	210	132	129	87	75	54	57	38
Hatlon	343	258	163	154	110	96	75	73	64
Sughd region	292	338	200	103	61	52	42	26	37
In total on to the republic	955	991	841	907	947	849	928	1122	698

Tajikistan, the most common infections among the population working in agriculture.

One of the most common parasitic zoonosis in Tajikistan is echinococcosis. The study of the incidence of echinococcosis shows the endemic nature of this disease in the Republic of Tajikistan. Taking into account difficult diagnostics, all data on the spread of echinococcosis in the Republic are based on the data of veterinary and medical services, rather than on the results of mass surveys of the population and farm animals.

According to the Ministry of Health of the Republic of Tajikistan, an average of 700 to 1,000 people with echinococcosis are allocated per year, but this figure is only approximate, taking into account that not all the population of the country regularly visits medical centers (Table 7).

The total number of cattle and sheep carcasses in slaughter points and markets for the period 2013-2018 was 280,402 heads, and echinococcosis was identified in 1,454 cases. Of these, 3677.8 kg of animal products were destroyed (Table 8).

The main reasons in spread of echinococcosis (larval and imaginal) among the population and animals are the same as in a number of other countries: lack of planned dehelminthisations of dogs, co-maintenance, feeding and drinking of carnivorous and herbivorous animals, grazing of animals on non-cultured pastures, feeding of slaughterhouse waste to parochial dogs, low sanitary literacy of the population and a number of others.

Opisthorchiasis is diagnosed in the form of sporadic cases, and primarily among the population, whose diet includes fish and fish products.

Cryptosporidiosis is widespread in the territory of the Republic of Tajikistan, but it should be noted that this disease is not given due attention. The largest percent of cryptosporidiosis (5-10%) is detected in calves and lambs for the first month of life, but we consider these figures to be inaccurate, as diagnosis for cryptosporidiosis is quite rare.

In the territory of the Republic of Azerbaijan, among all zoonotic diseases, the greatest danger to

both animals and humans today is such diseases as anthrax, rabies, tuberculosis, brucellosis, echinococcosis, trichinellosis, opisthorchiasis and a number of others. Rabies, anthrax, brucellosis are particularly dangerous. The causes of the occurrence and spread of zoonotic diseases are mainly the same as in other countries: climatic and geographical characteristics, conditions and peculiarities of agriculture, gastronomic preferences, low sanitary literacy of the population in some parts of the country and a number of others. Contributing factors are often the following: boring animal maintenance, lack of regular preventive measures (disinfections, vaccinations, disinfections, etc.), absence of quarantine measures for newly arrived animals, unsatisfactory feeding and maintenance conditions, stationary natural centers of disease and much more.

To date, one of the problems that tends to spread is pasteurellosis. In recent years, cases

of registration of this zoonosis have increased, which, according to some experts, is related to the resistance of the microorganism to the antibacterial preparations used, on the other hand, to the reduction of the effectiveness of preventive vaccinations (Table 8).

Among parasitic zoonosis remains the problem of echinococcosis, visceral toxocarosis, cysticercosis and a number of other zoonosis. The spread of the main zoonoses is primarily related to the low literacy of certain groups of the population, the violation of sanitary and veterinary rules for the maintenance of animals (both agricultural and domestic), the receipt and sale of livestock products (primarily in the private sector).

Discussions. Our research on the prevalence of selected zoonotic diseases in a number of countries show that, in general, the data is coincide with the data of a number of other countries - cer-

Table 7 – Number of human echinococcosis cases for the period 2013-2018 in the Republic of Tajikistan

Years	Number of sick people	Including operated on
2013	808	179
2014	694	147
2015	973	148
2016	943	196
2017	761	262
2018	736	172

Table 8 – Number of examined carcasses of cattle and sheep for echinococcosis for the period 2013-2018 years in Dushanbe

Years	Number of examined carcasses	The number of carcasses infected echinococcosis	Rejected raw meat (kg)
2013	42209	171	963
2014	21388	176	380,9
2015	54590	166	388
2016	47589	277	401,3
2017	53608	246	588,8
2018	41018	418	955,8
total	280402	1454	3677,8

Table 9 – Number of cases of pasteurellosis among the farm animals in the Republic of Azerbaijan for 2010-2018 years

Years	Cattle		Sheep		Birds	
	Number of samples examined	Positive results	Number of samples examined	Positive results	Number of samples examined	Positive results
2010	5	5	3	3	61	61
2011	3	3	0	0	37	37
2012	6	6	2	2	40	40
2013	24	23	13	10	55	53
2014	244	36	411	122	188	8
2015	351	48	425	84	295	20
2016	389	45	460	89	324	54
2017	421	65	543	97	278	47
2018	543	76	521	123	336	78

tain zoonoses tend to decrease their prevalence (Such as trichinellosis and larval echinococcosis among pigs in the Republic of Belarus), others (rabies, anthrax, brucellosis, larval and imaginal echinococcosis) remain a huge problem for countries such as Turkmenistan, Tajikistan, or begin to register again after many years (anthrax in the Republic of Belarus). A number of diseases, such as leptospirosis, chlamydiosis, pasteurellosis, tuberculosis, are recorded more frequently in the form of small or sporadic outbreaks in individual farms, without noting trends in either increasing or decreasing intensity, but showing their stationary nature in individual farms, areas, regions. The main reasons for the occurrence and spread of zoonosis are primarily disorders on the part of animal maintenance, lack of regular diagnostic studies and medical and preventive treatments, as well as low sanitary literacy of the population.

Thus, we note that the problem of zoonosis is still relevant to many countries, and some of them are a significant threat to both the animal population and the population of a country. Solving the problem of zoonotic diseases can be achieved only by joint efforts of veterinary and medical services of countries, and the fact of constant improvement of theoretical knowledge and practical skills in the field of diagnosis, control and prevention of these diseases is important, and exchange of experience and joint work with colleagues from different countries is important.

Conclusion. The problem of zoonotic diseases is common to all countries, despite the species difference between the diseases recorded. Studying the characteristics of the occurrence, transmission and spread of certain diseases in different countries will allow to develop and implement measures aimed at preventing zoonosis, their spread and combating these diseases in a more detailed and reasonable manner. Knowledge and understanding the ways of spreading this group of diseases, clear adherence to the developed rules and instructions, transparency in cross-border relations, scientific and practical cooperation of countries will allow preventing entry and spread of not only common diseases, but also contagious diseases in general both among animals and the population.

LIST OF REFERENCES

1. Амангельдиев К.А. и др. Современная ситуация по малярии в Туркменистане / К.А. Амангельдиев, К.В. Морозова, Д.О. Медалиева // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2001. – № 1. – С. 37-39.
2. Бронштейн А.М., Малышев Н.А., Федянина Л.В., Давыдова И.В. Фасциоз с длительным бессимптомным течением у больного из Туркменистана, осложнившийся острой механической желтухой: описание случая и обзор литературы // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2016. – №2. – С. 92-98.
3. Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Буравцева Н.П. Современная ситуация по сибирской язве в России и мире. Основные тенденции и особенности. Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – № 1. – С. 65-71. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-65-71.
4. Жамансарин Т.М. Ветеринарные науки. Исследования и профилактика бруцеллеза коз. Международный научно-исследовательский журнал. – 2015. – №11 (42). – Часть 3. – С. 103-105. DOI: 10.18454/IRJ.2015.42.185
5. Кирильцова В.А., Кирильцов Е. В. Эхинококкоз диких копытных животных юга Забайкальского края. Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. – №8 (50). – Часть 2. – С. 39-42. DOI: 10.18454/IRJ.2016.50.068
6. Колосов А.Е., Романов А.В., Вьялицын А.Г. Оценка опасности заражения бешенством в северных регионах России. Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – № 5 (59). – Часть 2. – С. 141-5. DOI: 10.23670/IRJ.2017.59.106
7. Логвин Ф.В., Кондратенко Т.А., Водяницкая С.Ю. Сибирская язва в мире, странах СНГ и Российской Федерации (обзор литературы). Медицинский вестник Юга России. – 2017. – 8(3). – С. 17-22. DOI: 10.21886/2219-8075-2017-8-3-17-22
8. Levett P.N. Leptospirosis. Clin Microbiol. Rev. – 2001. – 14. – С. 296-326. DOI: 10.1128/CMR.14.2.296-326.2001
9. Макаров В.В., Махамат Н.Я. Глобальная эпизоотология сибирской язвы. Заболеваемость человека как индикатор эпизоотического неблагополучия и факторы риска. Ветеринария сегодня. – 2019. – №1. – (28). С. 63-67. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-1-28-63-67.
10. Мовсесянц А.А., Олефир Ю.В. Современные проблемы вакцино-профилактики бешенства. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2019. – 19(1). – С. 10-16. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-1-10-16
11. Мураднazarova Т.Б., Бородин О.Н., Тедженова З.А. Эпидемиологические особенности криптоспориоза в Туркменистане. Терапевтический архив. – 2002. – Т. 74. – №11. – С. 53-55.
12. Никифоров В.В., Авдеева М.Г. Бешенство. Актуальные вопросы. Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2017. – 22(6). – С. 295-305. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-6-295-305.
13. Паразитарные зоонозы (монография) / М.В. Якубовский [и др.]; под ред. М.В. Якубовского. – Минск, Наша Идея, 2012. – 384 с.
14. Pallua K., Putz G., Mitterschiffthaler G., et al. Management of hepatic echinococcosis in pregnancy. // Int. J. Gynaecol. Obstet. – 2010. – V.109(2). – P.162. DOI: 10.1016/j.ijgo.2010.01.009
15. Rohde G., Straube E., Essig A., Reinhold P., Sachse K. Chlamydial Zoonoses. Dtsch Arztebl Int. – 2010. – 107(10). – С. 174-80. DOI: 10.3238/arztebl.2010.0174
16. Тарасов М.А., Янович В.А., Копылов П.В., Иванов Л.И., Попов Н.В., Топорков В.П., Кутырев В.В. Эпизоотологическое обследование очагов зоонозов в условиях стихийного бедствия (наводнение). Проблемы

особо опасных инфекций.– 2013.– № 4.– С. 37-41. DOI: doi.org/10.21055/0370-1069-2013-4-37-41.

17. Хаммадов Н.И. Генетические маркеры вируса ящура крупного рогатого скота, геномный анализ. Проблемы особо опасных инфекций.– 2019.– № 2.– С.111-116. DOI: doi.org/10.21055/0370-1069-2019-2-111-116

18. Шубин Ф.Н. Зоонозный сальмонеллез в России: основные аспекты проблемы. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика.– 2015.– № 14(1). – С. 28-30. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-1-28-30

19. Wertheim H. F. L., Nguyen T. Q., Nguyen K. A. T., de Jong M.D., Taylor W. R. J., Le T. V. et al. Furious rabies after an atypical exposure. PLoS Med.– 2009.– № 6(3):e1000044. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000044

REFERENCES

1. Amangel'diev K.A., Morozova K.V., Medalieva D.O. (2001). Sovremennaja situacija po maljarii v Turkmenistane [The current situation of malaria in Turkmenistan]. Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni, №1, pp.37–39. (in Russian).

2. Bronshtejn A.M., Malyshev N.A., Fedjanina L.V., Davydova I.V. (2016). Fasciolez s dlitel'nyim bessimptomnym techeniem u bol'nogo iz Turkmenistana, oslozhnivshijsja ostroj mehanicheskoj zheltuhoj: opisanie sluchaja i obzor literatury [Fascioliasis with a long asymptomatic patient from Turkmenistan, complicated by acute obstructive jaundice: a case report and literature review]. Epidemiologija i infekcionnye bolezni, №2, pp. 92-98. (in Russian).

3. Eremenko E.I., Rjazanova A.G., Buravceva N.P. (2017). Sovremennaja situacij po sibirskoj jazve v Rossii i mire. Osnovnye tendencii i osobennosti. [The current situation on anthrax in Russia and in the world. Main trends and features]. Problemy osobo opasnyh infekcij. №1, pp. 65-71. (in Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-65-71.

4. Zhamansarin T.M. (2015). Issledovanija i profilaktika brucelleza koz [Research and prevention of brucellosis of goats]. Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal, №11 (42), Part 3, pp. 103–105. (in Russian). DOI: 10.18454/IRJ.2015.42.185.

5. Kiril'cova V.A., Kiril'cov E.V. (2016). Jehinokokkoz dikih kopytnyh zhivotnyh juga Zabajkalskogo kraja [Echinococcosis of wild hoofed animals of the South of Zabajkalsky Krai]. Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal, №8 (50), Part 2, pp. 39-42. (in Russian). DOI: 10.18454/IRJ.2016.50.068

6. Kolosov A.E., Romanov A.V., V'jalicyan A.G. (2017). Ocenka opasnosti zarazhenija beshentvom v severnyh regionah Rossii [Assessment of the risk of rabies infection in the northern regions of Russia]. Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal, №05 (59), Part 2, pp. 141-145. (in Russian). DOI: 10.23670/IRJ.2017.59.106

7. Logvin F.V., Kondratenko T.A., Vodjanickaja S.Ju. (2017). Sibirskaja jazva v mire, stranah SNG i Rossijskoj Federacii (obzor literatury) [Anthrax in the world, CIS countries and the Russian Federation (literature review)]. Medicinskij vestnik Juga Rossii, №8 (3). pp. 17-22. (in Russian). DOI:10.21886/2219-8075-2017-8-3-17-22

8. Levett P.N. (2001). Leptospirosis. Clinical Microbiology Reviews, №14 (2), pp. 296–326. DOI:10.1128/CMR.14.2.296-326.2001.

9. Makarov V.V., Mahamat N.Ja. (2019). Global'naja jepizootologija sibirskoj jazvy. Zaboлеваemost' cheloveka kak indikator jepizooticheskogo neblagopoluchija i faktory riska [Global anthrax epizootology. Human incidence as an indicator

of epizootic distress and risk factors]. Veterinarija segodnja, №1 (28). pp. 63-67. (in Russian). DOI:10.29326/2304-196H-2019-1-28-63-67.

10. Movsesjanc A.A., Olefir Ju.V. (2019). Sovremennye problemy vakcino-profilaktiki beshentstva [Current problems of rabies vaccine prevention]. BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie, №19 (1). pp.10-16. (in Russian). DOI:10.30895/2221-996X-2019-19-1-10-16

11. Muradnazarova T.B., Borodina O.N., Tedzhenova Z.A. (2002). Jepidemiolo-gicheskie osobennosti kriptosporidioza v Turkmenistane [Epidemic features of cryptosporidiosis in Turkmenistan]. Terapevticheskij arhiv, №11. pp. 53-55. (in Russian).

12. Nikiforov V.V., Avdeeva M.G. (2017). Beshentstvo. Aktual'nye voprosy [Rabies. Topical issues]. Jepidemiologija i infekcionnye bolezni, №22 (6). pp. 295-305. (in Russian). DOI:10.18821/1560-9529-2017-22-6-295-305

13. Jakubovskij M.V. (2012). Parazitarnye zoonozy (monografija) [Parasitic zoonoses (monograph)]. Minsk, Nasha Ideja, pp. 384. (in Russian).

14. Pallua, K., Putz, G., Mitterschiffthaler, G., Brezinka, C., Biebl, M., & Paal, P. (2010). Management of hepatic echinococcosis in pregnancy. International Journal of Gynecology & Obstetrics, Vol. 109 (2), p.162. DOI: 10.1016/j.ijgo.2010.01.009

15. Rohde, G., Straube, E., Essig, A., Reinhold, P., & Sachse, K. (2010). Chlamydial zoonoses. Deutsches Arzteblatt international, Vol. 107(10), pp. 174–180. DOI: 10.3238/arztebl.2010.0174

16. Tarasov M.A., Janovich V.A., Kopylov P.V., Ivanov L.I., Popov N.V., Toporkov V.P., Kutjrev V.V. (2013). Jepizootologicheskoe obsledovanie ochagov zoonozov v uslovijah stihijnogo bedstvija (navodnenie) [Epizootological survey of zoonosis centers in conditions of natural disaster (flood)]. Problemy osobo opasnyh infekcij, №4. pp. 37-41. (in Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-37-41

17. Hammadov N.I. (2019). Geneticheskie markery virusa jashhura krupnogo rogatogo skota, genomnyj analiz [Genetic markers of cattle foot-and-mouth virus, genomic analysis]. Problemy osobo opasnyh infekcij, №2. pp. 111-116. (in Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-111-116

18. Shubin F.N. (2015). Zoonoznyj sal'monellez v Rossii: osnovnye aspekty problem [Zoonotic salmonellosis in Russia: the main aspects of the problem]. Jepidemiologija i Vakcinoprofilaktika, №14 (1). pp. 28-30. (in Russian). DOI:10.31631/2073-3046-2015-14-1-28-30

19. Wertheim H. F. L., Nguyen T. Q., Nguyen K. A. T., de Jong M.D., Taylor W. R. J., Le T. V. et al. (2009). Furious rabies after an atypical exposure. PLoS Med. Vol. 6(3). e1000044. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000044

Хвороби, спільні для людини і тварин – сучасний стан проблеми

Субботіна І.А., Андамов І.Ш., Бакиєв Б.М., Купріянов І.І., Сафар-заде Гамід Рафік огли

Однією з істотних проблем для ветеринарної служби і працівників гуманної медицини всього світу є різні хвороби (паразитарні та інфекційні), спільні для людини і тварин. У більшості країн цю групу хвороб називають зоонози, хоча у багатьох дослідників цей термін викликає низку спірних питань. У ряді країн прийнято суворо розділяти їх на зооантропонози і антропозонози.

Однак, незважаючи на відмінність у термінології, важливість зоонозних хвороб залишається актуальною.

Звичайно, в країнах з різними клімато-географічними, культурними та гастрономічними особливостями будуть превалювати ті чи інші хвороби, проте їхня соціальна і економічна значимість подібна для всіх.

У роботі в порівняльному аспекті висвітлено найбільш значущі зоонози і залежність їх поширення від клімато-географічних, гастрономічних, культурних і ряду інших особливостей країн. Проводили дослідження у Республіці Білорусь, Туркменістані, Таджикистані і Азербайджані.

У процесі досліджень виявляли найбільш значущі зоонози для перерахованих вище країн і визначали основні причини та чинники, що сприяють виникненню і поширенню цих патологій.

Дослідження проводили з використанням сучасних методів, зокрема паразитологічних, вірусологічних, бактеріологічних, молекулярно-генетичних і статистичних.

В результаті проведених досліджень встановлено, що ряд зоонозних хвороб, таких як сказ, пастерельоз, туберкульоз досить широко поширені практично у всіх зазначених країнах, тоді як сибірка, бруцельоз, ехінокоз – мають суттєву різницю в інтенсивності поширення, і безпосередніми причинами такої відмінності є як клімато-географічні чинники, так і особливості ведення сільського господарства тощо.

Ключові слова: зоонози, інфекції, інвазії, сказ, пастерельоз, сибірка, бруцельоз, туберкульоз, ехінокоз, цестодози, трихинельоз, аскаридакти, криптоспориоз.

Болезни, общие для человека и животных – современное состояние проблемы

Субботина И.А., Андамов И.Ш., Бакыев Б.Н., Куприянов И.И., Сафар-заде Гамид Рафик оглы

Одной из существенных проблем для ветеринарной службы и работников гуманной медицины всего мира являются заразные болезни (паразитарные и инфекционные), общие для человека и животных. В большинстве

стран эту группу болезней называют зоонозы, хотя у многих исследователей этот термин вызывает ряд спорных вопросов. В ряде стран принято строго делить их на зооантропонозы и антропозонозы.

Однако, несмотря на различие в терминологии, важность зоонозных болезней остается актуальной.

Конечно, в странах с различными климато-географическими, культурными и гастрономическими особенностями будут превалировать те или иные болезни, но социальная и экономическая их значимость будет сходной для всех.

В работе в сравнительном аспекте показано наиболее значимые зоонозы и зависимость их распространения от климато-географических, гастрономических, культурных и ряда других особенностей стран. Проводились исследования в таких странах как Республика Беларусь, Туркменистан, Таджикистан и Азербайджан.

В процессе исследований выявляли наиболее значимые зоонозы для вышеперечисленных стран и определяли основные причины и факторы, способствующие возникновению и распространению данных патологий.

Исследования проводили с использованием современных методов, таких как паразитологические, вирусологические, бактериологические, молекулярно-генетические, статистические.

В результате проведенных исследований установлено, что ряд зоонозных болезней, таких как бешенство, пастереллез, туберкулез довольно широко распространены практически во всех указанных странах, тогда как сибирская язва, бруцеллез, эхинококкоз – имеют существенное различие в интенсивности распространения, и непосредственными причинами данного различия являются как климато-географические факторы, так и особенности ведения сельского хозяйства, ряд других.

Ключевые слова: зоонозы, инфекции, инвазии, бешенство, пастереллез, сибирская язва, бруцеллез, туберкулез, эхинококкоз, цестодозы, трихинеллез, аскаридакти, криптоспориоз.



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



Subbotina I.

ID <https://orcid.org/0000-0001-8346-2988>

ПАРАЗИТАРНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.995.122.615.284/.322:636.2

Комплексне лікування великої рогатої худоби за фасціольозу

Авраменко Н.В. , Козій Н.В. , Шаганенко Р.В. , Шаганенко В.С. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 БНАУ, м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1. E-mail: parazitologiya@ukr.net



Авраменко Н.В., Козій Н.В., Шаганенко Р.В., Шаганенко В.С. Комплексне лікування великої рогатої худоби за фасціольозу. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 46–52.

Avramenko N.V., Kozij N.V., Shaganenko R.V., Shaganenko V.S. Kompleksne likuvannja velykoi' roga-toi' hudoby za fasciol'ozu. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 46–52.

Рукопис отримано: 06.09.2019р.
Прийнято: 10.10.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-46-52

Однією з причин недостатньої рентабельності молочного скотарства є паразитарні захворювання, зокрема фасціольозна інвазія. Ця хвороба може завдати значних економічних збитків: зниження молочної продуктивності корів, зменшення приростів живої маси молодняку, негативний вплив на репродукцію.

На сьогодні ринок ветеринарних препаратів доволі насичений протитрематодними засобами зарубіжного і вітчизняного виробництва. Проте для власників тварин ключовою проблемою залишається ціна/ефективність антигельмінтиків. Специфічні препарати звільняють організм від гельмінтів, не впливаючи на процеси відновлення після інвазії. Проте тривале застосування одних і тих же препаратів призводить до збільшення кількості випадків розвитку резистентності фасціол до антигельмінтиків.

Метою дослідження є апробація нових лікувальних комбінацій, які б забезпечували звільнення організму великої рогатої худоби (ВРХ) від трематод і відновлення порушених фізіологічних функцій.

У роботі наведено результати апробації комбінації рафензол емульсії та настою трави звіробою за фасціольозу ВРХ в умовах молочно-товарної ферми Київщини.

Екстенс- та інтенсефективність монотерапії рафензол емульсією через 10 діб становила 40 %, а на 30-ту добу збільшилася до 80 %. Комплексне використання рафензол емульсії з настоем трави звіробою, згідно зі схемою, через 10 діб забезпечило 80 % екстенс- та інтенсефективності. Через 30 діб показник покращився до 100 %. Трава звіробою покращує регенерацію ушкоджених фасціолами тканин, сприяє засвоєванню корму та відновленню продуктивності.

Комплексне лікування ВРХ з використанням етіотропної та патогенетичної терапії є високоефективним. Засоби фітотерапії у поєднанні з трематодоцидними препаратами покращують порушену функцію тканин за ураження фасціолами.

Ключові слова: рафензол емульсія, настій трави звіробою, фасціольоз, інтенсивність та екстенсивність інвазії, екстенсефективність та інтенсефективність препаратів.

Постановка проблеми. Фасціольоз – це один із небезпечних гельмінтозів, що завдає значних економічних збитків господарствам [1–3]. Важливою проблемою є розвиток резистентності до антигельмінтиків у збудника фасціольозу. Це визначає актуальність вивчен-

ня різних схем лікування та, зокрема, комплексної терапії захворювання.

Хвороба має соціальне значення, пов'язане з його небезпекою для людини. Окремі автори [4–8], звертали увагу на реєстрацію випадків фасціольозу серед людей у 19 країнах Європи.

Наразі виявлено стійкість цієї трематоди до окремих препаратів. Так, науковці Чилі [9], вперше виявили фасціол, резистентних до триклабендазолу. Вони рекомендують проводити ротацію застосовуваних специфічних препаратів за фасціольозу та періодично проводити тести на чутливість виявлених збудників до препаратів.

Аналіз останніх досліджень. У Великобританії серед 183 досліджених коней у 2,2 % тварин у печінці були виявлені фасціоли. Водночас серопозитивними було 8,7 % досліджених коней. Оскільки у коней паразитує *F. hepatica*, подібно жуйним, автори рекомендують за планування заходів із профілактики захворювання враховувати можливість ураження коней [10].

Мау К. та співавт. [11] виявили негативний вплив паразитування фасціол на репродуктивний статус молочних корів.

Це захворювання наносить щорічні збитки молочній індустрії Великобританії більше як на 40 млн фунтів стерлінгів, Бразилії – 210 млн доларів [12]. Встановлено, що більше 50 % метацеркарій фасціол здатні зимувати на пасовищах. У зв'язку з цим потребує вивчення можливість зараження корів кормами, особливо силосом, які можуть бути ураженими адолескаріями *F. hepatica* [13–16].

Через поширення хвороби майже на всіх континентах необхідний пошук нових схем лікування. Препарати мають знищувати збудника та усувати негативний вплив його на організм.

Мета дослідження – вивчити ефективність комплексного лікування великої рогатої худоби за фасціольозу із застосуванням рафензол емульсії та настою трави звіробою.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проведені в умовах ТОВ «Світанок Плюс» Обухівського району Київської області. Використовували епізоотологічні, клінічні та лабораторні методи досліджень.

Епізоотологічні методи включали аналіз документів ветеринарної звітності, планів проведення ветеринарно-профілактичних та протиепізоотичних заходів за 2018–2019 роки.

Вивчали стан тварин за загальноприйнятими у клінічній практиці методами. Протягом 30 діб спостерігали за тваринами.

Для визначення уражених фасціольозом тварин досліджували велику рогату худобу (ВРХ) чорнорябої породи. Лабораторні дослідження фекалій проводили методом седиментації (осадження), що ґрунтується на принципі осадження яєць гельмінтів, що зависли в рід-

ні, промиванні осаду і дослідженні останнього [17–19].

Для визначення ефективності дегельмінтизації було сформовано три групи телиць віком 12–18 місяців за принципом аналогів, одна з яких була контрольною. У кожній групі було по 5 телят, яких зважували до постановки досліді та на 30-ту добу після його закінчення.

Тваринам першої групи проводили лише етіотропну терапію. Їм вводили рафензол емульсію індивідуально у дозі 0,75 мл препарату на 10 кг маси тіла всередину, одноразово за допомогою гумової пляшки. Тваринам другої групи проводили комплексне лікування. Їм задавали рафензол аналогічно першій групі. Крім того, тварини цієї групи отримували настій трави звіробою як засіб патогенетичної терапії. Останній випоювали попередньо, протягом десяти діб під час ранішньої годівлі. Настій трави виготовляли у співвідношенні 1:10 і використовували у дозі 5 мл на 10 кг маси тіла. Третю (контрольну) групу не лікували.

Рафензол емульсію випускає німецько-українська науково-виробнича фірма «Бровафарма». В 1 мл препарату містяться діючі речовини: рафоксанід 110 мг, фенбендазол 75 мг. Це препарат широкого спектра, який згубно діє на статевозрілі та нестатевозрілі паразити роду *Fasciola* і *Dicrocoelia*. Механізм дії рафоксаніду пов'язаний із порушенням енергетичного обміну гельмінтів та роз'єднування окислювального фосфорилування. Фенбендазол пригнічує ферментну систему гельмінтів, що змінює енергетичний обмін та зумовлює загибель паразитів. Препарат має низьку токсичність та порівняно високу терапевтичну ефективність. Він стійкий у лікарській формі та тривалий час зберігає фармакологічні властивості. Виводиться із організму переважно шлунково-кишковим каналом. Період очікування для м'яса становить 14–28 діб, для молока – 10 діб.

Трава звіробою містить біологічно активні сполуки, які покращують стан хворої тварини. Зокрема, флавоноїди й антоціани, які мають спазмолітичну та антисептичну дію. Ефірні олії надають йому характерного запаху. Органічні сполуки різного складу представлені дубильними речовинами. Вони мають терпкий смак та здатні пригнічувати ріст бактерій і вірусів. Органічні кислоти звіробою беруть активну участь в обміні речовин. Вони збільшують виділення слини, жовчі і шлункового соку. Смоли мають ранозагоювальні та протимікробні властивості [20].

Результати дослідження. Встановлено (табл. 1), що із 30 проб фекалій у 13 виявили яйця фасціол. Екстенсивність інвазії (ЕІ) при цьому склала 43,3 %. Інтенсивність інвазії (ІІ) – 17 екземплярів яєць. Найбільш ураженими були тварини 2018–2019 рр. народження. У них відповідно ЕІ 53 % та ІІ – 21 екземпляр яєць. Цю технологічну групу тварин використовували для подальшої експериментальної роботи.

Для проведення досліду було відібрано п'ятнадцять 1–1,5-річних телиць, які мали клінічні ознаки фасціольозу: порушення функції шлунково-кишкового тракту, відставання в рості та розвитку. В окремих тварин спостерігали жовтушність видимих слизових оболонок. Результати гельмінтологічних досліджень висвітлені у таблиці 2.

Всі відібрані для дослідження тварини були уражені яйцями фасціол. При цьому екстенсивність інвазії (ЕЕ) = 100 %, за середньої інтенсивності інвазії (ІІ) 17,9 екземплярів яєць в одній краплині флотаційного розчину.

За тваринами спостерігали протягом 30 діб, щоденно проводячи клінічні дослідження. Копрологічні дослідження проводили на 10- і 30-ту добу (табл. 3, 4).

Із таблиці 3 видно, що через десять діб після застосування рафензол емульсії значно змінилась ураженість телиць фасціолами. Екстенсивність інвазії знизилася до 40 % у тварин 1-ї групи і до 20 % – у 2-ї групи. Інтенсивність інвазії вірогідно зменшилася до 8,3 і 7,6 екземплярів яєць ($p < 0,05$) відповідно, порівняно з тваринами контрольної групи. Було виявлено, що у першій групі ЕЕ дорівнювала 60 %, а ІЕ – 51,3 %. У другій групі вони становили 80 та 56,1 % відповідно. Тварини контрольної групи залишались ураженими (ЕІ–100 %, ІІ–19,0 екз. яєць).

На 30-ту добу дослідження показники покращилися. Із таблиці 4 видно, що у другій групі уражених фасціолами тварин не виявили. Терапевтична ефективність препарату становила 100 %. Водночас, у першій дослідній групі одна тварина залишалась ураженою фасціолами. ЕЕ препарату в цій групі дорівнювала 80 % та ІЕ – 71,1 %. В усіх дослідних тварин за цей час покращився загальний стан. Вони активніше вживали корм та були клінічно здоровими. Показники температури, дихання та серцебиття були в межах норми.

Проведені дослідження засвідчили ефективність рафензол емульсії у досліді. Водночас вплив комплексу емульсії з настоєм трави звіробою був дещо вищим.

Телиці контрольної групи протягом усього періоду дослідження залишались ураженими,

з проявами клінічних ознак фасціольозу. Вони були пригніченими, погано споживали корм. У них визначали відхилення від нормальних показників температури, частоти дихання та серцебиття. Після досліду їх обробили рафензол емульсією за зазначеною вище методикою.

Поряд із вивченням ефективності препарату, розглядали його вплив на зміну маси тіла. Зважували тварин до лікування і через 30 діб після дегельмінтизації (табл. 5).

У таблиці представлено показники середньої маси тварин під час досліду. До лікування вони коливались у межах 234–240 кг. Через 30 діб проведення досліду маса тіла телиць 1-ї групи збільшилася в середньому на 18,6 кг (258,6 кг). У контрольній групі ці показники змінились незначно. При цьому у телиць 1-ї групи середньодобові прирости були 620 г, що на 253 г, або в 1,7 разів більше, порівняно з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$). Застосування телицям 2-ї групи комплексу препаратів більшою мірою покращило їх стан. Про це свідчить приріст маси тіла за добу – 0,416 кг або у 2,1 раза ($p < 0,01$), та за 30 діб – 22,5 кг ($p < 0,01$).

Обговорення. Фасціольоз, як один із небезпечних гельмінтозів, завдає значних економічних збитків господарствам [1–3]. При цьому знижується молочна продуктивність корів та прирости маси тіла молодяку. Проявляється негативний вплив на репродукцію стада. Важливою проблемою є розвиток резистентності збудників фасціольозу до антигельмінтиків. Це визначає актуальність вивчення різних схем лікування та, зокрема, комплексної терапії тварин за цієї інвазії.

У досліді вивчали комплексне лікування телиць великої рогатої худоби ТОВ «Світанок Плюс» за фасціольозу із використанням рафензолу емульсії як етіотропної терапії та настою трави звіробою як патогенетичного лікування.

Через десять діб після застосування рафензол емульсії значно змінилась ураженість дослідних телиць. Екстенсивність фасціольозної інвазії знизилася до 40 % у тварин 1-ї групи і до 20 % – 2-ї групи. Інтенсивність інвазії вірогідно зменшилася до 8,3 і 7,6 екземплярів яєць ($p < 0,05$) відповідно, порівняно з контрольною групою. Терапевтичну ефективність лікування визначали за показниками екстенс- та інтенс-ефективності. Було виявлено, що у 1-й групі ЕЕ дорівнювала 60 %, а ІЕ препарату – 51,3 %. У 2-й групі вони становили 80 та 56,1 % відповідно.

На 30-ту добу терапевтична ефективність схем лікування була вищою. У тварин другої групи уражених фасціолами яєць не виявили.

Таблиця 1 – Ураження яйцями фасціол великої рогатої худоби господарства

Група тварин	Кількість проб		ЕІ, %	П, екз. яєць в 1 г фекалій
	досліджено	інвазовано		
Корови	15	5	33,3	12,6 ±1,85
Телиці С. маса 234	15	8	53,3	21,1±2,35
Всього/ в середньому	30	13	43,3	17,3±2,32

Таблиця 2 – Ураженість телиць яйцями фасціол до дегельмінтизації

Група тварин	Всього тварин у групі	Всього уражених, гол.	ЕІ, %	П, екз.
1-а дослідна	5	5	100	18,0±3,19
2-а дослідна	5	5	100	17,3±4,76
Контрольна	5	5	100	18,4±3,81

Таблиця 3 – Ураженість телиць на 10-ту добу після дегельмінтизації

Група тварин	Досліджено проб, гол.	Із них інвазовано	ЕІ %	П, екз.	ЕЕ, %	ІЕ, %
1-а дослідна	5	2	40	8,3±2,19*	60	51,3
2-а дослідна	5	1	20	7,6±3,29*	80	56,1
Контрольна	5	5	100	19,0±2,32	-	-

Примітка. значення р: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001; решта – >0,05, порівняно з контролем.

Таблиця 4 – Наявність яєць фасціол на 30-ту добу після дегельмінтизації

Група тварин	Досліджено проб	Із них інвазовано, гол.	ЕІ %	П, екз.	ЕЕ, %	ІЕ, %
1-а дослідна	5	1	20	5,2±2,32*	80	71,1
2-а дослідна	5	0	0	0***	100	100
Контрольна	10	10	100	21,4±4,18	-	-

Примітка: значення р: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001; решта – >0,05, порівняно з контролем.

Таблиця 5 – Динаміка маси тіла дослідних тварин

Група тварин n=5	Середня вага, кг		Приріст маси тіла	
	до лікування	після лікування	за добу, кг	+ до контрольної групи за добу, кг
1-а дослідна	240,0±4,45	258,6 ±5,18	0,620±0,055*	0,253
2-а дослідна	234,0±5,70	267,5±4,67*	0,783±0,044**	0,416
Контрольна	238,0±4,56	249,0±4,45	0,367±0,085	-

Примітка: значення р: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001; решта – >0,05, порівняно з контролем.

ЕЕ та ІЕ дорівнювала 100 %. У першій дослідній групі одна тварина залишалась ураженою фасціолами. ЕЕ становила 80 % та ІЕ – 71,1 %. Загальний стан усіх дослідних тварин за цей час покращився.

Проведені дослідження засвідчили достовірну ефективність рафензол емульсії ($p < 0,05$;) у досліді, водночас вплив її комплексу з настоєм трави звіробою був дещо вищим ($p < 0,001$).

Телиці контрольної групи протягом усього періоду дослідження залишались ураженими яйцями трематод. У них спостерігали прояви клінічних ознак фасціольозу, загальне пригнічення та знижений апетит.

Показники середньої маси дослідних тварин за період спостереження засвідчили видужування. У контрольній групі ці показники змінилися незначно. Середньодобові прирости у телиць 1-ї групи були на 253 г або у 1,7 разів вищими, порівняно з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$). Комплекс препаратів у 2-й групі більш достовірно збільшив масу тіла. Про це свідчить приріст маси за добу – 416 г, або у 2,1 рази ($p < 0,01$), та за 30 діб – 22,5 кг ($p < 0,01$).

Висновки. 1. Показники ефективності рафензолу за фасціольозу великої рогатої худоби на 10-ту добу після застосування становили: ЕЕ – 60 та ІЕ – 51,6 %; на 30-ту добу – 80 та 71,1 % відповідно.

2. Комплексне використання рафензолу з настоєм трави звіробою забезпечує вищий терапевтичний ефект, порівняно із застосуванням лише рафензолу. За комплексного лікування на 10-ту добу після дегельмінтизації ЕЕ становила 60, ІЕ – 56,1 %; на 30-ту добу обидва показники склали 100 %.

3. Добовий приріст маси тіла за комплексного лікування був вищим у 2,1 раза ($p < 0,01$) порівняно з контролем, тоді як за використання лише рафензолу він збільшився в 1,7 раза ($p < 0,05$).

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дахно І., Дахно Г., Кручиненко О., Березовський А. Терапевтична та економічна ефективність комбітерму на ранній стадії фасціольозної інвазії корів. *Вет. медицина України*. 2004. №8. С. 18–19.
2. Шевченко А.М. Паразитози великої рогатої худоби стійлового періоду та сучасний стан ринку препаратів в Україні. *Вет. медицина України*. 2013. №4. С. 15–18.
3. John B., Davies D., Williams D., Hodgkinson J. A review of our current understanding of parasite survival in silage and stored forages, with a focus on *Fasciola hepatica* metacercariae. *Grass Forage Sci*. 2019 Jun. P. 211–217.
4. Bovine fascioliasis in Brazil: Economic impact and forecasting / M. Molento et al. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2018. P. 1–3.

5. Bovine fascioliasis in Brazil: Economic impact and forecasting / Molento M. et al. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2018 May.

6. Bovine fasciolosis in São Paulo state, Brazil. / Mendes T. et al. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2019 Aug. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vpsr.2019.100293>.

7. Krsak M., Patel N., Poeschla E. Case Report: Hepatic Fascioliasis in a Young Afghani Woman with Severe Wheezing, High-Grade Peripheral Eosinophilia, and Liver Lesions: A Brief Literature Review. *Am J Trop Med Hyg*. 2019 Mar. P. 588–590.

8. The egg hatch test: A useful tool for albendazole resistance diagnosis in *Fasciola hepatica* / L. Ceballos et al. *Vet Parasitol*. 2019. 13 p.

9. Flukicide efficacy against *Fasciola hepatica* of Triclabendazole and Nitroxylin in cattle of the central valley of Chile / J. Romero et al. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2019. P.164–167.

10. *Fasciola hepatica* in UK horses / H. Aowell et al. *Equine Vet J*. 2019. P. 1–6.

11. May K., Brügemann K., König S., Strube C. Patent infections with *Fasciola hepatica* and paramphistomes (*Calicophoron daubneyi*) in dairy cows and association of fasciolosis with individual milk production and fertility parameters. *Vet Parasitol*. 2019. P. 32–41.

12. Villa-Mancera A., Reynoso-Palomar A. High prevalence, potential economic impact, and risk factors of *Fasciola hepatica* in dairy herds in tropical, dry and temperate climate regions in Mexico. *Acta Trop*. 2019 May. P. 169–175.

13. Humiczewska M. Same glycolytic enzymes in metacercaria of *Fasciola hepatica*. *Ac. Parasitologica: VIII Europea Multicolligum of Parasitology*. Poznan, Poland. 2000. 145 p.

14. Liver fluke (*Fasciola hepatica*) co-infection with bovine tuberculosis in cattle: A prospective herd-level assessment of herd bTB risk in dairy enterprises/ Byrne A. et al. *Transbound Emerg Dis*. 2019 Jul. P. 1727–1736.

15. Prevalence of fasciolosis in livestock and humans: A systematic review and meta-analysis in Iran. / S. Khademvatan et al. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2019. P. 116–123.

16. Barbosa R., Pinto C., Garcia P., Rodrigues A. Prevalence of fasciolosis in slaughtered dairy cattle from São Miguel Island, Azores, Portugal. 4 *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2019 Aug. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vpsr.2019.100319>.

17. A post-mortem study of bovine fasciolosis in the Mitidja (north center of Algeria): prevalence, risk factors, and comparison of diagnostic methods / Chaouadi M. et al. *Trop Anim Health Prod*. 2019 Jun.

18. Patterns of *Fasciola hepatica* infection in Danish dairy cattle: implications for on-farm control of the parasite based on different diagnostic methods/ Takeuchi-Storm N. et al. *Parasit Vectors*. 2018 Dec. Vol. 11(1). 674 p.

19. Онуфрієнко М.Э. Методы прижизненной диагностики фасциолеза крупного рогатого скота. *Тр. Всерос. ин-та гельминтологии*. Москва, 2004. Т. 40. С. 275–280.

20. Лавренів В.К., Лавренів Г.В. Полная энциклопедия лекарственных растений. Москва: Олмапресс, 1999. II том. 124 с.

REFERENCES

1. Dakhno, I., Dakhno, H., Kruchynenko, O., Berезovskyi, A. (2004). Terapevtychna ta ekonomichna efektyvnist kombitermu na rannii stadii fastsioloznoi invazii

koriv [Therapeutic and economic efficacy of combiteram in the early stages of fascia invasion of cows]. *Vet. medytyna Ukrainy* [Veterinary Medicine of Ukraine]. no. 8, pp. 18–19.

2. Shevchenko, A.M. (2013). Parazytozy velykoï rogatoï hudoby stijlovogo periodu ta suchasnyj stan rynku preparativ v Ukraini [Parasitosis of the cattle of the stall period and the current state of the drug market in Ukraine]. *Vet. medytyna Ukrainy* [Veterinary Medicine of Ukraine]. no. 4, pp. 15–18.

3. John, B., Davies, D., Williams, D., Hodgkinson, J. (2019). A review of our current understanding of parasite survival in silage and stored forages, with a focus on *Fasciola hepatica* metacercariae. *Grass Forage Sci.* pp. 211–217.

4. Molento, M., Bennema, S., Bertot, J., Pritsch, I., Arenal, A. (2018). Bovine fascioliasis in Brazil: Economic impact and forecasting. *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* pp. 1–3.

5. Molento, M., Bennema, S., Bertot, J., Pritsch, I., Arenal, A. (2018). Bovine fascioliasis in Brazil: Economic impact and forecasting. *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* pp. 1–3.

6. Mendes, T., Filho, D., Bataglioli, A., Prado, A., Madi, R., Ueta, M., Pinto, M., Allegratti, S. (2019). Bovine fascioliasis in São Paulo state, Brazil. *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* Available at: : <https://doi.org/10.1016/j.vpsr.2019.100293>.

7. Krsak, M., Patel, N., Poeschla, E. (2019). Case Report: Hepatic Fascioliasis in a Young Afghani Woman with Severe Wheezing, High-Grade Peripheral Eosinophilia, and Liver Lesions: A Brief Literature Review. *Am J Trop Med Hyg.* pp. 588–590.

8. Ceballos, L., Canton, C., Pruzzo, C., Sanabria, R. (2019). The egg hatch test: A useful tool for albendazole resistance diagnosis in *Fasciola hepatica*. *Vet Parasitol.* 13 p.

9. Romero, J., Villaguala, C., Quiroz, F., Landaeta-Aqueveque, C. (2019). Flukicide efficacy against *Fasciola hepatica* of Triclabendazole and Nitroxynil in cattle of the central valley of Chile. *Rev Bras Parasitol Vet.* pp. 164–167.

10. Aowell, H., Malalana, F., Beesley, N., Hodgkinson, J., Rhodes, H., Sekiya, M., Archer, D., Clough, H., Gilmore, P., Williams, D. (2019). *Fasciola hepatica* in UK horses. *Equine Vet J.* pp. 1–6.

11. May, K., Brügemann, K., König, S., Strube, C. (2019). Patent infections with *Fasciola hepatica* and paramphistomes (*Calicophoron daubneyi*) in dairy cows and association of fasciolosis with individual milk production and fertility parameters. *Vet Parasitol.* pp. 32–41.

12. Villa-Mancera, A., Reynoso-Palomar, A. (2019). High prevalence, potential economic impact, and risk factors of *Fasciola hepatica* in dairy herds in tropical, dry and temperate climate regions in Mexico. *Acta Trop.* pp. 169–175.

13. Humiczewska, M. (2000). Same glycolytic enzymes in metacercaria of *Fasciola hepatica*. *Ac. Parasitologica: UIII Europea Multicolligum of Parasitology.* Poznan, Poland. 145 p.

14. Byrne, A., Graham, J., McConville, J., Milne, G., Guelbenzu-Gonzalo, M., McDowell, S. (2019). Liver fluke (*Fasciola hepatica*) co-infection with bovine tuberculosis in cattle: A prospective herd-level assessment of herd bTB risk in dairy enterprises. *Transbound Emerg Dis.* pp. 1727–1736.

15. Khademvatan, S., Majidiani, H., Khalkhali, H., Taghipour, A., Asadi, N., Yousefi, E. (2019). Prevalence of fasciolosis in livestock and humans: A systematic review and meta-analysis in Iran. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* pp. 116–123.

16. Barbosa, R., Pinto, C., Garcia, P., Rodrigues, A. (2019). Miguel Island, Azores, Portugal. 4 *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* Available at: : <https://doi.org/10.1016/j.vpsr.2019.100319>.

17. Chaouadi, M., Harhoura, K., Aissi, M., Zait, H., Zenia, S., Tazerouti, F. (2019). A post-mortem study of bovine fasciolosis in the Mitidja (north center of Algeria): prevalence, risk factors, and comparison of diagnostic methods. *Trop Anim Health Prod.*

18. Takeuchi-Storm, N., Denwood, M., Petersen, H., Enemark, H., Stensgaard, A., Sengupta, M., Beesley, N., Hodgkinson, J., Williams, D., Thamsborg, S. (2018). Patterns of *Fasciola hepatica* infection in Danish dairy cattle: implications for on-farm control of the parasite based on different diagnostic methods. *Parasit Vectors.* 674 p.

19. Onufrienko, M.Je. (2004). Metody prizhiznenoj diagnostiki fascioleza krupnogo rogatogo skota [Methods for the intravital diagnosis of cattle fascioliasis]. *Tr. Vseros. in-ta gel'mintologii* [Tr. Vseros. Institute of Helminthology]. Moscow, Vol. 40, pp. 275–280.

20. Lavrenov, V.K., Lavrenov, G.V. (1999). *Polnaja jenciklopedija lekarstvennyh rastenij* [Complete encyclopedia of medicinal plants]. Moscow: Olmapress, Vol. II, 124 p.

Комплексное лечение крупного рогатого скота при фасциолезе

Авраменко Н.В., Козий Н.В., Шаганенко Р.В., Шаганенко В.С.

Одной из причин недостаточной рентабельности молочного скотоводства являются паразитарные заболевания, в частности фасциолезная инвазия. Эта болезнь способна наносить значительный экономический ущерб в виде снижения молочной продуктивности коров, уменьшения приростов живой массы молодняка, отрицательного влияния на репродукцию и обновление стада.

Сегодня рынок ветеринарных препаратов достаточно насыщен противотрематодными средствами зарубежного и отечественного производства. Однако для владельцев животных ключевой проблемой остается цена/эффективность антигельминтиков. Противопаразитарные препараты уничтожают паразита в организме больных животных, не влияя на процессы восстановления после инвазии. Однако длительное применение одних и тех же препаратов ведет к увеличению количества случаев развития резистентности фасциол к антигельминтикам.

Целью исследования является поиск и апробация новых лечебных комбинаций, обеспечивающих освобождение организма крупного рогатого скота от трематод и восстановление нарушенных физиологических функций организма.

В работе приведены результаты апробации комбинации рафензол эмульсии и настоя травы зверобоя при фасциолезе КРС в условиях молочно-товарной фермы.

Экстенс- и интенс-эффективность монотерапии рафензол эмульсией через 10 суток составила 60 %, а на 30-е сутки увеличилась до 80 %. Комплексное использование рафензол эмульсии с настоем травы зверобоя, согласно схеме, через 10 дней обеспечило 80 % экстенс- и интенс-эффективности. Через 30 суток показатель улучшился до 100 %. Трава зверобоя улучшает регенерацию поврежденных фасциолами тканей. Она способствует усвоению корма и восстановлению производительности.

Комплексное лечение крупного рогатого скота с использованием этиотропной и патогенетической терапии является высокоэффективным. Средства фитотерапии в сочетании с трематодоцидными препаратами улучшают восстановительные процессы у животных, пораженных фасциолами.

Ключевые слова: рафензол эмульсия, настой травы зверобоя, фасциолез, интенсивность и экстенсивность, экстенс-эффективность и интенс-эффективность препаратов.

Integrated treatment of cattle in fasciolosis**Avramenko N., Kozii N., Shaganenko R., Shaganenko V.**

One of the reasons for the unprofitability of dairy cattle breeding is fasciolose invasion. This disease can cause significant economic damage in the form of a decrease in the milk production of cows, a decrease in the growth of young animals and a negative impact on the reproduction and renewal of the herd.

The domestic veterinary market is saturated with a large number of various anti-trematode drugs of both foreign and domestic production, however, the price/effectiveness of anthelmintics remains a key aspect for animal owners. However, against parasitic drugs, they only destroy the parasite in the body of sick animals, without pouring in on the processes of recovery of the body after invasion. Long-term use of the same drugs, violation of the instructions for use of the latter leads to an increase in the number of reports of scientists from around the world about the increase in the number of cases of development of fasciol resistance in anthelmintics. That is why the search and testing of new therapeutic combinations that ensure the release of cattle from trematodes and helped restore disturbed physiological functions remain relevant today.

The study presents the results of testing the use of a combination of rafenzene emulsion and infusion of St. John's wort on cattle fascioliasis in the conditions of the dairy industry of the Kyiv region.

The purpose of the study was to study the therapeutic efficacy of a combination of aetiotropic and pathogenetic therapies of calves for fasciolosis - rafenzol emulsion and infusion of herbs with St. John's wort.

The young cattle of the black-bred breed, aged 12-18 months, were examined and their faeces sampled. The calves were monitored for 30 days during the experiment. They paid attention to the general condition. Heart rate, body temperature and respiratory rate were measured. Studies of individual organs and systems were performed according to conventional methods. Coprological studies were performed on the 10th and 30th day of observation. Used the method of sequential flushing faeces.

Calves, one of which was a control, was formed to study the effectiveness of antitrematodes measures. In each of them there were 5 animals, affected by fascioles, selected on the principle of analogues. The calves of the first group were administered rafenzol emulsion at a dose of 0.75 ml of the preparation per 10 kg of body weight inside once, the animals of group 2 used the drug similar to the first group. Previously they were fed with infusion of herbs St. John's wort. The control group was not treated. The results of the study indicate that the young is large affected with fascioles and the average invasion intensity is 48% and the intensity is 17 copies of eggs, respectively. Complex use of rafenzol emulsion with infusion of herbs with St. John's wort, according to the scheme, after 80 days revealed 80% of the extent and intensity. After 30 days, the indicator improved to 100%. Extensibility and intensification of one rafenzol emulsion, after 10 days was 40%, for 30 days the efficiency increased to 80%. St. John's wort improves the regeneration of tissue-damaged fasciolosis. It contributes to the absorption of feed and restore productivity. Therefore, treatment and prevention of fasciolosis in the farm is best done comprehensively.

Key words: rafenzene emulsion, st. John's wort herb infusion, fasciolosis, disease intensity and intensity, efficacy and drug intensity.



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



Авраменко Н.В.

ID <https://orcid.org/0000-0003-2200-1322>

Козій Н.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-0141-4390>

Шаганенко Р.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-5848-1367>

Шаганенко В.С.

ID <https://orcid.org/0000-0003-3484-2962>

ПАРАЗИТАРНІ ХВОРОБИ

УДК 619:616.995:636.92

Неспецифічна резистентність організму кролів за впливу збудника пасалурозу

Дуда Ю.В. 

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

 E-mail: dudajulia1976@gmail.com

Дуда Ю.В. Неспецифічна резистентність організму кролів за впливу збудника пасалурозу. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 53–59.

Duda Ju.V. Nespecyficzna rezystentność organizmu króliw za wpływu zbudnika pasalurozu. Naukowyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 53–59.

Рукопис отримано: 09.10.2019р.
Прийнято: 03.11.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-53-59

Вивчення особливостей імунітету є запорукою ефективної профілактики та лікування хворих тварин. Імунітет за гельмінтозів має ряд особливостей, які зумовлені взаємовідносинами в системі паразит-хазяїн. З багатьох видів гельмінтів кролів кількісно домінуючим є пасалуроз.

Метою дослідження було вивчити вплив збудника *Passalurus ambiguus* на показники неспецифічної резистентності організму кролів. Сформовано за принципом аналогів групи кролів-самців 3–5-місячного віку. Інтенсивність інвазії досліджували за методом Мак-Мастера. Кролі, хворі на пасалуроз, мали різні рівні інтенсивності інвазії (II): низький ($II=276,47\pm 43,33$ яєць в 1 г фекалій) – I дослідна, середній ($II=1293,75\pm 275,80$ яєць в 1 г фекалій) – II дослідна та високий рівень II ($II=2446,67\pm 422,11$ яєць в 1 г фекалій) – III дослідна групи. У фекаліях тварин контрольної групи яєць гельмінтів не виявляли.

Встановлено, що у клінічно хворих кролів за високої II, фагоцитарна активність нейтрофілів нижча на 9,71 % ($p<0,01$), ніж у здорових. При цьому фагоцитарне число у цих тварин вірогідно нижче на 14,08 % ($p<0,01$), порівняно з контролем. Низькі бактерицидну активність сироватки крові на 5,45 % ($p<0,05$), 8,00 % ($p<0,01$), 14,49 % ($p<0,001$) та лізоцимну активність сироватки крові на 4,15 % ($p<0,001$), 5,22 % ($p<0,001$), 7,04 % ($p<0,001$) спостерігали у кролів відповідно I, II, III груп. Зменшення даних показників у хворих тварин може бути зумовлено послабленням чинників неспецифічної природної резистентності організму.

Аналізуючи рівень циркулюючих імунних комплексів, виявили високі рівні середніх і дрібних циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у клінічно хворих кролів з низькою, середньою та високою II відповідно в 2,23 раза ($p<0,001$), 2,37 ($p<0,001$), 2,74 раза ($p<0,001$) і в 1,95 раза ($p<0,01$), 2,09 ($p<0,001$) і 2,22 раза ($p<0,001$), проти аналогічних показників у контрольних тварин. Це зростання рівня ЦІК у хворих вказувало на розвиток синдрому імунотоксикозу, ступінь вираженості якого корелював з рівнем II захворювання.

Ключові слова: фагоцитарна активність, лізоцимна активність, бактерицидна активність, ЦІК, пасалуроз, *Passalurus ambiguus*.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Пасалуроз є кількісно домінуючим гельмінтозом кролів на земній кулі [1–7]. У великих та дрібних кролівничих господарствах України пасалурозна інвазія є однією з найпоширеніших. На деяких фермах 40–90 % кролів уражені збудником *Passalurus ambiguus* [8–10] з інтенсивністю інвазії від декількох гельмінтів до понад ста тисяч гостриків [8].

Продукти життєдіяльності гельмінтів, а також змінені в процесі патогенезу клітини

хазяїна стають потужним імунним стимулом [11]. При цьому активуються як клітинні [12], так і гуморальні механізми специфічного (В- і Т-системи) і неспецифічного (комплемент, фагоцитоз і т.п.) імунітету, які спрямовані на елімінацію паразитів [13, 14]. Серед чинників неспецифічного захисту організму тварин циркулюючі імунні комплекси займають одну з ключових позицій – вони здатні впливати на функцію лімфоцитів, макрофагів і беруть участь у регуляції імунної відповіді.

У нормі імунні комплекси піддаються фагоцитозу, який посилюється за наявності системи комплементу [15]. Вони стають патогенними, якщо не можуть бути еліміновані з організму, зв'язуються з клітинами і акумулюються в тканинах, призводять до незворотних деструктивних змін [16]. Високу бактерицидну активність сироватки крові пов'язують з активністю комплементу, що має цитолітичну властивість стосовно мікроорганізмів [15]. Нейтрофіли є першою лінією захисту у системі природного імунітету. Вони швидко відповідають на хемотаксичний стимул, фагоцитують і руйнують чужорідні агенти, активуються цитокінами і є основною популяцією клітин за гострого запалення [17]. Перераховані вище показники неспецифічної резистентності тварин мають вагоме значення в розкритті патогенезу пасалурозної інвазії. Тому питання впливу збудника *Passalurus ambiguus* з різним рівнем інтенсивності інвазії на показники неспецифічної резистентності організму кролів є актуальним.

Метою дослідження було вивчити вплив збудника *Passalurus ambiguus* на показники неспецифічної резистентності організму кролів.

Матеріал і методи дослідження. Роботу проводили впродовж 2015–2018 рр. Експериментальну частину виконано в ТОВ «Олбест» Дніпропетровської області та ТОВ «Кроликофф Плюс» Черкаської області, де використовують кліткове утримання тварин. Лабораторні дослідження проводили в науковій лабораторії кафедри паразитології та ветсанекспертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету (паразитологічні дослідження) та у випробувальному центрі Запорізької обласної державної лабораторії Державної служби безпеки харчових продуктів і захисту споживачів, який акредитований відповідно до вимог ISO/IE 17025:2006, свідоцтво про акредитацію № 2Н305 Національного агентства з акредитації України (імунологічні дослідження з використанням паспортних штамів).

Для дослідів було відібрано аналогові групи кролів-самців 3–5-місячного віку каліфорнійської породи. З метою визначення рівня ураженості кролів збудником *Passalurus ambiguus* їх фекалії досліджували за методом Мак-Мастера [18]. Тварин поділили на дві групи: контрольну (здорові неінвазовані тварини) та дослідну (хворі на пасалуроз тварини).

Встановлено, що хворі кролі мали різний рівень інтенсивності інвазії (II). Це в подальшому дало змогу за рівнем II розділити дослідних тварин на три групи: з низь-

ким ($II=276,47\pm 43,33$ яєць в 1 г фекалій) – I дослідна ($n=17$), середнім ($II=1293,75\pm 275,80$ яєць в 1 г фекалій) – II дослідна ($n=32$) та високим рівнем II ($II=2446,67\pm 422,11$ яєць в 1 г фекалій) – III дослідна групи ($n=15$). У фекаліях тварин контрольної групи ($n=31$) яєць гельмінтів не виявляли.

Визначення фагоцитарної активності нейтрофілів [19] здійснювали з додаванням стандартизованого до 2 млрд/мл завису добової культури *E. coli* 055K59 №3912/41. У кожному мазку підраховували 100 нейтрофілів. При цьому визначали фагоцитарну активність за кількістю активних лейкоцитів з 100 підрахованих (%), фагоцитарний індекс (ФІ) – за кількістю фагоцитованих мікробних тіл, що припадає на один активний нейтрофіл і характеризує поглинаючу здатність фагоцитів, фагоцитарне число (ФЧ) – кількість фагоцитованих мікробних тіл на 100 підрахованих нейтрофілів.

Бактерицидну активність сироватки крові (БАСК) визначали методом Смірнкової О.В. та Кузьміної Т.А. [20] із використанням мікробної тест-культури *E. coli* 055K59 № 3912/41.

Лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК) визначали нефелометричним методом за Дорофєйчуком В.Г. [21] за мікробної тест-культури *Micrococcus luteus* ATCC9341.

Визначення рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) проводили методом диференційованої преципітації в 3,5 та 7,0 % розчині поліетиленгліколю з молекулярною масою 6000 дальтон в боратному буфері [18].

Статистичну обробку експериментальних результатів для визначення біометричних показників (середні значення та їх похибки, порівняння середніх значень за критерієм Стюдента) здійснювали з використанням програми Microsoft Excel-16.

Результати дослідження. За результатами проведених досліджень встановлено, що збудник *Passalurus ambiguus* з різним рівнем інтенсивності інвазії впливає на показники неспецифічної резистентності організму кролів. Як видно із даних, наведених в таблиці 1, між здоровими та хворими тваринами III групи виявлені статистично вірогідні відмінності ($p<0,01$) показників фагоцитарної активності нейтрофілів і фагоцитарного числа (ФЧ).

Досліджуючи відсоток клітин, які беруть участь у поглинанні, встановлено, що його значення у III дослідній групі нижчі, ніж у контролі на 9,71 % ($p<0,01$). Водночас фагоцитарний індекс виявляв тенденцію до підвищення рівня у крові тварин цієї групи, але різниця була недостовірною, порівняно з контро-

Таблиця 1 – Показники фагоцитарної активності нейтрофілів за впливу збудника *Passalurus ambiguus* (M ± m)

Група тварин		Фагоцитарна активність, %	ФІ, (од.)	ФЧ, (од.)
Здорові (контроль) n=31		47,71±1,76	8,42±0,44	3,89±0,10
Хворі (дослід)	I (n=17)	41,75±2,17	7,59±1,00	3,54±0,18
	II (n=32)	43,33±2,49	8,22±0,57	3,44±0,14*
	III (n=15)	38,00±2,53**	9,30±0,67	3,41±0,12**

Примітка: *p<0,05; **p<0,01 порівняно із здоровими тваринами.

лем. Досліджуючи середню кількість фагоцитованих мікробних клітин, що припадають на один фагоцитоз (ФЧ), у хворих тварин II та III груп спостерігали вірогідно нижче значення на 13,08 % (p<0,05) та 14,08 % (p<0,01) відповідно, порівняно з клінічно здоровими.

Низька БАСК проти контролю на 5,45 % (p<0,05), 8,00 % (p<0,01) і 14,49 % (p<0,001) у кролів, хворих на пасалуроз з низькою, середньою та високою II відповідно, свідчить про послаблення чинників неспецифічної природної резистентності організму тварин (рис. 1).

За паразитування *Passalurus ambiguus* в організмі кролів ЛАСК була достовірно (p<0,001) меншою у всіх групах на 4,15; 5,22 та 7,04 %, ніж у здорових тварин.

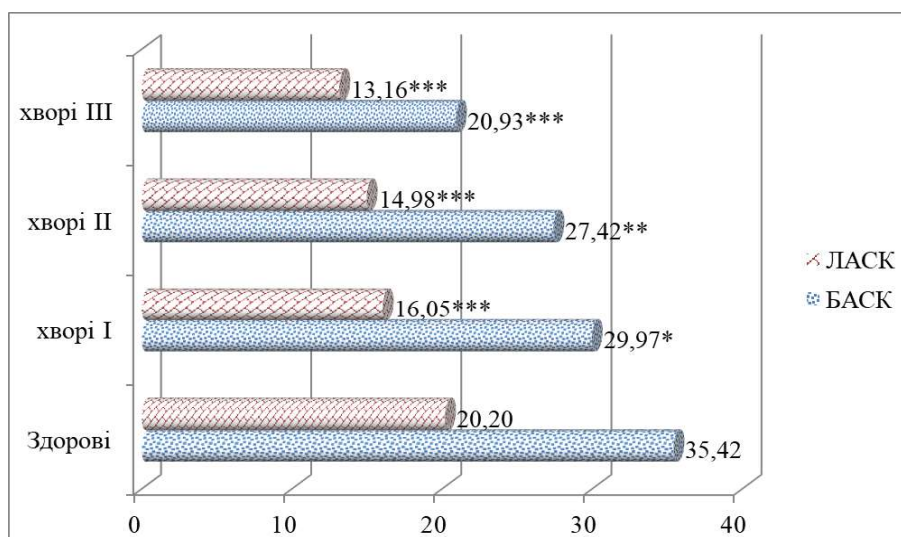
Рівень дрібних та середніх ЦІК суттєво різнився у хворих тварин, порівняно зі здоровими (рис. 2).

Найбільш патогенний потенціал мають ЦІК середніх розмірів, які утворюються за

незначного надлишку антигену, здатні активувати комплемент, при цьому не фагоцитуються, повільно елімінуються. Аналізуючи отримані показники ЦІК, встановили вірогідно (p<0,001) високі рівні середніх ЦІК в 2,23, 2,37 та 2,74 рази відповідно зі зростаючою II у всіх дослідних групах проти контролю.

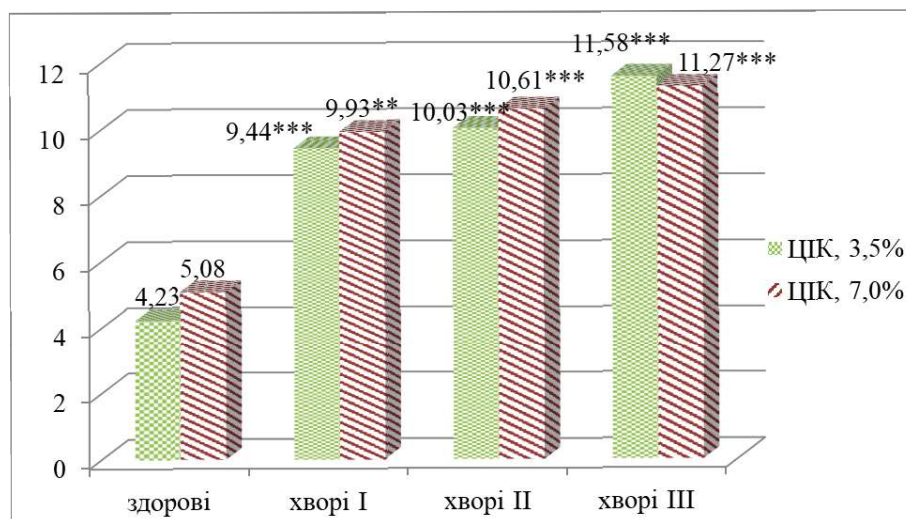
ЦІК, що утворились за надлишку антигену, мають малий розмір, при цьому не активують комплемент і не спричиняють запальний процес. Дрібні ЦІК за впливу збудника *Passalurus ambiguus* були теж достовірно високими в 1,95 рази (p<0,01), 2,09 (p<0,001) та 2,22 рази (p<0,001), відповідно у тварин I, II та III груп, ніж у контролі.

Обговорення. Фагоцитоз є головним механізмом неспецифічного імунітету, а також обов'язковою ланкою індукції і формування специфічної імунної відповіді [18]. Зниження фагоцитарної активності нейтрофілів, а також ФЧ у хворих на пасалуроз кролів свідчить, що



Примітка: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 порівняно із здоровими тваринами

Рис. 1. БАСК та ЛАСК за впливу збудника *Passalurus ambiguus* з різним рівнем інтенсивності інвазії, %.



Примітка: *** $p < 0,001$, порівняно із здоровими тваринами

Рис. 2. Рівень циркулюючих імунних комплексів у кролів за впливу збудника *Passalurus ambiguus* з різною інтенсивністю інвазії, ум.од.

за цієї патології спостерігається перевищення «порога ємності» фагоцитуючої системи [21], внаслідок чого поглиблюються деструктивні явища в органах травної системи за впливу збудника *Passalurus ambiguus* з високим рівнем інтенсивності інвазії.

Відомо [15], що рівень БАСК є одним з важливих показників резистентності і як гуморальний чинник захисту організму характеризує здатність крові до знешкодження бактерій. БАСК пов'язана з наявністю в сироватці неспецифічних захисних компонентів: нормальних антитіл, лізоциму, комплементу, пропердину, інтерферону та інших чинників. Низька БАСК у кролів, хворих на пасалуроз, з різною ІІ свідчить про послаблення чинників неспецифічної природної резистентності організму.

ЛАСК також є важливим показником неспецифічної резистентності організму. Лізоцим секретується гранулоцитами і макрофагами, здатний розчиняти оболонки бактеріальних клітин і зумовлювати мобілізацію бета-лізину та комплементу [22]. За паразитування *Passalurus ambiguus* в організмі кролів ЛАСК була достовірно меншою у всіх групах, що може вказувати на супресію захисних реакцій, їх дисбаланс [23].

Для оцінювання стану гуморальної ланки імунної системи визначали рівень ЦІК у сироватці крові. Утворення та наявність ЦІК у рідинах є одним з проявів імунної відповіді організму на надходження антигенів та важливим чинником, що забезпечує імунітет [14, 24]. Високі рівні середніх ЦІК, які позитивно корелювали з ІІ у всіх дослідних групах, свідчать,

що навіть за низького рівня інтенсивності пасалурозної інвазії будуть виникати запальні процеси, оскільки середньомолекулярна фракція може проходити через судинну стінку і відкладатися у тканинах, спричинюючи запалення. Отже, зростання рівня ЦІК у хворих тварин вказувало на розвиток синдрому імунотоксикозу, ступінь вираженості якого корелював з рівнем ІІ.

Висновки. 1. Виявлено, що у клінічно хворих на пасалуроз кролів за високої ІІ, фагоцитарна активність нижча на 9,71 % ($p < 0,01$), ніж у здорових, при цьому ФЧ у цих кролів вірогідно нижче на 14,08 % ($p < 0,01$), порівняно до контролю. Встановлено нижчі за контроль: БАСК на 5,45 % ($p < 0,05$), 8,00 % ($p < 0,01$), 14,49 % ($p < 0,001$) та ЛАСК на 4,15 % ($p < 0,001$), 5,22 % ($p < 0,001$), 7,04 % ($p < 0,001$) відповідно у І, ІІ, ІІІ групах. Зменшення цих показників у хворих тварин може бути зумовлено послабленням чинників неспецифічної природної резистентності організму.

2. Встановлено високі рівні середніх та дрібних ЦІК у клінічно хворих кролів з низькою, середньою та високою ІІ відповідно в 2,23 ($p < 0,001$), 2,37 ($p < 0,001$), 2,74 рази ($p < 0,001$) та в 1,95 ($p < 0,01$), 2,09 ($p < 0,001$), 2,22 рази ($p < 0,001$), проти аналогічних показників у контрольних тварин. Це зростання рівня ЦІК у хворих вказувало на розвиток синдрому імунотоксикозу, ступінь вираженості якого корелював з рівнем ІІ.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Під час роботи з тваринами дотримувалися вимог Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовують-

ся для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18.03.1986 р.), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених на Першому національному конгресі з біоетики (м. Київ, 20.09.2001 р.), статті 26 Закону України № 5456-VI від 16.10.2012 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Директиви ЄС 86/609/ЄС від 24.11.1986 р.

Відомості про конфлікт інтересів. Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні впливу збудника *Passalurus ambiguus* з різним рівнем інтенсивності інвазії на показники клітинного та гуморального імунітету кролів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Boag B. Helminth parasites from the wild rabbit *Orycto-laguscuniculus* (L). *Journal of Helminthology*. 1985. Vol. 58. P. 61–69.
2. Sonon T. Enquetesur Pelevage du lapin dans la province du Mono. Memoire pour obtention du DETS, C.P.U., Abomey-calavi (Benin). 1986. P. 123–128.
3. Sequence variability in four mitochondrial genes among rabbit pinworm (*Passalurus ambiguus*) isolates from different localities in China / L. Sheng et al. *Mitochondrial DNA*. 2014. Vol. 26(4). P. 501–504. Doi: <https://doi.org/10.3109/19401736.2013.855898>
4. Pathomorphological changes in the large intestine of rabbits parasitised by *Passalurus ambiguus* (Nematoda, Oxyuridae) / S.M. Mykhailiutenko et al. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2019. Vol. 10. №1. P. 69–74. Doi: <https://doi.org/10.15421/021911>
5. Дуда Ю.В., Кунєва Л. В., Христян О. В. Показники білкового обміну кролів за пасалурозної інвазії. Науково-технічний бюлетень Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК. 2017. Т. 5. № 1. С. 93–96.
6. The complete mitochondrial genome of rabbit pinworm *Passalurus ambiguus*: genome characterization and phylogenetic analysis / G.H. Liu et al. *Parasitology Research*. 2015. Vol. 115(1). P. 423–429. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4778-3>
7. Prevalence, Morphological and Molecular Phylogenetic Analyses of the Rabbit Pinworm, *Passalurus ambiguus* Rudolphi 1819, in the Domestic Rabbits *Oryctolaguscuniculus* / R. Abdel-Gaber et al. *Acta Parasitologica*. 2019. Vol. 64(2). P. 316–330. Doi: <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00047-7>
8. Дубницький А.А. Пассалуроз. Болезни кроликов. Москва: Колос, 1974. С. 184–190.
9. Флоріан Д. Д. Пассалуроз кроликов в условиях Московской области (биология возбудителя, эпизоотология и меры борьбы): автореф. дис. ... канд. вет. наук. Москва, 1997. 22 с.
10. Корнієнко Л.Є., Домбровський О.Б., Пономар С.І., Антипов А.А. Інфекційні та інвазійні хвороби кролів. Біла Церква, 2003. 288 с.
11. Гришина Е.А., Довгалева А.С. Некоторые механизмы вторичной иммуносупрессии в процессе хронизации геогельминтозов. Российский паразитологический журнал. 2016. №2(36). С. 202–209.
12. Дуда Ю.В. Клітинний імунітет кролів за впливу *Трепонема cuniculi*. Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин НААН. 2019. Випуск 20. № 2. С. 223–229. Doi: <https://doi.org/10.36359/scivp.2019-20-2.28>
13. Гришина Е.А. Антигены и метаболиты гельминтов как регулирующие факторы противопаразитарного иммунитета. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2016. №2. С. 58–63.
14. Дуда Ю.В. Неспецифична реактивність організму кролів за впливу цистицеркозної інвазії. Науковий вісник ЛНУВМ та БТ імені С. З. Гжицького. 2019. Т. 21. № 94. С. 132–135. Doi: <https://doi.org/10.32718/nvlvet9424>
15. Брода Н. А., Віщур О. І., Рацький М. І., Лешовська Н. М., Крушельницька З. І. Природна резистентність організму корів та їх телят за дії препарату "Оліговіт". Біологія тварин. 2011. Т. 13. № 1–2. С. 397–401.
16. Татарчук Л.В. Особливості місцевих імунних реакцій у порожній кишці при пострезекційній портальній гіпертензії. Шпитальна Хірургія. Журнал Імені Л. Я. Ковальчука. 2018. № 2. С. 38–42. Doi: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2018.2.9201>
17. Лазарева Ю.Б., Филиппова А.В., Романова Л.М., Гришина Е.А. Актуальные проблемы подавления иммунитета при гельминтозах. Фундаментальные науки и практика. Сборник научных трудов. 2010. Вып. 2. С. 70–71.
18. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine) / I.B. Wood et al. *Vet Parasitol*. 1995. № 58. P. 181–213. Doi: [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00806-2](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00806-2)
19. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В. В. Влізла та ін.; за ред. В. В. Влізла. Львів: Сполом, 2012. 764 с.
20. Смирнова О.В., Кузьмина Т.А. Определение бактерицидной активности сыворотки крови методом фотонейлометрии. ЖМЭИ. 1966. № 4. С. 8–11.
21. Дорофейчук В.Г. Лизоцимная активность сыворотки крови. Лабораторное дело. 1968. № 1. С. 28–34.
22. Шутурма О.Я., Лісничук Н.Є., Довгалева А. І. Цік та їх роль у виникненні поєднаних патологій органів травної системи. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2013. №2. С. 223–225.
23. Shimazaki Y., Takahashi A. Antibacterial activity of lysozyme-binding proteins from chicken egg white. *Journal of Microbiological Methods*. 2018. Vol. 154. P. 19–24. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.10.001>
24. Lysozyme activity on contact lenses and the impact of denatured lysozyme on human corneal epithelial cells / Subbaraman L. et al. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2018. Vol. 41. P. 20–S21. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.clae.2018.04.145>
25. Dumych T., Paryzhak S., Bilyy R. Involvement of neutrophil hydrolytic enzymes in the modification of circulating immune complexes under the circumstances of experimental sepsis. *Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences*. 2019. Vol. 55(1). P. 31–39. Doi: <https://doi.org/10.25040/ntsh2019.01.03>

REFERENCES

1. Boag, B. (1985). Helminth parasites from the wild rabbit *Oryctolagus cuniculus* (L.). *Journal of Helminthology*. Vol. 58, pp. 61–69.
2. Sonon, T. (1986). Enquêtes sur Pelevage du lapin dans la province du Mono. *Memoire pour obtention du DETS, C.P.U., Abomey-calavi (Benin)*. pp. 123–128.
3. Sheng, L., Cui, P., Fang, S.-F., Lin, R.-Q., Zou, F.-C., & Zhu, X.-Q. (2014). Sequence variability in four mitochondrial genes among rabbit pinworm (*Passalurus ambiguus*) isolates from different localities in China. *Mitochondrial DNA*. 2014. Vol. 26(4). P. 501–504. Available at: <https://doi.org/10.3109/19401736.2013.855898>
4. Mykhailiutenko, S.M., Kruchynenko, O.V., Klymenko, O.S., Serdiucov, J.K., Dmytrenko, N.I., & Tkachenko, V.V. (2019). Pathomorphological changes in the large intestine of rabbits parasitised by *Passalurus ambiguus* (Nematoda, Oxyuridae). *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. Vol. 10, no. 1, pp. 69–74. Available at: <https://doi.org/10.15421/021911>
5. Duda, Y. V., Kuneva, L.V., & Khrystyan, O.V. (2017). Pokaznyky bilkovogo obminu kroliv za pasaluroznoi i'nvazii' [Indicators of protein metabolism of rabbits during pasalurosis invasion]. *Naukovo-tehnichnyj bjulleten' Naukovo-doslidnogo centru biobezpeky ta ekologichnogo kontrolju resursiv APK* [Science and Technology Bulletin of the APC Biosafety Research and Environmental Control Center]. Vol. 5, no. 1, pp. 93–96.
6. Liu, G.H., Li, S., Zou, F.C., Wang, C.R., Zhu, X.Q. (2015). The complete mitochondrial genome of rabbit pinworm *Passalurus ambiguus*: genome characterization and phylogenetic analysis. *Parasitology Research*. Vol. 115(1), pp. 423–429. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4778-3>
7. Abdel-Gaber, R., Ataya, F., Fouad, D., Daoud, M., & Alzuhairy, S. (2019). Prevalence, Morphological and Molecular Phylogenetic Analyses of the Rabbit Pinworm, *Passalurus ambiguus* Rudolphi 1819, in the Domestic Rabbits *Oryctolagus cuniculus*. *Acta Parasitologica*. Vol. 64(2), pp. 316–330. Available at: <https://doi.org/10.2478/s11686-019-00047-7>
8. Dubnitsky, A.A. (1974). *Passaluroz* [Passalurosis]. *Bolezni krolikov* [Diseases of rabbits]. Moscow: Colossus, pp. 184–190.
9. Florian, D.D. (1997). *Passaluroz krolikov v uslovijah Moskovskoj oblasti (biologija vzbuditelja, jepizootologija i mery bor'by): avtoref. dis. ... kand. vet. nauk.* [Passalurosis of rabbits in the Moscow region (pathology biology, epizootology and control measures): abstract of a dissertation of a candidate of veterinary sciences]. Moscow, 22 p.
10. Kornienko, L.E., Dombrovsky, O.B., Ponomar, S.I., Antipov, A.A. (2003). Infekcijni ta invazijni hovoroby kroliv [Infectious and invasive diseases of rabbits]. *BilaTserkva*, 288 p.
11. Grishina, E.A., Dovgalev, A.S. (2016). Nekotorye mehanizmy vtorichnoj immunosupressii v processe hronizacii geogel'mintozov [Some mechanisms of secondary immunosuppression in the process of chronic geohelminthiasis]. *Rossijskij parazitologicheskij zhurnal* [Russian parasitological journal]. no. 2(36), pp. 202–209.
12. Duda, Y.V. (2019) Klitynnij imunitet kroliv za vplyvu *Treponema cuniculi* [Cellular immunity of rabbits by *Treponema cuniculi*]. *Naukovotekhnichnyj bjulleten' DNDKI veterynarnykh preparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biologii tvaryn NAAN* [Scientific and Technical Bulletin of the State Scientific Research Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives and the Institute of Animal Biology of NAAS]. Issue 20, no. 2, pp. 223–229. Available at: <https://doi.org/10.36359/scivp.2019-20-2.28>
13. Grishina, E.A. (2016). Antygeny i metabolity gel'mintov kak regulirujushhie faktory protivoparazitarnogo immuniteta [Helminth antigens and metabolites as regulatory factors of antiparasitic immunity]. *Jepidemiologija i infekcionnye bolezni* [Epidemiology and infectious diseases]. Aktual'nye voprosy [Actual issues]. no. 2, pp. 58–63.
14. Duda, Y.V. (2019). Nespecyficchna reaktyvnist' organizmu kroliv za vplyvu cystycerkoznoi i'nvazii' [Nonspecific reactivity of the rabbit organism under the influence of cysticercosis invasion]. *Naukovyj visnyk LNUVM ta BT imeni S. Z. G'zhyc'kogo*. [Scientific Bulletin of the LNUVM and BT named after S. Z. Zhytskyi]. Vol. 21(94), pp. 132–135. Available at: <https://doi.org/10.32718/nvvet9424>
15. Boroda, N.A., Vishchur, O.I., Ratskyi, M.I. (2011). Pryrodna rezystentnist' organizmu kroliv ta i'h teljat za dii' preparatu "Oligovit" [The natural resistance of the body of cows and their calves under the action of the drug "Oligovit"]. *Bioloheia tvaryn* [Animal biology]. Vol. 13(1–2), pp. 397–401.
16. Tatarchuk, L.V. (2018). Osoblyvosti miscevyh imunnyh reakcij u porozhnyj kysheci pry postrezekciynij portal'nij gipertenzii' [Features of local immune responses in the empty gut in postresection portal hypertension]. *Shpytal'na Hirurgija* [Hospital Surgery]. *Zhurnal Imeni L. Ja. Koval'chuka* [The name of L.Y. Kovalchuk]. no. (2). Available at: <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2018.2.9201>
17. Lazareva, Y.B., Filippova, A.V., Romanova, L.M., Grishina, E.A. (2010). Aktual'nye problemy podavleniya ymmuniteta pry gel'mintozah [Actual problems of suppression of immunity in helminthiasis]. *Fundamental'nye nauky y praktyka* [Fundamental sciences and practice]. *Sbornyk nauchnyh trudov* [Collection of scientific papers]. Issue 2, pp. 70–71.
18. Wood, I.B., Amaral, N.K., Bairden, K. (1995). *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine)*. *Vet Parasitol.* no. 58, pp. 181–213. Available at: [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00806-2](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00806-2)
19. Vlizlo, V.V., Fedorchuk, R.S., Ratych, I.B. (2012). *Laboratorni metody doslidzhen' u biologii, tvarynnycvti ta veterynarnij medycyni* [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine]. Lviv: Spolom, 764 p.
20. Smirnova, O.V., Kuzmina, T.A. (1966). *Opreddenye bakterycydney aktivnosti syvorotky krovj metodom fotonefelometry* [Determination of bactericidal activity of blood serum by photonephelometry]. *ZhMJEI [LMIC]*. no. 4, pp. 8–11.
21. Dorofejchuk, V.G. (1968). *Lizocimnaja aktivnost' syvorotki krovj* [Lysozyme activity of blood serum]. *Laboratornoe delo* [Laboratory work]. no. 1, pp. 28–34.
22. Shuturma, O.J., Lisnichuk, N.E., Dovgaljuk, A. I. (2013). *CIK ta i'h rol' u vynykenni pojednanyh patologij organiv travnoi' systemy* [The CEC and their role in the emergence of joint pathologies of the digestive system]. *Zdobutky klinichnoi' i eksperymetal'noi' medycyny* [Achievements of clinical and experimental medicine]. no. 2, pp. 223–225.

23. Shimazaki, Y., Takahashi, A. (2018). Antibacterial activity of lysozyme-binding proteins from chicken egg white. *Journal of Microbiological Methods*. Vol. 154. pp. 19–24. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.10.001>

24. Subbaraman, L., McCanna, D., Oh, S., Ng, A., Coles-Brennan, C., Fadli, Z., Jones, L. (2018). Lysozyme activity on contact lenses and the impact of denatured lysozyme on human corneal epithelial cells. *Contact Lens and Anterior Eye*. Vol. 41. P. 20–S21. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clae.2018.04.145>

25. Dumych, T., Paryzhak, S., Bilyy, R. (2019). Involvement of neutrophil hydrolytic enzymes in the modification of circulating immune complexes under the circumstances of experimental sepsis. *Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences*. Vol. 55(1), pp. 31–39. Available at: <https://doi.org/10.25040/ntsh2019.01.03>

Неспецифическая резистентность организма кроликов под влиянием возбудителя пассалуроза

Дуда Ю.В.

Изучение особенностей иммунитета является залогом эффективной профилактики и лечения больных животных. Иммунитет за гельминтозов имеет ряд особенностей, которые обусловлены взаимоотношениями в системе паразит-хозяин. Из многих видов гельминтов кроликов количественно доминирующим является пассалуроз.

Целью работы было определение влияния возбудителя *Passalurus ambiguus* на показатели неспецифической резистентности организма кроликов. Для опытов были отобраны аналоговые группы кроликов-самцов 3–5-месячного возраста. Интенсивность инвазии определяли методом Мак-Мастера. Кролики, больные пассалурозом, имели разный уровень интенсивности инвазии (ИИ): низкий (ИИ = 276,47±43,33 яиц в 1 г фекалий) – I, средний (ИИ = 1293,75±275,80 яиц в 1 г фекалий) – II и высокий уровень ИИ (ИИ = 2446,67±422,11 яиц в 1 г фекалий) – III исследовательская группа. В фекалиях животных контрольной группы яиц гельминтов не выявляли.

Установлено, что у клинически больных кроликов при высокой ИИ, фагоцитарная активность была ниже на 9,71 % ($p<0,01$), чем у здоровых. При этом фагоцитарное число (ФЧ) у этих животных достоверно ниже на 14,08 % ($p<0,01$), по сравнению с контролем. Низкие БАСК на 5,45 % ($p<0,05$), 8,00 % ($p<0,01$), 14,49 % ($p<0,001$) и ЛАСК на 4,15 % ($p<0,001$), 5,22 % ($p<0,001$), 7,04 % ($p<0,001$) наблюдали у кроликов, больных пассалурозом, в зависимости от ИИ (соответственно I, II, III групп). Уменьшение данных показателей у больных животных может быть обусловлено ослаблением неспецифических факторов естественной резистентности организма.

Анализируя уровень ЦИК, выявили высокие уровни средних и мелких ЦИК у клинически больных кроликов с низкой, средней и высокой ИИ соответственно в 2,23 раза

($p<0,001$), 2,37 ($p<0,001$), 2,74 раза ($p<0,001$) и в 1,95 раза ($p<0,01$), 2,09 ($p<0,001$) и 2,22 раза ($p<0,001$), против аналогичных показателей у контрольных животных. Этот рост уровня ЦИК у больных указывал на развитие синдрома иммунотоксикоза, степень выраженности которого коррелировал с уровнем ИИ.

Ключевые слова: фагоцитарная активность, лизоцимная активность, бактерицидная активность, ЦИК, пассалуроз, *Passalurus ambiguus*.

Nonspecific resistance of the rabbits organism in case of passalurosis

Duda Y.

Researching the characteristics of immunity is the best way for effective prevent and treat the diseases. Helminthiasis immunity has a number of features that are caused by relationships in the host-parasite system. Passalurosis is quantitatively dominant among many types of rabbit helminths on the globe.

The goal of the work was to determine the influence of *Passalurus ambiguus* on indicators nonspecific resistance of the rabbits organism.

Analog groups of male rabbits of 3-5 months old were selected for the experiments. Intensity of invasion was determined by the method of the Mac-Master. Rabbits with passalurosis had different levels of invasion intensity (II): low (II = 276.47 ± 43.33 eggs in 1 g of feces) – I, medium (II = 1293.75 ± 275.80 eggs in 1 g of feces) – II and high (II = 2446.67 ± 422.11 eggs in 1 g of feces) – III research groups. We did not find helminth's eggs in the control group.

It was found that in blood of sick animals with high II phagocytic activity is lower than in blood of healthy ones by 9.71% ($p<0.01$). A low indicator of phagocytic activity shows depressed phagocytosis in the organism of animals suffering from passalurosis of rabbits. In these rabbits, the phagocytic number was probably lower by 14.08% ($p<0.01$) compared to the control. Low levels of BASK and LASK were observed in infected animals by 5.45% ($p<0.05$), 8.00% ($p<0.01$), 14.49% ($p<0.001$) and 4.15% ($p<0.001$), 5.22% ($p<0.001$), 7.04% ($p<0.001$), respectively, in animals I, II and III groups than in the control. The decrease in the indicators in sick animals indicates a weakening of the factors of non specific natural resistance of the organism.

Analyzing the level of circulating immune complexes, we found a high level of medium and small CIC in clinically ill rabbits with low, medium and high II, respectively, 2.23 times ($p<0.001$), 2.37 times ($p<0.001$), 2.74 times ($p<0.001$) and 1.95 times ($p<0.01$), 2.09 times ($p<0.001$) and 2.22 times ($p<0.001$), against the control. An increase in the level of CIC indicated the development of immunotoxicosis syndrome, the severity of which correlated with the level of II of the disease.

Key words: phagocytic activity, bactericidal activity, lysozyme activity, Circulating immune complexes, passalurosis, *Passalurus ambiguus*.



Copyright: © Duda Y. 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.



Дуда Ю.В.

ID <https://orcid.org/0000-0003-0892-0402>

ПАРАЗИТАРНІ ХВОРОБИ

УДК 574.5/.6(477.7)

Вплив деяких біотичних та абіотичних чинників на стан паразитофауни гідробіонтів природних водойм Півдня України

Гончаров С.Л. 

Національний університет біоресурсів і природокористування України

 E-mail: sergeyvet85@ukr.net



Гончаров С.Л. Вплив деяких біотичних та абіотичних чинників на стан паразитофауни гідробіонтів природних водойм Півдня України. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 60–70.

Goncharov S.L. Vplyv dejakyh biotychnyh ta abiotychnyh chynnykiv na stan parazytofauny gidrobiontiv pryrodnyh vodojm Pivdnja Ukraïny. Naukovyj visnyk veterynarnoi medycyny, 2019. № 2. PP. 60–70.

Рукопис отримано: 16.09.2019р.

Прийнято: 02.10.2019р.

Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-60-70

Наведено результати наукових досліджень, що були виконані протягом 2018–2019 років. З цією метою проводили іхтіопатологічні дослідження 198 бичкових риб: *Neogobius fluviatilis* Pallas, 1814, *Mesogobius batrachocephalus* Pallas, 1814, *Neogobius melanostomum* Pallas, 1814, а також хижих риб у кількості 78 екземплярів: *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758, *Sander lucioperca* Linnaeus, 1758, *Esox lucius* Linnaeus, 1758, що були виловлені в акваторії Дніпро-Бузького лиману, поблизу села Дніпровське та мису Аджіголь, Миколаївської області. Середній показник екстенсивності інвазії серед бичкових риб Дніпро-Бузького лиману за криптокотиліозу у червні становив 26,6 %, а найбільший показник інтенсивності інвазії складав 94–157 метацеркарій криптокотиліосів. Після заморів у липні 2018 року відмічали зменшення популяції риб родини *Gobiidae* на 114,2 %. Показник ураження бичкових риб збудником криптокотиліозу набув максимального значення у серпні та становив 60,3 %, а амплітуда інтенсивності інвазії була в межах 102–211 метацеркарій. У червні показник зараження хижих видів риб (окунь, щука, судак) збудником еустронгілідозу був на рівні 63,8 %, а інтенсивність інвазії характеризувалась найбільшими показниками у щуки звичайної – 1–8 личинок нематод. Зменшення кількості виловлених хижих риб на 47,8 % відмічали після заморних явищ в акваторії Дніпро-Бузького лиману. Екстенсивність інвазії за еустронгілідозу у серпні була 84,3 %, а показники інтенсивності інвазії в межах 2–12 паразитів. Встановлена роль рибоїдних птахів у формуванні природних осередків криптокотиліозної та еустронгілідозної інвазії серед основних промислових риб Дніпро-Бузького лиману.

Окремо проводили гідрохімічні дослідження води з акваторії Дніпро-Бузького лиману з метою встановлення масової загибелі риби у липні 2018 року. За результатами гідрохімічних досліджень Дніпро-Бузького лиману у липні, виявлено невідповідність за показниками: рН, кисень, вільний аміак, нітрит-іон, загальна твердість відповідно до чинного нормативно-правового документа. Невідповідність гідрохімічного режиму стало причиною заморних явищ водних біоресурсів. Виявлено вплив абіотичних та біотичних чинників на стан паразитофауни досліджуваних риб природних водойм Півдня України.

Ключові слова: бичкові риби, хижі риби, абіотичні та біотичні чинники, криптокотиліоз, еустронгілідоз.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. Паразитизм – одна із найбільш успішних форм існування організмів, про що свідчить велике видове різноманіття паразитів та значення цього явища в еволюції. Склад паразитофауни визначається

комплексом зв'язків, з яких головну роль відіграють видове різноманіття і чисельність кінцевих та проміжних хазяїв.

Організми, що вільно існують у навколишньому середовищі, неминуче контактують та взаємодіють із біотичними та абіотичними чин-

никами навколишнього середовища біотопу. Водночас взаємодія паразита із середовищем біотопу покладається на хазяїна, хоч в більшості і опосередковано. Стосовно явища паразито-хазяїнних відносин Мошковський Ш. Д. (1946) писав: «організм, що веде паразитичний спосіб життя перекладає тягар регуляції відносин із зовнішнім середовищем на організм хазяїна, через нього регулює і отримання паразитом поживних речовин, що є одним із найважливіших факторів існування останнього» [5].

Особливості впливу паразита на організм хазяїна залежать від низки умов: з однієї сторони, від виду паразита, його морфологічних особливостей та патогенності, а з іншої – від видової специфіки хазяїна, висоти його організації, локалізації паразита в певних тканинах і органах, а також від того, наскільки швидко хазяїн реагує на вплив паразита [1, 12].

Із усіх видів біотичного впливу на стан паразитофауни гідробіонтів, найбільш чітко відчутне антропогенне навантаження, яке здійснюється на водойми. Найчастіше відчують вплив, що пов'язаний з надходженням надлишкової кількості біогенних речовин, внаслідок чого починається евтрофування – процес, що за короткий строк призводить до збільшення рівня біопродуктивності й порушення збалансованості екосистеми. Наслідки такого впливу негативно проявляються у надмірному розвитку фітопланктону (насамперед – ціанопрокаріот), яке називається «цвітінням». Даний процес вкрай негативно відображається на якості води та знижує рекреаційну цінність водойм. Головна небезпека евтрофування полягає в тому, що воно майже незворотне, оскільки призводить до внутрішніх, докорінних змін в екосистемі водойми.

Так званому «цвітінню» сприяє незначний водообмін, утворення застійних із слабкою проточністю зон; надлишковий вміст азотистих та фосфорних компонентів, органічних сполук, які слугують поживним середовищем для синьо-зелених водоростей [2].

Під час «цвітіння» відбувається зміна фізико-хімічних властивостей води, зокрема вода набуває вкрай неприємного запаху, різко знижується вміст розчинного кисню, активізуються анаеробні процеси, що призводять, у кінцевому результаті, до заморних явищ риби та інших гідробіонтів (моллюсків, ракоподібних тощо). Поведінка риб зазнає суттєвих змін: з'являється атаксія, спостерігають явища ураження нервової системи, пригнічення дихальних та, як наслідок, окисно-відновлювальних процесів організму з наступною загибеллю риби [14].

Деякі паразити використовують як проміжних хазяїв окремі види зообентосу (мо-

люсків, олігохет) та мають диференційований цикл розвитку. Дані гельмінти є індикаторами підвищення концентрації біогенних елементів у водоймах, тобто – евтрофування. До групи паразитів із диференційованим життєвим циклом можна віднести трематод родини *Heterophyidae*, а також нематод родини *Diocotophymatidae* [8, 16, 17].

До чинників абіотичного впливу слід віднести й накопичення у донному осаді нафтопродуктів, а у воді – деяких важких металів (цинк, кобальт, кадмій, плумбум).

Усі хімічні речовини, у тому числі і важкі метали, що потрапляють із зовнішнього середовища в біологічну систему, в кінцевому результаті неминуче вступають у фізико-хімічні реакції з численними біохімічними компонентами клітин. Тим не менш, у складній біохімічній системі будь-якого організму, незалежно від його місця в еволюційній ієрархії, наявні вузлові біохімічні системи, пошкодження яких можуть розглядатися як прогностичний показник неминучості розвитку незворотніх деструктивних процесів [13, 15].

Наявність даних забруднювачів у воді, навіть у незначних концентраціях, вкрай негативно відображається як на загальному стані організму, так і на бар'єрних функціях шкіри та біохімічному складі слизу риб, що зумовлює більш вільне інвазування риби збудниками паразитарних хвороб [9].

Чинниками біотичного напряму, що безпосередньо можуть впливати на поширеність гельмінтів серед іхтіофауни природних водойм – є проміжні, додаткові (резервуарні) та дефінітивні хазяї, що беруть безпосередню участь у життєвому циклі окремо взятої таксономічної одиниці. Так, для трематод родини *Heterophyidae* (*Cryptocotyle cancanum* Crepl, 1825 та *Cryptocotyle jejuna* Nicoll, 1907) проміжними хазяями є моллюски *Hydrobia ulvae* (*Peringia ulvae*) Pennant, 1777, а дефінітивними – рибоїдні птахи, морські ссавці, собаки, а також людина. У нематод родини *Diocotophymatidae*, зокрема *Eustrongylides excisus* (Jägerskiöld, 1909), роль проміжних хазяїв виконують водні олігохети родини *Tubificidae* та *Lumbriculidae*, в яких паразити розвиваються в перший та другий личинковий періоди. Додатковим або другим проміжним хазяїном є планктоно- та бентосоїдні види риб. *E. excisus* як резервуарний хазяїн може використовувати деяких амфібій та рептилій: озерну жабу (*Rana ridibunda* Pallas, 1771) або велетенську ропуху (*Rhinella marina* Linnaeus, 1758), а також водяного вужа (*Natrix tesselata* Laurenti, 1768). Дефінітивними хазяями для

даних нематод є рибоїдні птахи, морські ссавці та люди [8, 16, 17].

Збільшення кількості органічних речовин та їх накопичення у водоймі призводить до формування кормової бази для проміжних хазяїв зазначених паразитів: моллюсків, олігохет та інших представників бентосу. Забруднення водойм органічними рештками, перенасичення біогенними елементами – є підґрунтям для поширення паразитозів серед іхтіофауни природних водойм [17].

Окреме, в більшості вирішальне значення для поширення паразитів іхтіофауни мають рибоїдні птахи, які під час сезонних міграцій поширюють деяких гельмінтів далеко за ареали територій, де їх раніше не реєстрували та формують природні вогнища інвазії. Переважною причиною змін напрямів міграційних шляхів перелітних птахів та часу перебування їх на місцях стоянок є кліматичні зміни, що пов'язані із глобальним потеплінням у світі. Як повідомляє Організація об'єднаних націй в період 1880–2012 років середня глобальна температура зросла на 0,85 °C.

Під час весняних міграцій південні види птахів можуть «перелітати» північний кордон свого нормального поширення і з'явитися в гніздовий час в більш північних широтах, де зазвичай їх не реєструють. Таким міграціям південних видів птахів сприяє висока температура повітря весною. Навпаки, за скороченого весняного перельоту, види птахів, які звичайно існують в більш північних місцевостях, можуть осідати та гніздуватися в більш південних широтах. Такі випадки відбуваються при затяжних прохолодних веснах [10].

Таким чином, подовження або скорочення міграційних шляхів птахів навесні під впливом метеорологічних умов на кордоні ареалів поширення можуть бути досить суттєвими зоогеографічними чинниками, які впливають на якісний та кількісний склад фауни птахів. Досить теплі та вологі зими Півдня України дозволяють деяким рибоїдним птахам не здійснювати щорічні сезонні міграції.

Даний факт безпосередньо відображається на стані гельмінтофауни водойм та місцевостей, що задіяні в міграційному маршруті основних дефінітивних хазяїв збудника криптокотильозу та еустронгілідозу – рибоїдних птахів.

Усе наведене вище стало підставою для проведення досліджень з вивчення впливу абіотичних та біотичних чинників на поширення криптокотильозу та еустронгілідозу серед іхтіофауни природних водойм Півдня України.

Мета роботи полягала у дослідженні впливу чинників біотичного та абіотичного прояву на процеси поширення та формування

осередків паразитофауни гідробіонтів природних водойм Півдня України.

Матеріал і методи досліджень. Упродовж червня–серпня 2018 року було досліджено 78 екземплярів трьох видів хижих риб, а саме: окуня (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) – 37 екз., судака (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) – 26 екз. та щуки (*Esox lucius* Linnaeus, 1758) – 15 екз., а також 198 екземплярів риб родини Gobiidae: бичка-пісочника (*Neogobius fluviatilis* Pallas, 1814) – 155 екз., бичка-мартовика (*Mesogobius batrachocephalus* Pallas, 1814) – 31 екз. та бичка-кругляка (*Neogobius melanostomum* Pallas, 1814) – 12 екз. Відбирали рибу під час проведення планових контрольних обловів, відловлювали її вудочками, а також купляли у рибалок на місці вилову. Відбір зразків риби проводили вздовж берегової лінії Дніпро-Бузького лиману, в адміністративних межах Миколаївської області (поблизу села Дніпровське Очаківського району – 46°37'48.45" N, 31°51'43.72" E, мис Аджігол – 46°37'01.98" N, 31°47'13.41" E) (рис. 1).

Клінічне дослідження проводили шляхом огляду поверхні луски та шкірних покривів. Окремо досліджували ротову та зяброву порожнину. Розтинали черевну порожнину розрізом, який починали від анального отвору та направляли до голови. Препарували та відокремлювали кожен орган. Окремо відділяли і досліджували кишечник та його вміст. Для дослідження м'язової тканини попередньо знімали шкіру. Проводили поперечні надрізи м'язів під косим кутом відносно хребта. На яскравому світлі проглядали кожен надріз. Виділяли та досліджували головний та спинний мозок, а також кристалик ока [1].

Під час проведення розтину відбирали тканини та досліджували компресорним методом за допомогою компресорію МИС-7. Мікроскопію проводили за допомогою оптичного обладнання: мікроскопа тринокулярного Micromed XS-4130 та мікроскопа бінокулярного, стереоскопічного Micromed XS-6320. Виявляли метацицерарії трематод родини *Heterophyidae*, а також личинок нематод родини *Diectophymatidae* в організмі досліджуваних риб.

Відбирали воду з ділянок вилову риби та піддавали гідрохімічному дослідженню на відповідність ОСТ 15.372-87 «Вода для рибоводних господарств. Загальні вимоги та норми» на наступні показники: завислі речовини (г/м³), рН, розчинний кисень (мг/дм³), двоокис вуглецю (мг/дм³), сірководень (мг/дм³), аміак вільний (мг/дм³), нітрити (гN /м³), нітрати (гN /м³), залізо загальне (г/м³), твердість загальна (мг-екв/л), окисненість перманганат (гO/м³) [3, 6, 11].

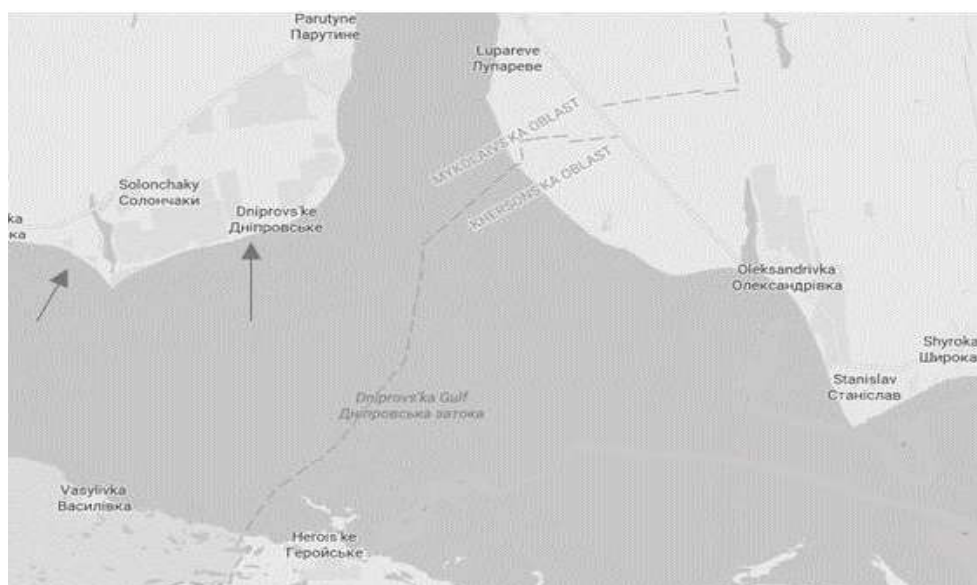


Рис.1. Місця відбору риби (Google maps).

Іхтіопатологічні та гідрохімічні дослідження проводили на базі профільних відділів Миколаївської регіональної державної лабораторії Держпродспоживслужби.

Визначали екстенсивність та інтенсивність інвазії у досліджуваних риб. Отриману цифрову інформацію обробляли статистично та визначали середні арифметичні величини.

Результати дослідження. У червні 2018 року в ділянці акваторії Дніпро-Бузького лиману у плановому порядку було здійснено контрольні відлови риби з метою встановлення епізоотичного благополуччя. Лови проводили поблизу села Дніпровське Очаківського району та мису Аджігол.

За результатами іхтіопатологічних досліджень риб родини Gobiidae, що була виловлена в акваторії Дніпро-Бузького лиману поблизу мису Аджігол, встановлено ураження метацеркаріями криптокотиліозів. Показник екстенсивності інвазії у *M. batrachosephalus* за криптокотиліозу був на рівні 18,1 %, а інтенсивність

інвазії реєстрували в діапазоні 32–56 метацеркаріїв. Ступінь ураження бичків *N. fluviatilis* метацеркаріями трематоди роду *Cryptocotyle* склав 42 %, інтенсивність ураження зазначених гідробіонтів – 13–84 метацеркаріїв. Найбільшими показниками екстенсивності інвазії відзначався *N. melanostomum* – 75 %. Амплітуда інтенсивності інвазії також характеризувалась максимальними показниками у даній дослідній групі риб – 94–157 метацеркаріїв.

Під час досліджень бичкових риб, що проводили у червні 2018 року у ділянці Дніпро-Бузького лиману поблизу с. Дніпровське Очаківського району, було виявлено, що показник екстенсивності інвазії *N. fluviatilis* зменшувався, порівняно зі ступенем ураження риби виловленої поблизу мису Аджігол, та становив 12,9 %, а граничний показник амплітуди інтенсивності інвазії складав 39–87 метацеркаріїв трематод родини Heterophyidae. *M. batrachosephalus* за дослідження були вільними від збудника криптокотиліозу (табл. 1).

Таблиця 1– Видовий склад досліджених бичків та їх інвазованість метацеркаріями трематоди роду *Cryptocotyle* Lühe, 1899 у червні 2018 року

Види риб	Кількість, екз.	Екстенсивність інвазії, %	Інтенсивність інвазії, екз.
Дніпро-Бузький лиман (мис Аджігол, Миколаївська область)			
<i>Mesogobius batrachosephalus</i>	11	18,1	32–56
<i>Neogobius fluviatilis</i>	51	42,0	13–84
<i>Neogobius melanostomum</i>	8	75,0	94–157
Дніпро-Бузький лиман (с. Дніпровське, Миколаївська область)			
<i>Neogobius fluviatilis</i>	54	12,9	39–87
<i>Mesogobius batrachosephalus</i>	11	0	0

Паралельно із дослідженням бичкових риб у червні 2018 року під час контрольних обловів проводили вилов та подальше клініко-лабораторне дослідження хижих видів риб щодо інвазування личинками нематод родини Dioctophymatidae, а саме *Eustrongylides excisus*. Зокрема, за дослідження окуня звичайного, що був відібраний із акваторії Дніпро-Бузького лиману поблизу мису Аджігол, рівень екстенсивності інвазії сягав 85,7 %, а амплітуда інтенсивності інвазії – 1–4 личинки паразита. Судак характеризувався меншим показником ураження збудником еустронгілідозу, а саме – 40 %. Показники інтенсивності інвазії коливалися в межах 1–5 екз. Найменшими показниками екстенсивності інвазії характеризувалась щука. Рівень екстенсивності інвазії складав 28,5 %, а межі амплітуди інтенсивності інвазії коливалися в діапазоні 1–8 метацеркарій. Показник інтенсивності інвазії був одним із максимальних серед усіх видів хижих риб, що були досліджені поблизу мису Аджігол у червні 2018 року.

Хижі види, що були виловлені поблизу с. Дніпровське, Очаківського району відзначалися незначним збільшенням показника ураження личинками нематод. Так, під час проведення наукових досліджень, показник екстенсивності інвазії у судака склав 54,5 %, а рівень інтенсивності інвазії – у межах 1–2 личинки. Щука характеризувалася тим, що обидві виловлені риби були інвазовані личинками нематоди *Eustrongylides excisus*. Тобто рівень екстенсивності інвазії склав 100 %. Показники інтенсивності інвазії були в межах 1–4 екз. Вданій вибірці, під час проведення вилову риби, окуня річкового піймати не вдалося (табл. 2).

у природних водоймах. Так, вздовж берегової лінії реєстрували велику кількість загинлої риби різних видів. Зокрема серед заморної риби відзначали й бичкових риб, а також щук, судаків та окунів (рис. 2–3).

На місці загибелі водних біоресурсів відмічали великі скупчення рибоїдних птахів. Їх приваблювала ослаблена та загинла риба, що слугувала для них кормом. Птахи збиралися у зграї та були окремо. На місці заморів відмічали водних рибоїдних птахів ряду Ciconiiformes, Anseriformes, Gaviiiformes. Найпоширенішими представниками орнітофауни, що було виявлено на місці загибелі риби, були птахи родини Laridae: *Ichthyaetus melanocephalus* (чайка чорноголова), *Larus canus* (чайка сиза), *Larus argentatus* (чайка срібляста) тощо (рис. 4). Також реєстрували *Phalacrocorax carbo* (великий баклан).

Для з'ясування причин загибелі риби було відібрано зразки води із Дніпро-Бузького лиману на місці замору риби. За результатами гідрохімічного аналізу встановлено, що концентрація іонів водню (рН) у досліджуваній воді складала 8,7, що на 0,2 одиниці перевищувала верхню межу, яка регламентована нормативно-правовим документом. Хоча необхідно зазначити, що Дніпро-Бузький лиман лежить на вапняному плато, що і забезпечує переважну насиченість води лиману лужноземельними металами. Лужноземельні метали в свою чергу й відіграють провідну роль у підтриманні слаболужної реакції, що впливає на загальну твердість води природних водойм Півдня України. Так загальна твердість становила 11,3 мг-екв/л, що у 1,88 раза перевищувало допустиму концентрацію, вказану в нормативному документі.

Таблиця 2 – Видовий склад досліджених хижих риб та їх інвазованість личинками нематоди *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909 у червні 2018 року

Вид риб	Кількість, екз.	Екстенсивність інвазії, %	Інтенсивність інвазії, екз.
Дніпро-Бузький лиман (мис Аджігол, Миколаївська область)			
<i>Perca fluviatilis</i>	21	85,7	1–4
<i>Sander lucioperca</i>	5	40,0	1–5
<i>Esox lucius</i>	7	28,5	1–8
Дніпро-Бузький лиман (с. Дніпровське, Миколаївська область)			
<i>Sander lucioperca</i>	11	54,5	1–2
<i>Esox lucius</i>	2	100	1–4

У середині липня 2018 року в акваторіях за названими вище локаціями відбулися масові заморні явища водних біоресурсів, зокрема й риби, ракоподібних і деяких молюсків. Температурні режими у липні 2018 року відзначалися високими значеннями, що слугувало додатковим каталітичним чинником заморів

Кількість вільного аміаку у відібраній воді на місці загибелі водних біоресурсів становила 0,18 мг/дм³. Підвищення кількості вільного аміаку, порівняно із максимально допустимим рівнем, який вказано в ОСТ 15.372-87, було в 3,6 раза. Збільшення рівня рН вище верхньої межі (рН становило 8,7) також зумовлено тим,



Рис. 2–3. Берегова лінія Дніпро-Бузького лиману. Відмічено масові заморні явища гідробіонтів.
Липень 2018 року.



Рис. 4. Скупчення птахів родини Laridae на місці загибелі риби.

що аміак є лужним буфером, це також частково забезпечує слаболужну реакцію води у Дніпро-Бузькому лимані.

Під час огляду акваторії лиману було відмічено надзвичайно активне «цвітіння» синьо-зелених водоростей, що надавало воді зеленкуватого відтінку.

Вдень вода в таких водоймах буває достатньо насичена киснем завдяки інтенсивному фотосинтезу водоростей та фітопланктону,

але вночі уміст кисню різко знижується, що призводить до задухи. Основна причина нічних задух – використання великих кількостей кисню для дихання гідробіонтами (риби, ракоподібні, молюски), аеробними бактеріями і водоростями, зокрема ціанопрокаріотами, особливо під час «цвітіння» останніх.

Саме тому за випробування води лиманної на відповідність ОСТ 15.372-87 щодо вмісту кисню, було виявлено, що рівень кисню склав

4,09 мг/дм³, що в 0,81 раза менше за необхідну його кількість.

У процесі окиснення неіонізованого аміаку та відновлення нітратів утворюються побічні й проміжні продукти хімічного процесу – нітри-ти. Кількість нітрит-іонів також не відповідала чинним вимогам, що відображено в докумен-ті. Зокрема, перевищення кількості нітрит-іонів було в 3 рази та складало 0,06 гN /м³ (табл. 3).

Виявлені невідповідності гідрохімічного режиму водойми вказують на те, що акваторія Дніпро-Бузького лиману знаходиться під регу-лярним впливом як чинників абіотичного на-пряму (наявність у воді лужноземельних металів), так і чинників біотичної природи (значне антропогенне навантаження, перенасичення органічними рештками тощо). Невідповід-ні гідрохімічні показники у Дніпро-Бузькому лимані відображають незадовільні умови для існування гідробіонтів, зокрема риб. Стресові умови знижують опірність риб до зараження збудниками інвазійних захворювань, в тому числі криптокотиліозу та еустронгілідозу. А коли показники сягають критичних значень – відбувається загибель риб. Слід зазначити, що антропогенний вплив відображається і на стані поширеності інвазій іхтіофауни, оскільки перенасичення води біогенними елементами позитивно впливає на розвиток популяцій мо-люсків та олігохет – проміжних та додаткових хазяїв представників паразитофауни риб Дні-про-Бузького лиману.

З метою моніторингу паразитофауни гідро-біонтів у Дніпро-Бузькому лимані у серпні 2018 року було здійснено повторний відлов риби по-близу села Дніпровське Очаківського району та мису Аджігол, Миколаївської області.

За результатами клініко-лабораторного дослідження відмічали, що ступінь ураження *M. batrachcephalus* збудником криптокотиліозу досягав 71,4 %, а показники інтенсивності ін-

вазії коливались в межах 41–89 метацеркаріїв. Показник екстенсивності інвазії у *N. fluviatilis* характеризувався ураженням 82,6 % бичків цього виду, що були виловлені поблизу мису Аджігол. Показник амплітуди інтенсивнос-ті інвазії у бичка-пісочника відзначався у ме-жах 28–121 метацеркаріїв. Рівень ураженості *N. melanostomum* метацеркаріями трематоди родини Heterophyidae характеризувався найви-щим показником інвазованості – 100 %. Інтен-сивність інвазії також відзначалася максимал-ними показниками серед риб досліджуваної групи та складала 102–211 метацеркаріїв.

У риб родини Gobiidae, що були виловлені поблизу с. Дніпровське, Очаківського району, також реєстрували ураження збудником крип-токотиліозу. Так, у *N. fluviatilis* показник екстенсивності інвазії був 37,03 %, а амплітуда інтенсивності інвазії складала 48–105 личинок трематод. *M. batrachcephalus* був уражений криптокотиліозами на 100 % з показниками інтенсивності інвазії – 18–61 метацеркаріїв. Бичка-кругляка у досліджуваних групах риб в даній локації виловити не вдалося, як і в черв-ні (табл. 4).

Під час проведення дослідження хижої риби з метою виявлення ступеня ураження збудником еустронгілідозу у серпні 2018 року було досліджено окунів, шук та судаків, яких було виловлено поблизу села Дніпровське та мису Аджігол, Очаківського району. Так, за дослідження окуня звичайного встановлено, що показник екстенсивності риб, що були ві-дібрані під час контрольних ловів в акваторії Дніпро-Бузького лиману поблизу села Дні-провське, склав 87,5 %. Інтенсивність інвазії досліджуваних окунів була в межах 1–8 личи-нок нематод.

Судак був уражений на 100 %. Даний вид риб із усіх, що піддавали дослідженню, ха-рактеризувався найбільшими показниками

Таблиця 3 – Гідрохімічні показники води у ділянці Дніпро-Бузького лиману у липні 2018 року

Показник	ОСТ 15.372-87 ДК	Результати дослідження
Температура, °C	-	18
Завислі речовини, г/м ³	до 25,0	14
Водневий показник (pH)	6,5–8,5	8,7
Кисень розчинений, мг/дм ³	не нижче 5,0	4,09
Вуглекислий газ (CO ₂), мг/дм ³	до 25	12
Сірководень (H ₂ S), мг/дм ³	відсутній	не виявлено
Аміак вільний (NH ₃), мг/дм ³	0,05	0,18
Окисненість перманганатна, гО/м ³	до 15	10,8
Нітрит-іон NO ₂ , гN /м ³	0,02	0,06
Нітрат-іон NO ₃ , гN /м ³	2,0	0,27
Залізо загальне (Fe), г/м ³	1,8	0,35
Твердість загальна, мг-екв/л	2–6	11,3

Таблиця 4 – Видовий склад досліджених бичків та їх інвазованість метацеркаріями трематоди роду *Cryptocotyle* Lühe, 1899 у серпні 2018 року

Вид риб	Кількість, екз.	Екстенсивність інвазії, %	Інтенсивність інвазії, екз.
Дніпро-Бузький лиман (мис Аджігол, Миколаївська область)			
<i>Mesogobius batrachocephalus</i>	7	71,4	41–89
<i>Neogobius fluviatilis</i>	23	82,6	28–121
<i>Neogobius melanostomum</i>	4	100	102–211
Дніпро-Бузький лиман (с. Дніпровське, Миколаївська область)			
<i>Neogobius fluviatilis</i>	27	37,03	48–105
<i>Mesogobius batrachocephalus</i>	2	100	18–61

екстенсивності інвазії. Амплітуда інтенсивності інвазії коливалась в діапазоні 1–5 екз. Показник ураження щуки складав 75 %. Але показники інтенсивності інвазії, що зареєстрували серед усіх досліджуваних риб, були максимальними саме у щук – 2–12 личинок нематод.

Серед судаків, що були виловлені в акваторії лиману поблизу мису Аджігол, показник екстенсивності інвазії склав 71,4 %, від загальної кількості усіх досліджуваних риб цього виду. Амплітуда інтенсивності інвазії була в межах 1–4 личинки нематод. Під час проведення контрольного лову риби у зазначеній ділянці було відібрано лише 2 щуки. За результатами іхтіопатологічного та паразитологічного дослідження виявлено, що обидві риби уражені збудником еустронгілідозу, тобто екстенсивність ураження – 100 %. Показники інтенсивності також коливались від 7 до 11 личинок нематод, що були виявлені у досліджуваних щуках (табл. 5).

Обговорення. Проводячи аналіз отриманих даних наукових досліджень можемо з високим рівнем вірогідності стверджувати, що основні чинники антропогенного впливу, які призводять до дестабілізації паразито-хазяїнських відносин у природних водоймах, сприяють формуванню вогнищ інвазії іхтіофауни в акваторії Дніпро-Бузького лиману.

Під час проведення іхтіопатологічного дослідження дійшли висновку, що такі явища як замори, які виникають внаслідок незадовільного гідрохімічного режиму у лимані, призводять до зниження популяції й різноманіття іхтіофауни та формують тимчасові кормові місця для рибоїдних птахів – основних хазяїв криптокотильозу та еустронгілідозу. Так щодо кількості хижих видів риб (окуня, щуки та судака) вже у серпні було виловлено на 47,8 % менше, ніж у червні. Чисельність популяції риб родини *Gobiidae* також зазнавала значних змін, оскільки порівняно із червнем 2018 року, вилов бичкових риб у досліджуваних локаціях Дніпро-Бузького лиману у серпні знизився на 114, 2 %. Цифрові значення відображають, як сукупний вплив чинників «живої» та «неживої природи» безпосередньо впливає на стан популяції іхтіофауни окремих ареалів природних водойм Півдня України.

Водночас слід зазначити, що скупчення рибоїдних птахів на місці заморних явищ водних біоресурсів призводить до збільшення показників інвазованості риби збудниками паразитарних хвороб, зокрема й криптокотильозу та еустронгілідозу. Так, середні показники зараження бичкових риб збудником криптокотильозу у червні склали 26,6 %, а найбільшим ступенем амплітуди інтенсивності інвазії відзначився *N. melanostomum* – 94–157 мета-

Таблиця 5 – Видовий склад досліджених хижих риб та їх інвазованість личинками нематоди *Eustrongylides excisus* Jägerskiöld, 1909 у серпні 2018 року

Вид риб	Кількість, екз.	Екстенсивність інвазії, %	Інтенсивність інвазії, екз.
Дніпро-Бузький лиман (мис Аджігол, Миколаївська область)			
<i>Perca fluviatilis</i>	16	87,5	1–8
<i>Sander lucioperca</i>	3	100	1–5
<i>Esox lucius</i>	4	75,0	2–12
Дніпро-Бузький лиман (с. Дніпровське, Миколаївська область)			
<i>Sander lucioperca</i>	7	71,4	1–4
<i>Esox lucius</i>	2	100	7–11

церкарійв трематод. Після заморних явищ у липні та клініко-лабораторного дослідження виловлених бичків у серпні рівень інвазії на криптокотильоз стрімко зріс – до 60,3 %, а показники інтенсивності інвазії також зросли та становили 102–211 личинок, що були встановлені також у бичка-кругляка. Середній показник зараження бичкових риб на криптокотильоз у акваторії Дніпро-Бузького лиману становив 38,8 %.

Подібна тенденція до зниження популяції риб після масової загибелі та збільшення показників ураження паразитами спостерігали і серед досліджуваних хижих риб – окуня, судака та щуки. Досліджуючи рівень інвазованості хижих риб збудником еустронгілідозу відмічали середній показник екстенсивності інвазії у червні на рівні 63,8 %. Найбільш ураженим видом була щука із показниками інтенсивності інвазії 1–8 личинок *E. excisus*. Але вже у серпні, за повторного дослідження хижих риб було встановлено зростання екстенсивності інвазії до 84,3 %. Амплітуда інтенсивності інвазії досягала максимальних значень також у серпні та складала 2–12 личинок нематод у щуки звичайної.

Підводячи підсумки наукової роботи можна побудувати абсолютно логічний ланцюг послідовних подій, що в кінцевому результаті призвели до зниження популяції водних біоресурсів у акваторії Дніпро-Бузького лиману та сформува-ли досить суттєве вогнище криптокотильозної та еустронгілідозної інвазії серед основних промислових риб природних водойм Півдня України.

Таким чином вперше вивчено вплив абіотичних та біотичних чинників на стан паразитофауни промислових риб Дніпро-Бузького лиману. Отримані наукові дані підтверджують глобальність проблематики антропогенного навантаження на водойми Півдня України; відображають деструктивний вплив на екологічну ситуацію у водоймах, яка була побудована в процесі еволюції паразито-хазяїнних відносин. Зазначені факти створюють передумови і можливості щодо прогнозування та запобігання не лише заморних явищ, а й формування вогнищ небезпечних зоонозних інвазій.

Висновки.

1. Виявлено, що середній показник екстенсивності інвазії серед бичкових риб Дніпро-Бузького лиману за криптокотильозу у червні становив 26,6 %, а найбільший показник інтенсивності інвазії складав 94–157 метацеркарійв криптокотильосів. Після заморів у липні 2018 року відмічали зменшення популяції риб родини Gobiidae на 114,2 %. Показник ураження бичкових риб збудником криптокотильозу набув максимального значення у серп-

ні та становив 60,3 %, а амплітуда інтенсивності інвазії була в межах 102–211 екз.

2. У червні показник зараження хижих видів риб (окунь, щука, судак) збудником еустронгілідозу був на рівні 63,8 %, а інтенсивність інвазії характеризувалась найбільшими показниками у щуки звичайної – 1–8 личинок нематод. Зменшення кількості виловлених хижих риб на 47,8 % відмічали після заморних явищ в акваторії Дніпро-Бузького лиману. Екстенсивність інвазії за еустронгілідозу у серпні була 84,3 %, а показники інтенсивності інвазії в межах 2–12 паразитів.

3. За результатами гідрохімічних досліджень води Дніпро-Бузького лиману у липні, виявлено невідповідність за показниками: рН, кисень, вільний аміак, нітрит-іон, загальна твердість відповідно до чинного нормативно-правового документа. Невідповідність гідрохімічного режиму стало причиною заморних явищ водних біоресурсів, що є наслідком значного антропогенного навантаження на водойми з їхньою евтрифікацією.

4. Встановлена роль рибоїдних птахів у формуванні природних осередків криптокотильозної та еустронгілідозної інвазії серед основних промислових риб Дніпро-Бузького лиману.

5. Виявлено вплив абіотичних та біотичних чинників на стан паразитофауни досліджуваних риб природних водойм Півдня України.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Тварин для дослідження не використовували.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. Ленинград: Наука, 1985. 121 с.
2. Власов Б.П., Самойленко В.М., Грищенкова Н.Д. Антропогенные изменения экосистемы озера Боллоис и пути его восстановления. *Журнал Белорусского государственного университета. География. Геология*. 2016. С. 14–25.
3. ГОСТ 23268.12-78 Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Метод определения перманганатной окисляемости. [Действует с 1980-01-01]. СССР, 1980, 13 с.
4. Глушанкова М.А., Пашкова И.М. Аккумуляция тяжелых металлов тканями рыб озер Псково-Чудского и Выртысъяр. *Материалы 2-й Всесоюз. конф. по рыбхозийственной токсикологии*. Санкт-Петербург, Т.1. 1991. С.116–117.
5. Догель В.А. Общая паразитология. Ленинград: и-во Ленинградского университета, 1962. 463 с.
6. ДСТУ 4077-2011 Якість води. Визначення рН. [Чинний від 2003-07-01]. Видання офіційне. Київ, 2003. 16 с.
7. Зубарева И.М., Василевич Ф.И., Донченко А.С. Аспекты общей эпизоотологии инвазионных болезней: учеб. пособие. Новосиб. гос. аграр. ун-т, МГАВМиБ им. К.И. Скрябина. Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2016. 275 с.

8. Карманова Е.М. Диокифимидеи животных и человека и вызываемые ими заболевания. Москва: из-во Наука, 1968. 261 с.
9. Колесников В.А. Воздействие тяжёлых металлов на биохимические реакции. *Вестник КрасГАУ*. №5, 2009. С. 106–111.
10. Кумари Э.В. Миграция птиц как зоогеографическая проблема. *Русский орнитологический журнал*. Том 21. Экспресс-выпуск 758. 2012. С. 1131–1140.
11. Методики гидрохимических исследований проб из рыбохозяйственных водоемов. Москва: Изд-во МСХ СССР № 115-6а от. 20.10.1983, 1983. 37 с.
12. Новак А.И. Физиологические адаптации паразитов рыб к экологическим особенностям среды обитания. *Вестник РГАУ им. П. А. Костычева*. Научно-производственный журнал. 2011. № 3 (11). С. 44–49.
13. Наумова А.М., Наумова А.Ю. Паразитологический контроль объектов сельскохозяйственного рыбоводства. *Российский паразитологический журнал*. Москва, 2016. Т. 35. Вып. 1. С. 54–57. DOI: 10.12737/18361
14. Трушева С.С. Гидробиологія. Інтерактивний комплекс навчально-методичного забезпечення дисциплін. Рівне: Національний університет водного господарства та природокористування, 2005. 70 с.
15. Фундаментальные исследования / Хованский И.Е. и др. № 9. 2014. С. 345–348.
16. Distribution of trematodes *Cryptocotyle Lühе*, 1899 (Trematoda: Heterophyidae) in fish of the family Gobiidae in estuary waters and the Black Sea in Southern Ukraine / S. Goncharov et al. *Vestnik zoologii*. Vol. 51 (5). 2017. P. 393–400.
17. Lichtenfels J.R., Stroup C.F. *Eustrongylides* sp. (Nematoda: Dioctophymatoidea): First Report of an Invertebrate Host (Oligochaeta: Tubificidae) in North America. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* Vol. 52 (2). 1985. P. 320–323.
5. Dogel' V.A. (1962) *Obshhaja parazitologija* [Global parasitology]. Leningrad: I-vo: Leningradskogo universiteta. 463 p.
6. DSTU 4077-2011 *Jakist' vodi. Viznachennja pH* [DSTU 4077-2011 Water quality. Determination of pH]. Vidannja oficijne. Kiiv. 2003. 16 p.
7. Zubareva I.M., Vasilevich F.I., Donchenko A.S. (2016) *Aspekty obshhej jepizootologii invazionnyh boleznej: ucheb. Posobie* [Aspects of the general epizootology of invasive diseases: textbook. allowance]. Novosib. gos. agrar. un-t, MGAVMiB im. K.I. Skrjabina. Novosibirsk: IC NGAU «Zolotoj kolos». 275 p.
8. Karmanova E.M. (1968) *Dioktifimidei zhivotnyh i cheloveka i vyzyvamyje imi zabojevanija* [Dioctifimideia of animals and humans and diseases caused by them]. Moscow: Nauka. 261 p.
9. Kolesnikov V.A. (2009) *Vozdejstvie tjazholyh metallov na biohimicheskie reakcii* [The impact of heavy metals on biochemical reactions]. *Vestnik KrasGAU* [Bulletin of KrasGAU]. № 5. pp. 106–111.
10. Kumari Je.V. (2012) *Migracija ptic kak zoogeograficheskaja problema* [Bird Migration as a Zoogeographic Problem]. *Russkij ornitologicheskij zhurnal* [Russian ornithological journal]. Tom 21. Jekspress-vypusk. 758. pp. 1131–1140.
11. Metodiki gidrohimičeskijh issledovanij prob iz rybohozajajstvennyh vodoemov [Methods of hydrochemical research of samples from fishery reservoirs] Moscow: Izd-vo MSH SSSR № 115-6а от. 20.10.1983, 1983. 37 p.
12. Novak A.I. (2011) *Fiziologičeskie adaptacii parazitov ryb k jekologičeskim osobennostjam sredy obitanija* [Physiological adaptation of fish parasites to environmental features of the environment]. *Vestnik RGAU im. P. A. Kostyčeva* [Bulletin of RSAU them. P.A. Kostychev]. Nauchno-proizvodstvennyj zhurnal. № 3 (11). P. 44–49.
13. Naumova A.M., Naumova A.Ju. (2016) *Parazitologičeskij kontrol' obektov sel'skochozajajstvennogo rybovodstva* [Parasitological control of agricultural fish farming facilities]. *Rossijskij parazitologičeskij zhurnal* [Russian parasitological journal]. Moscow, T. 35. Vyp. 1. pp. 54–57. DOI: 10.12737/18361
14. Trusheva S.S. (2005) *Gidrobiologija. Interaktivnij kompleks navchal'no-metodičnogo zabezpečennja disciplin* [Hydrobiology. An interactive set of educational and methodological support of disciplines]. Rivne: Nacional'nij universitet vodnogo gospodarstva ta prirodoekoristuvannja. 70 p.
15. Hovanskij I.E., Mlynar E.V., Kavtaradze T.M., Koshkin M.A. (2014) *Fundamental'nye issledovanija* [Basic research]. № 9. pp. 345–348.
16. Goncharov S., Soroka N., Pryima O., Dubovyj A. (2017) *Distribution of trematodes Cryptocotyle Lühе*, 1899 (Trematoda: Heterophyidae) in fish of the family Gobiidae in estuary waters and the Black Sea in Southern Ukraine. *Vestnik zoologii*. Vol. 51 (5). pp. 393–400.
17. Lichtenfels, J. R., Stroup, C. F. (1985) *Eustrongylides* sp. (Nematoda: Dioctophymatoidea): First Report of an Invertebrate Host (Oligochaeta: Tubificidae) in North America. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* Vol. 52 (2). pp. 320–323.

REFERENCES

1. Byhovskaja-Pavlovskaja I. E. (1985) *Parazity ryb. Rukovodstvo po izucheniju* [Fish parasites. Study guide]. Leningrad: Nauka, 121 p.
2. Vlasov B.P., Samojlenko V.M., Grishhenkova N.D. *Antropogennye izmenenija jekosistemy ozera Bolojso i puti ego vosstanovlenija* [Anthropogenic changes in the ecosystem of Lake Bolojso and ways of its restoration]. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Geografija. Geologija* [Journal of Belarusian State University. Geography. Geology]. 2016. pp. 14–25.
3. GOST 23268.12-78 *Vody mineral'nye pit'evye lečebnye, lečebno-stolovye i prirodnye stolovye. Metod opredelenija permanganatnoj okisljaemosti*. [State Standart 23268.12-78 Mineral drinking water, medicinal, medicinal and natural table. Method for determination of permanganate oxidizability]. SSSR, 1980, 13 p.
4. Glushankova M.A., Pashkova I.M. (1991) *Accumulation of heavy metals by fish tissues of lakes of Pskovo-Chudsky and Vyrtysavr. Akkumuljacija tjazhelyh metallov tkanjami ryb ozer Pskovo-Chudskogo i Vyrtysavr. Materialy 2-j Vsesojuz. konf. po rybohozajajstvennoj toksikologii* [Materials of the 2nd All-Union. conf. on fisheries toxicology]. Sankt-Peterburg, T.1. pp.116–117. (in Russian).

Влияние некоторых биотических и абиотических факторов на состояние паразитофауны гидробионтов естественных водоёмов Юга Украины**Гончаров С.Л.**

Приведены результаты научных исследований, выполненных на протяжении 2018–2019 годов. С этой целью проводили ихтиопатологические исследования 198 бычков рыб: *Neogobius fluviatilis* Pallas, 1814, *Mesogobius batrachocephalus* Pallas, 1814, *Neogobius melanostomum* Pallas, 1814, а также хищных рыб в количестве 78 экземпляров: *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758, *Sander lucioperca* Linnaeus, 1758, *Esox lucius* Linnaeus, 1758, которые были выловлены в акватории Днепро-Бугского лимана, вблизи села Днепропское и мыса Аджигол, Николаевской области. Средний показатель экстенсивности инвазии среди бычковых рыб Днепро-Бугского лимана при криптокотилизе в июне составил 26,6 %, а наибольший показатель интенсивности инвазии был 94–157 метацеркариев криптокотилюсов. После заморозов в июле 2018 года отмечали уменьшение популяции рыб семейства Gobiidae на 114,2 %. Показатель поражения бычковых рыб возбудителем криптокотиляза приобретал максимальное значение в августе и составил 60,3 %, а амплитуда интенсивности инвазии была в пределах 102–211 экз. В июне показатель заражения хищных видов рыб (окунь, щука, судак) возбудителем эустронгилидоза был на уровне 63,8 %, а интенсивность инвазии характеризовалась наибольшими показателями у щуки обыкновенной – 1–8 личинок нематод. Уменьшение количества выловленных хищных рыб на 47,8 % отмечали после заморозных явлений в акватории Днепро-Бугского лимана. Экстенсивность инвазии при эустронгилидозе в августе была 84,3 %, а показатели интенсивности инвазии в пределах – 2–12 паразитов. Установлена роль рыбацких птиц в формировании природных очагов криптокотилязной и эустронгилидозной инвазии среди основных промысловых рыб Днепро-Бугского лимана. Отдельно проводили гидрохимические исследования воды из акватории Днепро-Бугского лимана с целью установления массовой гибели рыбы в июле 2018 года. По результатам гидрохимических исследований воды Днепро-Бугского лимана в июле, выявлено несоответствие по показателям: pH, кислорода, свободного аммиака, нитрит-иона, общей жесткости на соответствие действующим нормативно-правовым документам. Несоответствие гидрохимического режима стало причиной заморозных явлений водных биоресурсов. Выявлено влияние абиотических и биотических факторов на состояние паразитофауны исследуемых рыб естественных водоемов Юга Украины.

Ключевые слова: бычковые рыбы, хищные рыбы, абиотические и биотические факторы, криптокотиляз, эустронгилидоз.

The influence of the biotic and abiotic factors on the state of the parasitic fauna of the hydrobionts in natural waters of the Southern Ukraine**Honcharov S.**

The article observes the results of the scientific researches conducted in 2018–2019. 198 samples of the Gobiidae fishes (*Neogobius fluviatilis* Pallas, 1814, *Mesogobius batrachocephalus* Pallas, 1814, *Neogobius melanostomum* Pallas, 1814,), as well as 78 samples of other predatory fishes (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758, *Sander lucioperca* Linnaeus, 1758, *Esox lucius* Linnaeus) were subjected to the ichthyopathological analysis with such an aim. The samples were caught in the waters of the Dniro-Buh estuary near the Dnirovske village and near the Agigol Cape in the Mykolayiv Region. The average index of the invasion extensiveness among the Gobiidae fishes of the Dniro-Buh estuary in June counted 26.6%, and the highest level of the invasion intensiveness counted – 94 – 157 metacecaria – the cryptocotyle agents. Following the fish-kill in July 2018 it was possible to notice the 114.2 % – decrease of the Gobiidae fishes population. The level; of the cryptocotyle invasion of these fishes reached its peak in August, counting 60.3%, and the amplitude of the invasion intensiveness waved between 102 and 211 samples. In June the level of invasion of the predatory fishes (perch, pike, sander) with eustrongylides counted 63.8%, and the invasion intensiveness reached the highest point among *Esox lucius* Linnaeus – from 1 to 8 nematoda larvae. The 47.8 % – decrease of the amount of the predatory fishes caught in the waters of the Dniro-Buh estuary was noticed after the fish-kill. In August the eustrongylide invasion extensiveness counted 84.3%, and the index of the invasion intensiveness was 2–12 parasites. The impact of the fish-eating birds on forming the natural focuses of the cryptocotyle and eustrongylide invasions among the main commercial fishes of the Dniro-Buh estuary was determined. Hydrochemical analysis of the waters of the Dniro-Buh estuary was held separately to determine the reason of the mass fish-kill in July 2018. The hydrochemical analysis of the waters of the Dniro-Buh estuary in July showed contradictions of such points as pH, oxygen, free ammonia, and total hardness to the actual normative legal documents. The inappropriate hydrochemical condition was the reason of the fish-kill in the aquatic biological recourses. The influence of biotic and abiotic factors on the condition of the parasitic fauna in the researched fishes of the natural waters of the Southern Ukraine was determined.

Key words: gobiidae fishes, predatory fishes, abiotic and biotic factors, cryptocotilosis, eustrongylidosis.



Copyright: © Honcharov S. 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.



Гончаров С.Л.

ID <https://orcid.org/0000-0001-7464-6689>

ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК 619:616.12:615:322:599.323.4

Кардіопротекторна дія препаратів Кардіофіл та Фітохол за умов експериментальної гіпотермії у щурів

Антоненко П.П. , Суслова Н.І. , Семьонов О.В. , Лисенко О.І. 

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

 E-mail: antonenko1946@i.ua



Антоненко П.П., Суслова Н.І., Семьонов О.В., Лисенко О.І. Кардіопротекторна дія препаратів Кардіофіл та Фітохол за умов експериментальної гіпотермії у щурів. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 71–80.

Antonenko P.P., Suslova N.I., Sem'онов O.V., Lysenko O.I. Kardioprotektorna diya preparativ Kardiofil ta Fitohol za umov eksperymental'noi' gipotermii' u shhuriv. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 71–80.

Рукопис отримано: 07.10.2019р.

Прийнято: 03.11.2019р.

Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-71-80

На сьогодні захворювання серцево-судинної системи у дрібних тварин займають від 15 до 18 %. Найчастіше причиною цих захворювань у тварин є зниження скорочувальної властивості міокарда.

Наведено результати експериментальних досліджень з вивчення ефективності препаратів Кардіофіл та Фітохол за експериментальної гіпотермії серця у щурів. Гістологічні дослідження доводять, що за ішемії відбувається загибель кардіоміоцитів, з подальшим заміщенням сполучною тканиною. Внаслідок цього до процесу ремоделювання серцевої тканини за її ушкодження залучається не лише зона ішемії, а й здоровий міокард. Незворотні ушкодження кардіоміоцитів і судинних структур призводять до порушення функції серця, серцевої недостатності та розвитку аритмій. Встановлено, що застосування препаратів Кардіофіл та Фітохол сприяє попередженню вказаних вище змін, тобто може бути перспективним для профілактики серцево-судинних захворювань.

Для проведення експериментальних досліджень було сформовано контрольну та дослідну групи щурів віком 12 місяців і вагою 220 г по 5 тварин у кожній. Усі тварини знаходились в однакових умовах годівлі та утримання. Щурам дослідної групи індивідуально внутрішньо задавали фітопрепарати Кардіофіл за 30 хв до годівлі в дозі 5 крапель, а через годину – Фітохол з невеликою кількістю води 3 рази на добу, протягом 90 діб. На 91 добу експерименту викликали гіпотермію у тварин, як стрес-чинник.

Протягом дослідження за щурами вели спостереження, враховували загальний стан, поведінку, реакцію на зовнішні подразники, стан волоссяного покриву. Після 12–14-годинного голодування на 91 добу тварин виводили із експерименту за загальноприйнятим методом (інгальційним наркозом). Відбирали матеріал та проводили гістологічне дослідження.

Протягом всього періоду проведення експериментальних досліджень у щурів контрольної та дослідної груп не було визначено будь-яких відхилень від норми: загального стану, поведінки, щури були рухливими, активними, адекватно реагували на зовнішні подразники, охоче приймали корм, волоссяний покрив залишався чистим та сухим.

Встановлені гістологічні зміни, ймовірно, відображають різні фази функціональної активності серця, а також структурних перебудов і метаболічних явищ, які відбувались у тканинах міокарда та клапанному апараті щурів за дії стрес-чинника – гіпотермічного стану.

Експериментальними дослідженнями доведено, що застосування фітопрепаратів Кардіофіл та Фітохол з профілактичною метою позитивно впливає на функцію серцево-судинної системи, зокрема міокарда, що вказує на їх кардіопротекторну дію.

Ключові слова: серцево-судинні захворювання, стрес, кардіопротективний вплив, міокард, гіпотермія, Кардіофіл, Фітохол, щури.

Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій. Незважаючи на значні успіхи ветеринарної медицини, серцево-судинні захворювання є причиною загибелі тварин. Високий рівень летальності за серцево-судинних захворювань зумовлений особливостями регенерації міокарда. Внаслідок ішемії серця кардіоміоцити заміщуються на сполучну тканину [2, 3].

За даними різних авторів [1, 6, 8], стрес-реакція на початку процесу призводить до активації гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи та посилення викиду гормону кортизолу і катехоламінів, що зумовлює накопичення активних форми кисню, які є індукторами коронарного спазму. Утворюється коло з позитивним зворотнім зв'язком: підвищення концентрації катехоламінів призводить до різкого посилення продукції активних форм кисню, активації процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Вони індукують коронарний спазм, виснаження антиоксидантних чинників, що посилює ішемію серцевого м'яза, а ця ланка патогенезу – посилення вільнорадикальних процесів у міокарді. Таким чином, активація ендогенних механізмів генерації активних форм кисню провокує напруження антиоксидантного захисту та розвиток оксидативного стресу, що є важливою ланкою патогенезу uszkodження міокарда.

На сьогодні значну увагу приділяють діагностиці стресового стану та адаптації до нього. Охолодження є типовим стресовим подразником, що зумовлює в організмі реакцію напруження. В стані штучної гіпотермії зменшується реактивність організму та підвищується його резистентність до впливу чинників середовища. За синдрому стресу, що зумовлений впливом низьких температур, як і за дії інших несприятливих чинників, відбувається активація реакцій пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) в організмі. Це є причиною зміни проникності мембран, активності ферментів, які вбудовані в мембрани [1, 4, 5, 9].

Тепловіддача зменшується за рахунок розвитку спастичних явищ у судинах шкіри, уповільнення току крові. Теплопродукція посилюється завдяки посиленню процесів обміну речовин, розпаду глікогену в печінці та м'язах, підвищенню вмісту глюкози в крові. Потреба в кисні зростає, посилюються функції системи, що забезпечує доставку кисню до тканин. Обмін речовин не тільки підвищується, а й перебудовується. Додаткові витрати енергії у вигляді тепла забезпечуються як за рахунок посилення окисних процесів, так і за рахунок відокремлення окиснення та пов'язаного

з ним фосфорилювання. Цей механізм сприяє екстремному зігріванню, однак він пов'язаний зі зменшенням кількості макроергічних запасів, необхідних для здійснення важливих функцій організму. Отже, окиснення і фосфорилювання не може забезпечити тривалу адаптацію до низьких температур, тим більше активну діяльність в умовах холоду. Останнє може бути досягнуте шляхом збільшення потужності мітохондріальної системи [2, 3, 7, 10].

Терморецептори шкіри сприймають холодове подразнення і аферентними шляхами посилають імпульси в гіпоталамус, де розташований центр терморегуляції, та у вищі відділи центральної нервової системи. Звідти в зворотному напрямку надходять сигнали до різних органів і систем, що беруть участь у регуляції температури тіла. По рухових нервових шляхах імпульси надходять до м'язів, внаслідок чого в них розвивається терморегуляторний тонус і тремтіння. По симпатичних нервах імпульс досягає мозкової речовини надниркових залоз, посилюючи секрецію адреналіну. Адреналін сприяє звуженню периферійних судин і стимулює розпад глікогену в печінці та м'язах. Важливим чинником є залучення до терморегуляції гіпофіза, а через його тропні гормони – щитоподібної залози та кори надниркових залоз. Гормони щитоподібної залози підвищують обмін речовин, відокремлюють процеси окиснення та фосфорилювання, а також активізують біогенез мітохондрій. Глюкокортикоїди стимулюють утворення вуглеводів з білків. Зазвичай цих процесів, спрямованих на зменшення виділення тепла, може бути достатньо для збереження температури тіла [11–13].

Однчасна дія гіпоксії та гіперкапнії у щурів призводить до зниження метаболічної активності, пригнічення поведінкових і терморегуляторних реакцій. При цьому їх ефекти сумуються з характерним для гіперкапнії впливом на дихання, а гіпоксії – на метаболізм тварин. Спричинена гіпоксією гіперкапнія, посилена низькою температурою гіпотермія тварин є основним чинником пригнічення активності серця [14–17]. Для нормальної роботи серця важлива функціональна активність рецепторного та провідного апаратів, ядерних утворень в довгастому мозку і виконавчих органів, включаючи серце та судини.

Для підтримки структурної цілісності та функціональної активності серця за гіпометаболічних станів в тканинах міокарда мають відбуватися процеси, здатні їх компенсувати [18–22]. Останнім часом спостерігається суттєве підвищення попиту на лікарські препарати, в тому числі кардіопротекторної дії, від-

повідно й рослинного походження. Перевагами фітотерапевтичного методу є: фізіологічність, структурованість, запобігання або відсутність руйнації біологічних структур на молекулярному й клітинному рівнях, полівалентність фармакологічної дії, системність, ефективність та безпечність тривалого їх застосування, доступність, можливість взаємозаміни компонентів лікарських зборів і складання альтернативних рецептів. До таких засобів належать Кардіофіл та Фітохол [23, 24].

Метою дослідження було вивчення кардіопротекторної дії препаратів Кардіофіл та Фітохол за умов експериментальної гіпотермії у щурів.

Матеріал та методи. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах, самцях масою 200–220 г. Було сформовано контрольну та дослідну групи.

Під час виконання експериментальної частини досліджень, усі маніпуляції з тваринами проводили згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для наукових та експериментальних цілей», Страсбург, 1986 р., «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та дотриманням принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти.

Перед початком експерименту, тварин втримували на карантині. Для дослідів відбирали здорових щурів, які добре поїдали корм і мали нормальну рухливу активність. Тварини знаходились в однакових умовах годівлі та утримання. Тварин розділили на дві групи (5 у кожній): 1 група – контрольна, 2 група – дослідна. Тваринам дослідної групи індивідуально, внутрішньо вводили Кардіофіл у дозі 5 крапель, з невеликою кількістю води, за 30 хвилин до дачі корму, а через годину за такою ж схемою задавали Фітохол, 3 рази на добу. Тривалість спостереження становила три місяці.

Експериментально гіпотермію у щурів викликали шляхом обкладання тіла пакетом з дрібно-колотим льодом до ректальної температури 28 °С. Після досягнення необхідної температури холододу дію призупиняли і відігрівали тварин за кімнатної температури. Враховували поведінку, загибелі піддослідних тварин не спостерігали. Тварин після 12–14-годинного голодування, виводили з експерименту під інгаляційним наркозом севофлураном і проводили гістологічні дослідження, враховували зміни мітрального клапану, міокарда лівого шлуночка, аорти, міокарда правого шлуночка та стінки правого передсердя.

Для гістологічних досліджень у щурів відбирали серце, його вирізали в цілому вигляді зі збереженням судинного пучка. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні шляхом занурення у фіксаж у співвідношенні 1:10, впродовж 24 годин. Після відмивання фіксований матеріал зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та заливали парафіном. Отриманий матеріал товщиною 6–8 мкм фарбували гематоксиліном та еозином за загальноприйнятою методикою. За морфологічного дослідження візуально оцінювали стан гістологічних зразків тканини міокарда та клапанів (діаметр просвіту та кровонаповнення судин, стан переваскулярних та інтерстиціальних просторів, кардіоміоцитів та їх ядер). Дослідження та фотографування препаратів проводили на мікроскопі МЕІІ (Techno, Японія).

Результати дослідження. Протягом усього періоду спостережень, у тварин контрольної і дослідної груп як на початок, так і в кінці досліджень не було виявлено будь-яких відхилень від норми в стані і поведінці: щури були рухливими, активними, адекватно реагували на зовнішні подразники, повністю поїдали корм, волосяний покрив залишався чистим та сухим.

Аналізуючи гістологічну картину в міокарді тварин контрольної групи виявили наступні зміни: біля основи мітрального клапанного кільця виражений інтерстиціальний набряк міокарда, дрібновогнищева у вигляді ланцюжків лімфогістіоцитарна інфільтрація інтерстицію міокарда, дистрофія кардіоміоцитів (рис. 1), що вказує на дегенеративні зміни в клітинах, причинами якої є розлади крово- і лімфообігу, а також гіпоксія. В кардіоміоцитах спостерігали появу великої кількості ядер, що знаходяться на різних стадіях некробіоза, каріопікнозу (зморщування ядра, що супроводжується конденсацією хроматину, внаслідок втрати води), каріорексису (розпад клітинного ядра на частини) і каріолізису (повне розчинення ядра – останній етап некробіозу). Поява таких ядер є мікроскопічною ознакою некрозу. Крім цього у щурів контрольної групи встановлено фібриноїдне набухання стулки клапана, крововилив в основі клапана, набухання клітин клапанного ендокарда, підвищена клітинність сполучнотканинної строми клапана, набряк пристінкового ендокарда, волокон клапанного кільця. Отже, гіпометаболічні стани, для яких характерні тривалі періоди нерухомості, знижений ритм дихання і ЧСС, низька швидкість кровотоку в силу своєї специфічності мають сприяти активації прокоагуляційних процесів.

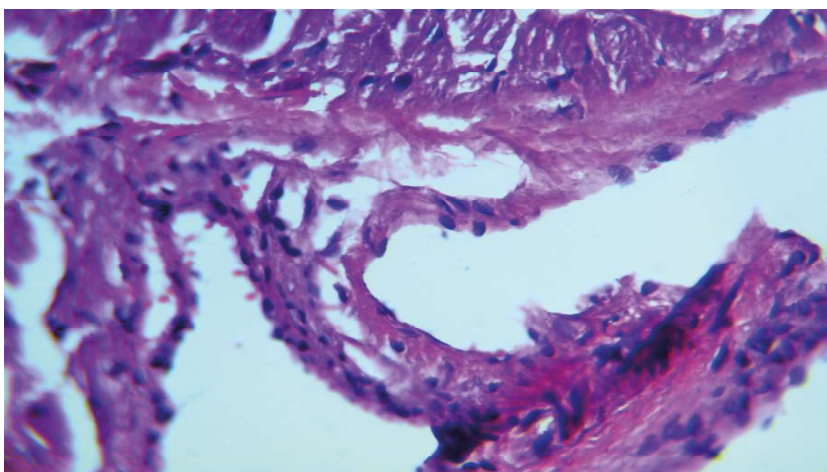


Рис. 1. Фібриноїдне набухання пристінкового ендокарду та стулки клапану.
Контрольна група (гематоксилін і еозин, x200).

Також в міокарді лівого шлуночка відмічали стаз крові в судинах, що може бути причиною зменшення кровотоку, інтерстиціальний набряк, вогнищево – пікноз ядер, каріорексис, каріолізис, дистрофію кардіоміоцитів, вогнищеву фрагментацію, зникнення поперечної смугастості (рис. 2).

За дослідження аорти у щурів контрольної групи відзначено мукоїдне набухання та дезорганізацію волокон, що свідчить про утворення у сполучній тканині глікозаміногліканів, глікопротеїдів та білків плазми крові. Мукоїдне набухання є початковою та поверхневою стадією дезорганізації сполучної тканини, цей процес носить зворотній характер. Відкладення ліпідів

у стінці, біля основи клапана, формування набутих клапанних вад може призвести до швидкої декомпенсації кровообігу та загибелі. В інших ділянках відмічається лімфогістіоцитарна інфільтрація прилеглої тканини міокарда і епікарда. Гістологічно відмічали мукоїдне та фібриноїдне набухання сполучнотканинної основи волокон аортального клапана та вогнищевий каріорексис (рис. 3).

За результатами мікроскопії правого шлуночка виявили гіпертрофію стінки, дистрофію кардіоміоцитів, каріопікноз. Зокрема, гістологічні зміни правого шлуночка аналогічні змінам лівого шлуночка.

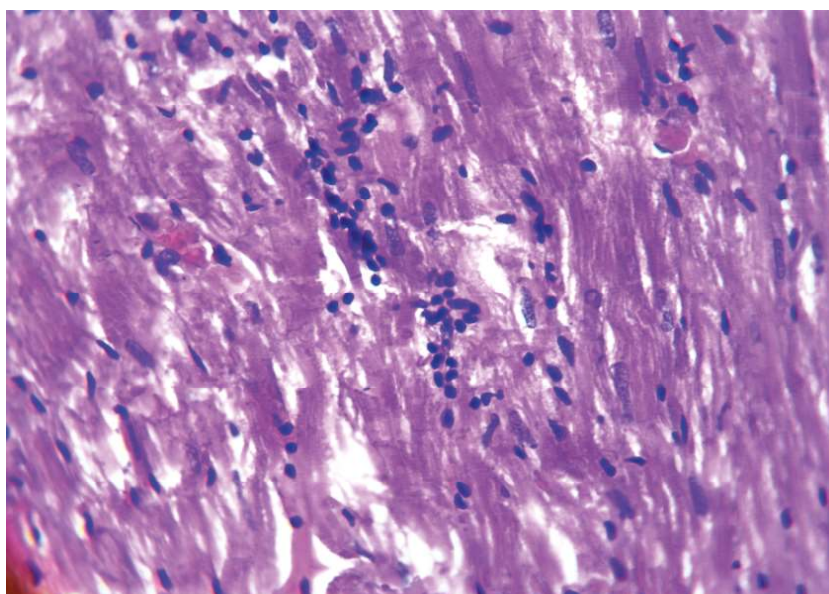


Рис. 2. Каріолізис, каріорексис, зникнення поперечної посмугованості кардіоміоцитів у міокарді щура контрольної групи (гематоксилін і еозин, x200).

Гістологічним дослідженням правого передсердя шурів контрольної групи встановлено: гіпертрофію стінки, стаз крові, периваскулярні крововиливи, інтерстиціальний набряк, лімфогістіоцитарну інфільтрацію, дистрофію кардіоміоцитів. Відмічали також вогнищеву фрагментацію волокон, зникнення поперечної смугастості, явища глибокого розпаду, каріопікнозу та лізису ядер, що можна розцінювати як ознаки некрозу (рис. 4).

За світлооптичного дослідження міокарда серця дослідної групи тварин вивчали зміни в мікропрепаратах правого передсердя, мітрального клапану, аорти та міокарда лівого шлуночка. Гістологічні зміни міокарда біля основи мітрального клапана у деяких тварин дослідної групи представлені незначним інтерстиціальним набряком, дрібновогнищцевою у вигляді ланцюгів лімфогістіоцитарною інфільтрацією міокарда. Відмічається набряк стулок мітрального клапана, мукоїдне набухання сполучнотканинної основи стулки клапана та

незначне набухання клітин клапанного ендокарда (рис. 5).

В міокарді лівого шлуночка відмічали стаз крові в судинах, інтерстиціальний набряк, поодинокі лімфогістіоцитарні інфільтрати в стромі, відсутність поперечної посмугованості (рис. 6).

За проведення дослідження аорти відмічали незначний набряк, фібриноїдне набухання волокон стінки, набряк адвентиції, інтерстиціальний набряк прилеглого міокарда. Зміни власне аортального клапана супроводжувалися незначним набряком сполучнотканинної основи та мукоїдним набуханням волокон (рис. 7).

Гістологічні зміни правого передсердя наступні: відмічали стаз крові в судинах, незначний інтерстиціальний набряк, вогнищеве зникнення поперечної помугованості (рис. 8).

Вважаємо, що попередження вказаних вище змін у шурів дослідної групи відбулося за рахунок того, що до складу фітопрепаратів Кардіофіл і Фітохол входять наступні рослини:

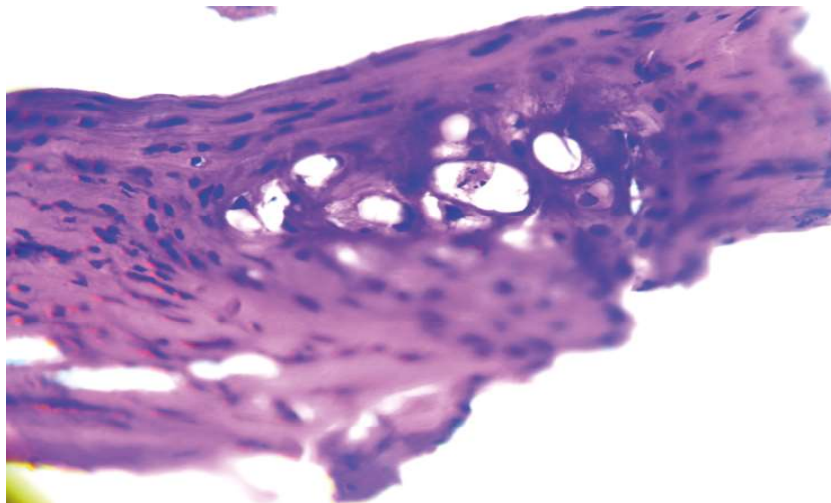


Рис. 3. Мукоїдне набухання волокон, відкладання ліпідів у стінці аорти (гематоксилін і еозин, x200).

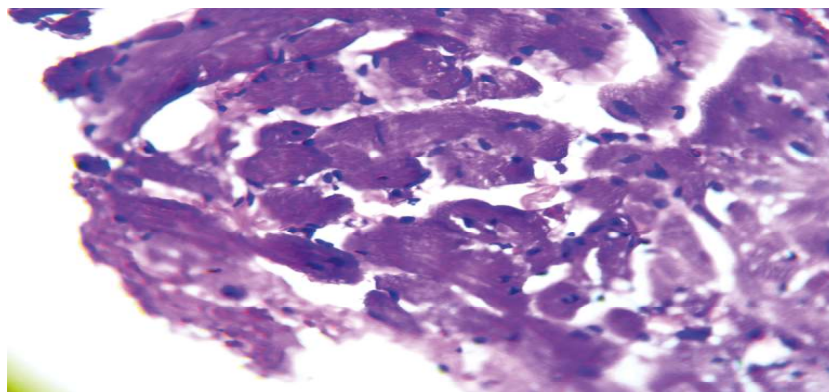


Рис. 4. Зміни правого передсердя у щура контрольної групи: виражений набряк інтерстиція, вогнищева гіперплазія волокон, дистрофія волокон, лізис частини ядер (гематоксилін і еозин, x200).

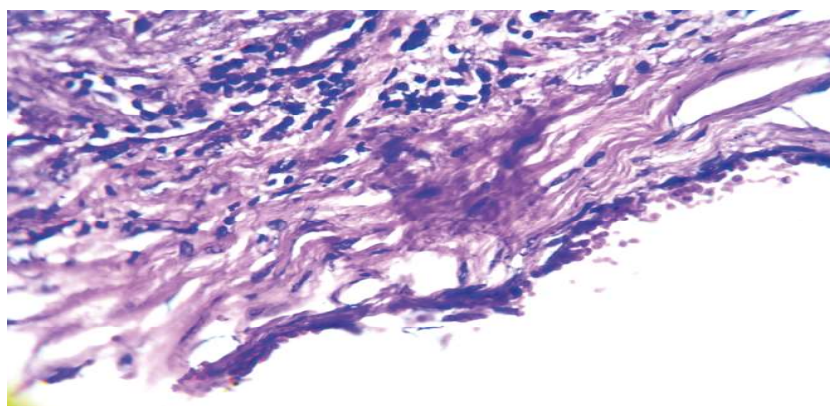


Рис. 5. Гістологічна картина мітрального клапана дослідної групи тварин: набухання волокон пристінкового ендокарда, лімфогістіоцитарна інфільтрація інтерстицію субендокардіальної частини міокарда (гематоксилін і еозин, x400).

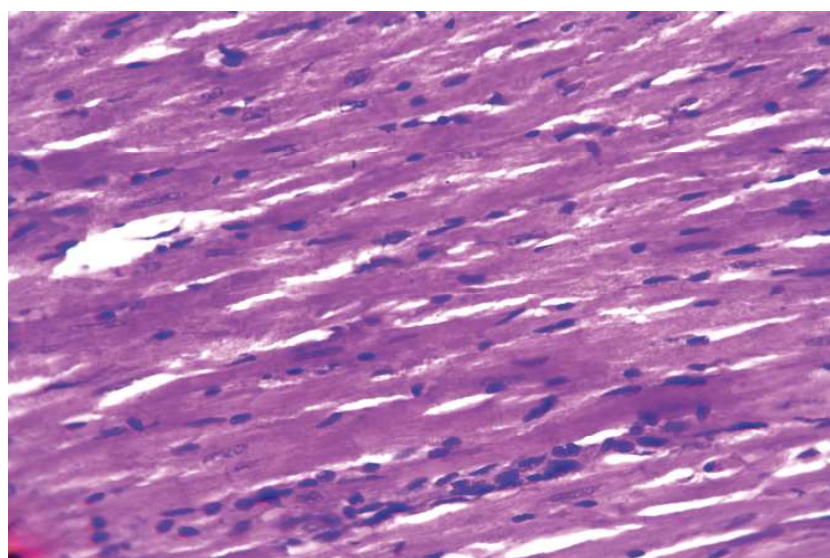


Рис. 6. Гістологічна картина міокарда лівого шлуночка щура дослідної групи: інтерстиціальний набряк, ланцюжки лімфоцитів в інтерстиції (гематоксилін і еозин, x100).

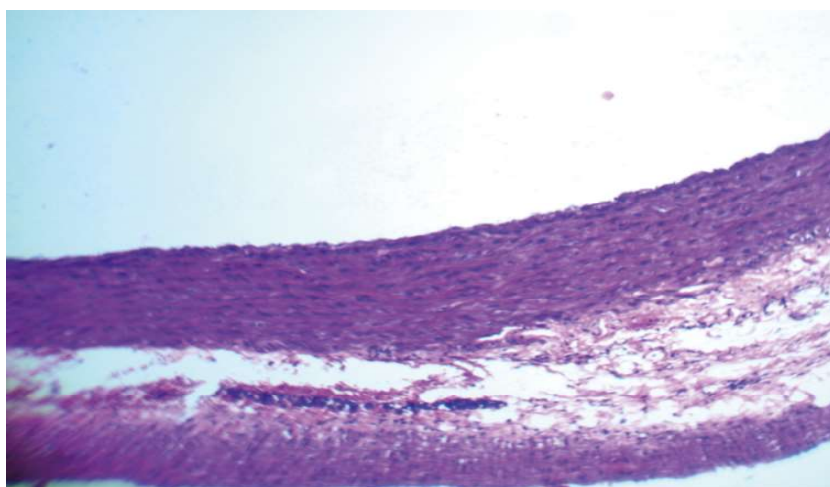


Рис. 7. Гістологічна картина аорти дослідної групи тварин: фібриноїдне набухання волокон стінки, вогнищева лімфогістіоцитарна інфільтрація в адвентиції (гематоксилін і еозин, x100).

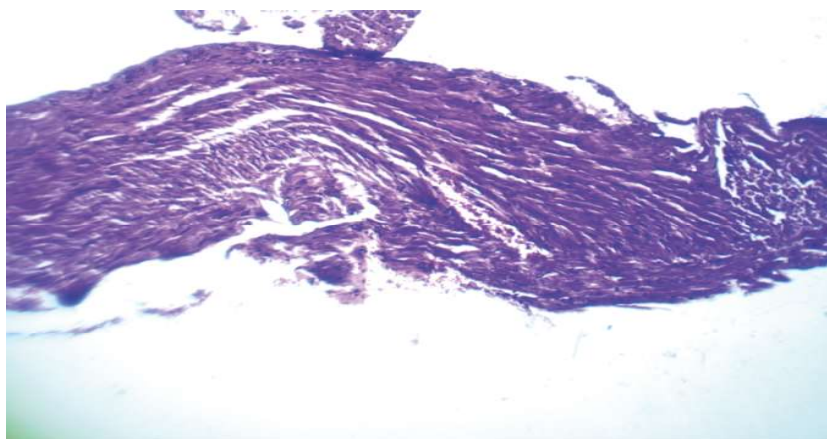


Рис. 8. Гістологічна картина правого передсердя щура дослідної групи тварин. Стаз крові в судинах, інтерстиціальний набряк (гематоксилін і еозин, x100).

криваво-червоний глід (плоди і квіти), суниця лісова, трава собачої кропиви, барвінка малого, грициків звичайних, кореневище валеріани лікарської, цмин піщаний, пижмо звичайне, м'ята перцева, беладона звичайна, які містять біологічно активні речовини – флаваноїди (рутин, літеолін) та дубильні речовини, ахини, сапоніни, органічні кислоти (фумарову, лимонну, яблучну і винну), аскорбінову кислоту, ефірні олії, сполуки калію, вітаміни К, В та інші, піктинові речовини, а також солі заліза, міді, мангану, кобальту, фосфору і кальцію. Тому фітопрепарати мають спазмолітичну, седативну, гіпотензивну, десенсибілізуючу, протизапальну, антидіуретичну, антиоксидантну, жовчогінну та сечогінну дію. Завдяки цьому знижується гіпертензія (кров'яний тиск), поліпшується функція кровотворної системи, відповідно покращується гемопоез, а також підвищується сила серцевих скорочень, розширюються венозні судини серця та головного мозку, нормалізується серцевий ритм, поліпшується метаболічні процеси в серцевому м'язі, крім того вони сприяють покращенню функції інших органів та систем (печінки, кровотворної та ендокринної систем, а також травного каналу).

Однак, треба відмітити, що дані гістологічні зміни спостерігалися у двох щурів дослідної групи, у інших таких змін не встановлено. Це, звичайно, зворотній процес, за якого некрозу кардіоміоцитів не визначено. Відповідні гістологічні зміни у щурів дослідної групи, ймовірно, були пов'язані з дією стрес-чинника – гіпотермією.

Описані вище структурні зміни міокарда та клапанного апарату, які були визначені,

домінували тільки у щурів контрольної групи. Виявлені структурні зміни, в подальшому, можуть призводити до порушень ритму серця та розвитку інфаркту міокарда, інших захворювань серцево-судинної системи.

Висновки. Встановлено, що експериментальна гіпотермія, як стрес-чинник призводить до перебудови шлуночків та передсердь серця, яка характеризується гіпертрофією, пошкодженням кардіоміоцитів, дистрофією та інфільтративними процесами, а також значними структурними змінами міокарда, що відмічалось у щурів контрольної групи.

Доведено, що застосування фітопрепаратів Кардіофіл та Фітохол, завдяки їх складовим та механізму дії, позитивно впливає на серцево-судинну систему, сприяє покращенню метаболічних процесів, зокрема в серцевому м'язі, і попереджує розвиток будь-яких перебудов шлуночків, передсердь, а також гіпертрофічні та дистрофічні зміни серця, не зумовлює при цьому негативних явищ, тобто фітопрепарати мають кардіопротекторну дію, що в подальшому надає можливість проводити дослідження в цьому напрямку.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Петрунь Л.М. Можливість корекції процесу перекисації в організмі щурів за умов холодового стресу. Проблеми кріобіології. 2008. №4. С. 541–543.
2. Ломако В.В., Шило А.В., Коваленко І.Ф. Структурно-функціональні зміни в тканинах серця гетеро- та гоміотермних тварин при штучному та природному гіпометаболізмі. Проблеми кріобіології та кріомедицини. 2016. №4. С. 308–321.

3. Бабаєва Г.Г. Перебіг експериментального некрозу міокарда при використанні екстракту кріоконсервованих фрагментів серця поросят: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.35. Х., 2016. 146 с.
4. Олійник Г.А. Патологія холодового шоку. Медицина неотложных состояний. 2013. №8 (55). С. 16–21.
5. Николаев В.М., Корякина Л.П., Федорова С.А. Влияние низких температур на перекисное окисление липидов в тканях экспериментальных животных. Достижения науки и техники АПК. 2018. Т. 32 №4. С. 62–64.
6. Биотехнологические принципы формирования экспериментального некроза миокарда / А. Г. Бабаева и др. Вестник неотложной и восстановительной медицины. 2012. № 1. С.11–15.
7. Разработка модели инфаркта миокарда в хроническом эксперименте у крыс / П. С. Большов и др. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. № 5. С. 52–53.
8. Philip R. Fox., David Sisson., Sydney N. Textbook of canine and feline cardiology: principles and clinical practice. 2nd ed. Philadelphia: W.B.SAUNDERS COMPANY.1999. 955 p.
9. Ames B.N., Cathcart R., Schwiers E., Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1981. № 11. P. 6858–6862.
10. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Ann. Rev. Plant. Biol. 2000. № 55. P. 373–399.
11. Biochemical indicators of blood of guinea pigs with atherosclerosis against the background of application of herbal preparations "Cardiofil" and "Phytochol". Biochemical indicators of blood of guinea pigs with atherosclerosis against the background of application of herbal preparations "Cardiofil" and "Phytochol" / P.P. Antonenko et al. Veterinary Science. Technologies of Animal Husbandry and Nature Management. 4. P. 5–11. Doi: <https://doi.org/10.31890/vtpp.2019.04.01>. <http://ojs.hdzva.edu.ua/index.php/journal>.
12. Effect of herbal feed additives on the quality of colostrum, immunological indicators of newborn calves blood and growth energy of young animals / V.S. Kozyr et al. Theoretical and Applied Veterinary Medicine. 2019. 7(3). P. 137–142. Doi: <https://doi.org/10.32819/2019.71024>.
13. Clinical-diagnostic criteria and peculiarities of treatment of urocystitis in cats / N.M. Shulzhenko et al. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 1(1). P. 26–31. Doi:<https://doi.org/10.15421/021904>.
14. Amran A.A., Zaiton Z., Faizah O., Morat P. Effects of *Garcinia atrovirens* on serum profiles and atherosclerotic lesions in the aorta of guinea pigs fed a high cholesterol diet. Singapore medical journal. 2009. 50(3). 295 p.
15. Constantinides P. Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. Circulation. 1995. 92(5). P. 1083–1083. Doi: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.92.5.1083>
16. Frei B. Cardiovascular disease and nutrient antioxidants: role of low-density lipoprotein oxidation. Critical Reviews in Food Science & Nutrition. 1995. 35(1–2). P. 83–98. Doi:<https://doi.org/10.1080/10408399509527689>
17. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. New England Journal of Medicine. 2005. 352(16). P. 1685–1695. Doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMra043430>
18. Hong Y. M. Atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. Korean circulation journal. 2010. 40(1). P. 1–9. Doi: <https://doi.org/10.4070/kcj.2010.40.1.1>
19. Mangathayaru K., Kuruvilla S., Balakrishna K., Venkatesh J. Modulatory effect of *Inula racemosa* Hook. f. (Asteraceae) on experimental atherosclerosis in guinea-pigs. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2009. 61(8). P. 1111–1118. Doi:<https://doi.org/10.1211/jpp.61.08.0016>
20. Nabel E.G., Braunwald E. A tale of coronary artery disease and myocardial infarction. New England Journal of Medicine. 2012. 366(1). P. 54–63. Doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1112570>
21. O'Donnell C.J., Nabel E.G. Genomics of cardiovascular disease. New England Journal of Medicine. 2011. 365(22). P. 2098–2109. Doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1105239>
22. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. New England journal of medicine. 1999. 340(2). P. 115–126. Doi: <https://doi.org/10.1056/NEJM199901143400207>
23. Shulzhenko N.M., Chernenko O.M., Holubyev O.V., Bordunova O.G., Suslova N.I. Clinical-diagnostic criteria and peculiarities of treatment of urocystitis in cats. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2019. 10(1). P. 26–31. Doi: <https://doi.org/10.15421/021904>
24. Tuttolomondo A., Di Raimondo D., Pecoraro R., Arnao V., Pinto A., Licata G. Atherosclerosis as an inflammatory disease. Current pharmaceutical design. 2012. 18(28). P. 4266–4288. Doi: <https://doi.org/10.2174/138161212802481237>

REFERENCES

1. Petrun, L.N. (2008). Mozhlyvist' korekcii' procesu peroksydatsii' v organizmi shhuriv za umov holodovogo stresu [The possibility of correction of the process of peroxidation in the body of rats under conditions of cold stress]. Problemy kriobiologii' [Problems of cryobiology]. no. 4, pp. 541–543.
2. Lomako, V.V., Shiloh, A.V., Kovalenko, I.F. (2016). Strukturno-funkcional'ni zminy v tkanyah serca heterota gomojotermnyh tvaryn pry shuchnomu ta pryrodnomu gipometabolizmi [Structural-functional changes in the tissues of the heart of hetero- and homoothermic animals in artificial and natural hypometabolism]. Problemy kriobiologii' ta kriomedycyny [Problems of cryobiology and cryomedicine]. no. 4, pp. 308–321.
3. Babayeva, G.G. (2016). Perebig eksperymental'nogo nekrozu miokarda pry vykorystanni ekstraktu kriokonservovanyh fragmentiv serca porosyat: dys. ... kand. med. nauk: 14.01.35. [The course of experimental myocardial necrosis when using the extract of cryopreserved pig heart fragments: dissertation of the candidate of medical sciences: 14.01.35]. H., 146 p.
4. Oilseed G.A. (2013). Patofiziologija holodovogo shoku [Pathophysiology of cold shock]. Medicina neotlozhnyh sostojanij [Emergency medicine]. no. 8 (55), pp. 16–21.
5. Nikolaev, V.M. Koryakina, L.P., Fedorova, S.A. (2018). Vlijanie nizkih temperatur na perekisne okislenie lipidov v tkanjah jeksperimental'nyh zhivotnyh [The effect of low temperatures on lipid peroxidation in the tissues of experimental animals]. Dostizhenija nauki i tehniki APK [Achievements of science and technology of agroindustrial complex]. Vol. 32, no. 4, pp. 62–64.

6. Babayeva, A.G., Shkand, T.V., Chizh, N.A. (2012). Biotechnologicheskie principy formirovaniya jeksperimental'nogo nekroza miokarda [Biotechnological principles for the formation of experimental myocardial necrosis]. *Vesnik neotlozhnoj i vosstanovitel'noj mediciny* [Bulletin of emergency and restorative medicine]. 13, no.1, pp.11–15.
7. Bolshev, P.S., Chizhmak, A.O., Mul'sky, S.V. (2015). Razrabotka modeli infarkta miokarda v hronicheskom jeksperimente u kry's [Development of a model of myocardial infarction in a chronic experiment in rats]. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij* [International Journal of Applied and Fundamental Research]. no. 5, pp. 52–53.
8. Philip, R. Fox., David, Sisson., Sydney, N. (1999). *Textbook of canine and feline cardiology: principles and clinical practice*. [2nd ed.]. Philadelphia: W.B.SAUNDERS COMPANY, 955 p.
9. Ames, B.N., Cathcart, R., Schwiers, E., Hochstein, P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. no. 11, pp. 6858–6862.
10. Apel, K., Hirt, H. (2000). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Ann. Rev. Plant. Biol.* no. 55, pp. 373–399.
11. Antonenko, P.P., Suslova, N.I., Shulzhenko, N.M., Semyonov, O.V., Shkvaria, M.M., Lysenko, A.I. Biochemical indicators of blood of guinea pigs with atherosclerosis against the background of application of herbal preparations "Cardiofil" and "Phytochol". Biochemical indicators of blood of guinea pigs with atherosclerosis against the background of application of herbal preparations "Cardiofil" and "Phytochol". *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*. 4, pp. 5–11. Available at: <https://doi.org/10.31890/vtpp.2019.04.01>. <http://ojs.hdzva.edu.ua/index.php/journal>.
12. Kozyr, V. S., Antonenko, P.P., Mylostyvyi, R. V., Suslova, N. I., Skliarov, P. M., Reshetnychenko, O. P., Pushkar, T. D., Sapronova, V. O., Pokhyl, O. M. (2019). Effect of herbal feed additives on the quality of colostrum, immunological indicators of newborn calves blood and growth energy of young animals. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 7(3), pp. 137–142. Available at: <https://doi.org/10.32819/2019.71024>.
13. Shulzhenko, N.M., Chernenko, O.M., Holubyev, O.V., Bordunova, O.G., Suslova, N.I. Clinical-diagnostic criteria and peculiarities of treatment of urocystitis in cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 1(1), pp. 26–31. Available at: <https://doi.org/10.15421/021904>.
14. Amran, A. A., Zaiton, Z., Faizah, O., Morat, P. (2009). Effects of *Garcinia atroviridis* on serum profiles and atherosclerotic lesions in the aorta of guinea pigs fed a high cholesterol diet. *Singapore medical journal*. 50(3), 295 p.
15. Constantinides, P. (1995). Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction. *Circulation*. 92(5), pp. 1083–1083. Available at: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.92.5.1083>
16. Frei, B. (1995). Cardiovascular disease and nutrient antioxidants: role of low-density lipoprotein oxidation. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. 35(1–2), pp. 83–98. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408399509527689>
17. Hansson, G.K. (2005). Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*. 352(16), pp. 1685–1695. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMra043430>
18. Hong, Y.M. (2010). Atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. *Korean circulation journal*. 40(1), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.4070/kcj.2010.40.1.1>
19. Mangathayaru, K., Kuruvilla, S., Balakrishna, K., Venkatesh, J. (2009). Modulatory effect of *Inula racemosa* Hook. f.(Asteraceae) on experimental atherosclerosis in guinea-pigs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 61(8), pp. 1111–1118. Available at: <https://doi.org/10.1211/jpp.61.08.0016>
20. Nabel, E.G., Braunwald, E. (2012). A tale of coronary artery disease and myocardial infarction. *New England Journal of Medicine*. 366(1), pp. 54–63. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1112570>
21. O'Donnell, C.J., Nabel, E.G. (2011). Genomics of cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*. 365(22), pp. 2098–2109. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1105239>
22. Ross, R. (1999). Atherosclerosis – an inflammatory disease. *New England journal of medicine*. 340(2), pp. 115–126. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJM199901143400207>
23. Shulzhenko, N.M., Chernenko, O.M., Holubyev, O.V., Bordunova, O.G., Suslova, N.I. (2019). Clinical-diagnostic criteria and peculiarities of treatment of urocystitis in cats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 10(1), pp. 26–31. Available at: <https://doi.org/10.15421/021904>
24. Tuttolomondo, A., Di Raimondo, D., Pecoraro, R., Arnao, V., Pinto, A., Licata, G. (2012). Atherosclerosis as an inflammatory disease. *Current pharmaceutical design*. 18(28), pp. 4266–4288. Available at: <https://doi.org/10.2174/138161212802481237>

Кардиопротекторное действие препаратов Кардиофил и Фитохол в условиях экспериментальной гипотермии у крыс

Антоненко П.П., Суслова Н.И., Семёнов А.В., Лысенко А.И.

Сегодня заболевания сердечно-сосудистой системы у мелких животных занимают от 15 до 18 %. Чаще всего причиной этих заболеваний у животных является снижение сократительной способности миокарда.

Приведены результаты экспериментальных исследований по изучению эффективности препаратов Кардиофил и Фитохол при патологиях сердца у крыс. Гистологические исследования доказывают, что при ишемии происходит гибель кардиомиоцитов, с последующим замещением соединительной тканью. В результате, к процессу ремоделирования сердечной ткани вовлекается не только поврежденная зона, а и здоровый миокард. Необратимая деструкция кардиомиоцитов и сосудистых структур приводит к нарушению функции сердца, сердечной недостаточности и развитию аритмий. Установлено, что применение препаратов Кардиофил и Фитохол способствует предупреждению вышеуказанных изменений, то есть профилактирует сердечно-сосудистые заболевания у животных.

Для проведения экспериментальных исследований были сформированы контрольная и опытная группы крыс

в возрасте 12 месяцев и весом 220 г по 7 животных в каждой. Все животные находились в одинаковых условиях (кормление и содержание). Крысам опытной группы индивидуально внутрь задавали фитопрепараты Кардиофил за 30 мин до кормления в дозе 5 капель, а через час – Фитохол с небольшим количеством воды 3 раза в сутки в течение 90 суток. На 91 сутки эксперимента вызвали гипотермию у животных, как стресс-фактор, по указанной методике.

В течение исследования за крысами велось наблюдение, при котором учитывали общее состояние, поведение, реакцию на внешние раздражители, состояние шерстного покрова. После 12–14-часового голодания на 91 сутки животных выводили из эксперимента общепринятым методом (газовым наркозом). Отбирали материал и проводили гистологическое исследование по указанной методике. В течение всего периода экспериментальных исследований у крыс контрольной и опытной группы не было выявлено каких-либо отклонений от нормы: общего состояния, поведения, крысы были подвижными, активными, адекватно реагировали на внешние раздражители, охотно принимали корм, волосяной покров оставался чистым и сухим.

Выявленные гистологические изменения, по нашему мнению, могут отображать различные фазы функциональной активности сердца, а также структурных и метаболических процессов, которые происходили в тканях миокарда и клапанного аппарата крыс под действием стресс-фактора – гипотермического состояния.

Экспериментальными исследованиями доказано, что применение фитопрепаратов Кардиофил и Фитохол с профилактической целью, положительно влияет на функцию сердечно-сосудистой системы, в частности миокарда, что указывает на их кардиопротекторное действие, и соответственно профилактирует сердечно-сосудистые заболевания у животных.

Ключевые слова: сердечно-сосудистые заболевания, стресс, кардиопротекторное действие, миокард, гипотермия, Кардиофил, Фитохол, крысы.

Cardioprotective effect of cardiophilic and phytochol preparations under experimental hypothermia hypothermia in rats

Antonenko P., Suslova N., Semenov A., Lysenko A.

At present, diseases of the cardiovascular system in small animals range from 15 to 18%. The most common cause of cardiovascular disease in animals is a decrease in myocardial contractile properties.

The results of experimental research to study the efficacy of «Cardiophil» and «Phytochol» for heart disease in rats are presented. Histological examinations prove that cardiac myocytes are killed by ischemia, with subsequent replacement of connective tissue. As a result, not only the damaged area but also a healthy myocardium is involved in the process of cardiac tissue remodeling. Irreversible damage to cardiomyocytes and vascular structures leads to impaired cardiac function, heart failure and the development of arrhythmias. It is established that the use of drugs «Cardiophil» and «Phytochol» promotes the prevention of the above changes, i.e. prevents cardiovascular diseases, in particular myocardium in animals.

For the purpose of experimental studies, a control and experimental group of rats 12 months of age and weighing 220g of 5 animals each were formed. All animals were in the same feeding and keeping conditions. The rats of the study group were individually internally given phytopreparations «Cardiophil» 30 min before feeding at a dose of 5 drops, and in an hour «Phytochol» with a small amount of water 3 times a day for 90 days. At day 91 of the experiment, hypothermia was induced in animals as a stress factor, according to the indicated method.

Throughout the study, rats were monitored, taking into account the general condition, behavior, response to external stimuli, and the condition of the hair. After 12–14 hours of fasting for 91 days, the animals were removed from the experiment by the conventional method (gas anesthesia). Material was selected and histological examination was performed according to the indicated method. During the whole period of the experimental studies, no deviations from the norm were found in the rats of the control and experimental group: general condition, behavior, rats were mobile, active, adequately responded to external stimuli, readily received feed, and the hair was clean and dry.

The histological changes established, in our opinion, may reflect different phases of the functional activity of the heart, as well as structural alterations and metabolic phenomena that occurred in the tissues of the myocardium and the valve apparatus of rats under the action of a stress factor – a hypothermic state.

Experimental studies have shown that the use of phytopreparations «Cardiophil» and «Phytochol» for preventive purposes positively affects the function of the cardiovascular system, in particular myocardium, which indicates their cardioprotective effect, and accordingly prevent cardiovascular diseases of animals.

Key words: cardiovascular diseases, stress, cardioprotective effect, myocardium, hypothermia, Cardiophil, Phytochol, rats.



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



Антоненко П.П.
Суслова Н.І.
Семьонов О.В.
Лисенко А.І.

ID <https://orcid.org/0000-0003-1469-0121>
ID <https://orcid.org/0000-0001-9500-9224>
ID <https://orcid.org/0000-0002-8562-4108>
ID <https://orcid.org/0000-0002-2515-3500>

ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК 619:616:41:636.12:611.4

Співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят у постнатальний період розвитку

Анфьорова М.В., Брошков М.М., Данчук О.В.

Одеський державний аграрний університет

✉ Брошков М.М. mr_m_m@ukr.net, Данчук О.В. olexdan@ukr.net



Анфьорова М.В., Брошков М.М., Данчук О.В. Співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят у постнатальний період розвитку. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 81–87.

Anforova M.V., Broshkov M.M., Danchuk O.V. Spivvidnoshennja populjacij erythrocytiv u krovі cudenjat u postnatal'nyj period rozvytku. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2019. № 2. PP. 81–87.

Рукопис отримано: 06.10.2019р.
Прийнято: 02.11.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-81-87

У статті наведено нові наукові дані щодо співвідношення популяцій еритроцитів у цуценят службових порід у постнатальний період. Встановлено, що у однодобових цуценят кількість еритроцитів у крові становить $5,64 \pm 0,12$ Т/л, причому половина з них належала до популяції «зрілих», 40 % – «молодих» і 10 % – «старих» клітин. При цьому в них уміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у гемолізатах еритроцитів досить високий, що, напевно, свідчить про розвиток постнатального оксидативного стресу. Так, концентрація крові дієнових кон'югатів, кетодієнів і основ Шиффа становить відповідно $1,406 \pm 0,023$; $0,676 \pm 0,004$ та $0,135 \pm 0,003$ ум. од. У період 1–5-добового віку цуценят відбувається зменшення кількості еритроцитів у крові в 1,5 раза ($p < 0,001$) за рахунок зменшення кількості «зрілих» клітин (у 1,6 раза; $p < 0,001$). Інтенсивність перекисного окиснення у організмі цуценят навіть через місяць після народження відносно висока, про що свідчить концентрація в еритроцитах крові основ Шиффа – $0,185 \pm 0,002$ ум. од. Встановлено обернені кореляційні зв'язки вмісту основ Шиффа у еритроцитах з їх кількістю у кров'яному руслі – $r = -0,83$ ($p < 0,001$). Слід також відмітити прямі кореляційні зв'язки вмісту дієнових кон'югантів з кількістю еритроцитів у крові цуценят ($r = 0,58$ $p < 0,05$), причому вміст кетодієнів і парних триєнів обернено пов'язаний з вмістом «молодих» еритроїдних клітин у крові цуценят ($r = -0,57$ $p < 0,05$). Отже, внаслідок постнатальної адаптації цуценят проходить заміна еритроцитів плода на постнатальні клітини. Цей процес пов'язаний з інтенсифікацією перекисного окиснення і накопиченням у клітинах кінцевих продуктів пероксидації, що супроводжується посиленням процесу «старіння» молодих форм еритроцитів, внаслідок чого створюються передумови до розвитку анемії.

Ключові слова: еритроцити, оксидативний стрес, цуценята, основи Шиффа, кетодієни, дієнові кон'югати.

Постановка проблеми. Одразу після народження в організм надходить значна кількість Оксигену, що викликає стрімку інтенсифікацію окисно-відновних реакцій, тому новонароджені особливо схильні до оксидативного стресу [1]. Попри підвищену концентрацію Оксигену в їх крові, причинами розвитку цього стану є зниження активності антиоксидантної системи, високий уміст вільного Феруму (підсилює утворення вільних радикалів), різноманітні інфекції, запалення тощо [2]. Оксидативний стрес, зумовлений дисбалансом між прооксидантними та антиоксидантними

силами, призводить до інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів та накопичення в організмі токсичних проміжних і кінцевих продуктів пероксидації [1–5]. Розвиток постнатального оксидативного стресу в новонароджених ссавців є фізіологічним процесом і запускає ряд адаптаційних реакцій. З'ясовано, що вільні радикали беруть участь у перивентрикулярній лейкомаляції [3–7] та певною мірою регулюють легеневий кровообіг [8]. Крім цього, активні форми Оксигену забезпечують низку фізіологічних функцій від фагоцитозу, мітозу та апоптозу клітин до синтезу біологічно актив-

них речовин та ротації ліпідно-протеїнового складу плазмолемі клітин [1].

Відомо [8], що функціональні властивості еритроцитів залежать від характеристик мембранних компонентів клітини та їх розподілу між двома бішарами. Причому, однією з основних умов забезпечення виконання їх функцій є стабільність ліпідної фази [9]. Ліпіди плазмолемі еритроцитів надзвичайно чутливі до вільнорадикальної модифікації, а тому оцінка показників, що характеризують рівень пероксидного окиснення ліпідів у еритроцитах свідчить про функціональні зміни не тільки оксигено-транспортної функції, але й усього організму загалом [9–10].

Еритроцити крові складаються із різновікових популяцій, які за фракціонування у градієнті густини сахарози розшаровуються на “молоді”, “зрілі” і “старі” клітини. Ця здатність клітин визначається не лише їх віком, але й характеризує їх функціональний стан [9]. Співвідношення популяцій еритроцитів залежить від віку тварин, статі, фізіологічного стану та інших численних чинників. Поряд з цим є певна інформація щодо популяційного складу червоної крові у собак різного віку, породи та фізіологічного стану [10], однак інформація стосовно популяційного їх складу в період постнатальної адаптації та зв'язку з інтенсивністю пероксидного окиснення ліпідів у організмі тварин відсутня.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

За постнатального оксидативного стресу спостерігається збільшення генерації активних форм Оксигену поряд із низькою ефективністю природних антиоксидантних систем, особливо у недоношених [3, 5], відбувається наростання деструктивних процесів. У плазмі новонароджених виявлено високий уміст продуктів радикальної модифікації білків та ліпідів [7]. За певних умов це може супроводжуватись проявом ряду патологічних станів, які O.D. Saugstad [3] об'єднує у «киснево-радикальні захворювання неонатології». Відмічено, що розвиток оксидативного стресу справляє певний вплив на функції окремих органів і навіть систем. Причому, клінічні ознаки залежать від того, яка система уражена більшою мірою. Так, до цих порушень неонатального періоду відносять бронхолегеневу дисплазію, ретинопатію недоношеності та некротизуючий ентероколіт. Вільні радикали і пов'язані з ними молекулярні пошкодження є критичними компонентами декількох захворювань новонароджених [3, 5, 11–14]. Водночас низький рівень у цуценят активності як специфічної, так і неспецифічної ланки імунного захисту [15–16], поряд із стресом

совим станом істотно зменшує резистентність організму.

Порівняно зі дорослими тваринами, у новонароджених достовірно менші рівні антиоксидантів, таких як токоферол, ретинол, β -каротин, мелатонін, церулоплазмін та трансферин, поряд із меншою активністю ензимів системи антиоксидантного захисту (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза та ін.) створюють передумови для інтенсифікації вільнорадикальних реакцій в організмі [3–5]. Вони можуть спричинювати пошкодження біологічних молекул, що призводить до порушення функціональних властивостей та загибелі клітин [1]. Розвиток постнатального оксидативного стресу у свиней супроводжується накопиченням у крові продуктів пероксидації навіть за відносно високої активності системи антиоксидантного захисту [17]. Вторинні продукти пероксидації, такі як малоновий діальдегід, дієнові та триєнові кон'югати, токсичні для організму, тому вони знешкоджуються шляхом взаємодії із аміногрупами різних органічних сполук з утворенням основ Шиффа [18].

Отже, актуальним напрямом досліджень є визначення співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят у постнатальний період розвитку та встановлення його залежності від умісту продуктів пероксидації ліпідів у цих клітинах.

Мета дослідження – визначити співвідношення популяцій еритроцитів у крові цуценят та вплив на нього інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводили на клінічно здорових новонароджених цуценятах різної статі, отриманих від сук службових порід 2–3-річного віку. Усього для досліджень було підібрано 20 цуценят від 5 сук аналогів за масою тіла. Матеріалом для досліджень була кров цуценят отримана з яремної вени у одно-, п'яти- та тридцятидобовому віці. У крові тварин визначали кількість еритроцитів (пробірковий метод), їх популяційний склад – методом фракціонування у градієнті густини сахарози за І.Сизовою [19]. Крім цього, у гемолізатах еритроцитів визначали вміст дієнових кон'югатів, кетодієнів і спарених триєнів та основ Шиффа – спектрофотометричним методом [19], принцип якого базується на тому, що процес пероксидного окиснення ліпідів супроводжується переорієнтацією подвійних зв'язків із виникненням специфічних оптичних властивостей. При чому максимум поглинання за 232 нм мають дієнові кон'югати, 273 нм – кетодієни і парні триєни та 400 нм – основи Шиффа.

Одержані цифрові дані опрацьовували статистично: визначали середньоарифметичну величину (M), середньоквадратичну помилку (m) і вірогідність різниці (p) між досліджуваними показниками за критерієм Стюдента. Коефіцієнт кореляції (r) розраховували методом Пірсона за допомогою прикладного програмного комплексу «Microsoft Office Excel 2016».

Результати дослідження. Аналіз отриманих результатів свідчить, що у однодобових цуценят кількість еритроцитів у крові становила $5,64 \pm 0,12$ Т/л, що знаходиться у фізіологічних межах. Половина цих клітин належала до популяції «зрілих» клітин, майже 40 % – «молоді» і лише 10 % – «старі» (табл. 1). Крім цього слід відмітити, у однодобових цуценят, унаслідок розвитку постнатального оксидативного стресу, виявився високим уміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у гемолізатах еритроцитів. Так, показники дієнових кон'югатів, кетодієнів та основ Шиффа становили відповідно $1,406 \pm 0,023$; $0,676 \pm 0,004$ та $0,135 \pm 0,003$ ум. од.

З одно- до п'ятидобового віку цуценят відбувається зменшення кількості еритроцитів у крові в 1,53 раза ($p < 0,001$). Причому, кількість

молодих форм збільшується недостовірно, тоді як «зрілих» – зменшується у 1,6 раза ($p < 0,001$). Надалі до тридцятидобового віку цуценят у їх крові кількість еритроцитів збільшується лише на 10 % ($p < 0,05$), і становить $4,04 \pm 0,15$ Т/л (лім – 3,0–4,6 Т/л). Більше 60 % цих клітин належать до «зрілих» еритроцитів, а кількість «молодих» клітин у 3 рази менша від «зрілих» ($p < 0,001$). Інтенсивність перекисного окиснення у цуценят місячного віку досить висока, на що вказує вміст основ Шиффа у еритроцитах крові тварин – $0,185 \pm 0,002$ ум. од.

Встановлено обернені кореляційні зв'язки вмісту основ Шиффа в еритроцитах з їх кількістю у кров'яному руслі – $r = -0,83$ ($p < 0,001$). Якщо оцінювати ці зв'язки через призму популяційного складу клітин, то потрібно відмітити, що вони достовірні лише у «старих» форм та змінюють свій напрямок – $r = 0,83$ ($p < 0,001$). Таким чином, можемо достовірно стверджувати, що до 53 % варіацій кількості «старих» еритроцитів у крові і до 73 % варіацій загальної кількості еритроцитів у крові цуценят першого місяця життя залежать від рівня основ Шиффа в цих клітинах (табл. 2).

Таблиця 1 – Динаміка показників еритроцитів крові цуценят протягом першого місяця життя ($M \pm m$; $n=5$)

Показник		Вік цуценят		
		1-добові	5-добові	30-добові
Популяційний склад еритроїдних клітин				
Кількість еритроцитів, Т/л		$5,64 \pm 0,12$	$3,68 \pm 0,11^{***}$	$4,04 \pm 0,15^*$
Популяція, %	«молоді»	$39,6 \pm 1,0$	$42,8 \pm 2,4$	$18,4 \pm 1,3^{***}$
	«зрілі»	$50,0 \pm 1,1$	$31,6 \pm 2,9^{***}$	$63,0 \pm 1,0^{***}$
	«старі»	$10,4 \pm 0,9$	$25,6 \pm 1,7^{***}$	$18,6 \pm 1,1^{***}$
Інтенсивність ПОЛ у еритроцитах				
Дієнові кон'югати, E_{232}/E_{220}		$1,406 \pm 0,023$	$1,182 \pm 0,018^{***}$	$1,149 \pm 0,020$
Кетодієни і спарені триєни, E_{278}/E_{220}		$0,676 \pm 0,004$	$0,615 \pm 0,019^{***}$	$0,725 \pm 0,021^{***}$
Основи Шиффа, E_{400}/E_{220}		$0,135 \pm 0,003$	$0,204 \pm 0,003^{***}$	$0,185 \pm 0,002^{***}$

Примітка: Тут і надалі вірогідність різниці з попереднім етапом досліджень: $p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$; $p < 0,001^{***}$.

Таблиця 2 – Кореляційні зв'язки популяційного складу еритроцитів з інтенсивністю перекисного окиснення ліпідів у їх гемолізаті (r ; $n=15$)

Показник		Дієнові кон'югати, E_{232}/E_{220}		Кетодієни і парні триєни, E_{278}/E_{220}		Основи Шиффа, E_{400}/E_{220}	
		r	D	r	D	r	D
К-ть еритроцитів, Т/л		0,58*	0,33*	-0,02	0,00	-0,85***	0,73***
Популяція, %	«молоді»	0,25	0,06	-0,57*	0,33*	-0,20	0,04
	«зрілі»	0,08	0,01	0,49	0,24	-0,22	0,05
	«старі»	-0,54*	0,29	0,00	0,00	0,73***	0,53***

Слід також відмітити прямі кореляційні зв'язки вмісту дієнових кон'югантів у крові цуценят з кількістю еритроцитів у їх крові ($r=0,58$ $p<0,05$), причому вони обернені з вмістом «старих» клітин ($r=-0,54$ $p<0,05$), а вміст кетодієнів і спарених триєнів обернено пов'язаний з вмістом «молодих» еритроїдних клітин у крові цуценят ($r=-0,57$ $p<0,05$).

Обговорення. З першим подихом повітря в організмі новонароджених значно зростає парціальний тиск Оксигену, що супроводжується суттєвою інтенсифікацією метаболізму [5]. З одного боку, це запускає низку адаптаційних реакцій, що забезпечують існування індивідуума у нових умовах, а з іншого, збільшується генерація активних форм Оксигену в дихальному ланцюзі мітохондрій, що супроводжується інтенсифікацією пероксидного окиснення ліпідів у організмі новонароджених тварин [1].

Відомо [9], що протягом перших тижнів, і навіть місяців життя у організмі новонароджених ссавців відбувається заміна фетального HbF на нормальний HbA [21, 22]. Трансформація форми еритроцитів та «старіння» еритроцитів плода в постнатальний період супроводжуються структурною модифікацією мембран, що ініціює зміну її антигенних детермінант, і розпізнаванням старих еритроцитів макрофагами. Причому, в цьому випадку зміна фізичних властивостей клітинної мембрани має вільнорадикальний прояв. Так, збільшення кількості «старих» еритроїдних клітин в крові цуценят до п'ятидобового віку життя майже у 2,5 рази ($p<0,001$) супроводжується збільшенням у гемолізаті еритроцитів вмісту кінцевих продуктів пероксидації – основ Шиффа (у 1,52 рази; $p<0,001$), які накопичуються у клітинних мембранах.

Загалом, внаслідок розвитку постнатального оксидантного стресу в цуценят до п'ятидобового віку відбувається зменшення кількості еритроцитів у крові (у 1,53 рази; $p<0,001$). Цей процес відбувається за рахунок прискореного старіння еритроцитів, оскільки кількість молодих форм збільшується у межах тенденції, а «зрілих» – зменшується достовірно (у 1,6 рази; $p<0,001$). Це узгоджується із даними [9], які вказують на те, що термін життя еритроцитів у кров'яному руслі новонароджених становить близько 12 діб.

Хоча продукти пероксидного окиснення ліпідів у помірних концентраціях є нормальними метаболітами обміну речовин і необхідні для ряду фізіологічних механізмів гомеостазу, однак за надмірного накопичення їх у організмі вони проявляють свою токсичну дію [14]. Основи Шиффа є продуктами взаємодії вторин-

них продуктів пероксидного окиснення ліпідів з аміновмісними сполуками [17, 18]. Вони здатні накопичуватись на еритроїдних мембранах, що їх дестабілізує і сприяє деструкції клітин. Виявлені обернені кореляційні зв'язки вмісту основ Шиффа з кількістю у кров'яному руслі еритроцитів ($p<0,001$) вказують на те, що однією з основних причин порушення функцій мембран є їх вільнорадикальна модифікація. На підтвердження цього слід відмітити, що серед усіх популяцій еритроцитів, уміст основ Шиффа достовірно пов'язаний лише з кількістю «старих» форм клітин ($p<0,001$).

Протягом фізіологічної постнатальної адаптації з п'яти- до тридцятидобового віку цуценят у їх крові кількість еритроцитів збільшується лише на 10 % ($p<0,05$). Хоча більше 60 % цих клітин належать до «зрілих» еритроцитів, створюються передумови для розвитку анемії, оскільки кількість «молодих» клітин у 3 рази менша від «зрілих» ($p<0,001$), а інтенсивність пероксидного окиснення у цих клітинах все ще висока, на що вказує накопичення у них кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів – основ Шиффа ($0,185\pm0,002$ ум. од.).

Ймовірно, що антиоксидантна терапія може бути корисною для корекції стану цуценят, пов'язаного з оксидантним стресом, але для визначення найбільш ефективної антиоксидантної терапії необхідні подальші дослідження. Крім цього, застосування різних сполук Феруму для попередження анемії теоретично може стимулювати утворення вільних радикалів, що прискорять старіння червоних клітин крові і матиме обернений ефект щодо очікуваного. Таким чином, розробка нових і сучасних методів та способів профілактики постнатальної анемії цуценят із застосуванням природних антиоксидантів різного походження є актуальним завданням сучасної ветеринарії.

Висновки. Отже, в період постнатальної адаптації цуценят відбувається заміна еритроцитів плода на постнатальні клітини, причому цей процес пов'язаний з інтенсифікацією пероксидного окиснення ліпідів у цих клітинах і накопиченням у них кінцевих продуктів пероксидації. Це супроводжується прискоренням процесу «старіння» молодих форм еритроцитів, внаслідок чого створюються передумови до розвитку анемії.

Відомості про дотримання етичних норм. Експериментальні дослідження проведені із дотриманням вимог Закону України № 3447 – IV від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» та узгоджуються з основними принципами «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що ви-

користовуються 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 статті стверджують про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Данчук В. В., Данчук О. В., Цепко Н.Л. Оксидативний стрес – патологія чи адаптація? Тваринництво України. 2004. № 4. С. 21–23.
2. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1999. Vol. 344. P. 721–724.
3. Saugstad O.D. Oxidative stress in the newborn – a 30-year perspective. *Biol Neonate*. 2005. Vol. 88. P. 228–236.
4. Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period / E. Gitto et al. *Biol Neonate* 2002. Vol. 81. P. 146–157.
5. Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin / E. Gitto et al. Vol. 46. Issue 2. 2009. P. 128–139. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00649.x>
6. Salyha N. O. Effects of L-glutamic acid and pyridoxine on glutathione depletion and lipid peroxidation generated by epinephrine-induced stress in rats. *Ukr. Biochem. J.* 2018. Vol. 90. N 4. P. 102–110. Doi: <https://doi.org/10.15407/ubj90.04.102>
7. Nitrosative and oxidative injury to premyelinating oligodendrocytes in periventricular leukomalacia / R.L. Haynes et al. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2003. Vol. 62. P. 441–450.
8. Васильева Е.М. Биохимические особенности эритроцита. Влияние патологии. Биомед. химия. 2005. Т. 51. Вып. 2. С. 118–126.
9. Поэтова В.Т., Гительзон И. И., Терсков И. А. Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Москва, 1967. С. 81–85.
10. Анфёрова М.В., Головаха В.І., Піддубняк О.В., Тишківський М.Я. Зміни властивостей еритроцитів у собак. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2016. Т. 18. № 3 (71). С. 3–6. Doi: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7101>.
11. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. (1972). Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 252 с.
12. Данчук О.В., Іскра Р.Я., Цепко Н.Л. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та популяційний склад еритроїдних клітин крові поросят з різною живою масою при народженні. Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. Львів, 2004. Вип. 5. № 3. С. 27–31.
13. Oxidative Stress in Preterm Neonates at Birth and on the Seventh Day of Life / G. Buonocore et al. *Pediatr Res*. 2002. Vol. 52. P. 46–49. Doi: <https://doi.org/10.1203/00006450-200207000-00010>
14. Total hydroperoxide advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies / G. Buonocore et al. *Pediatr Res*. 2000. Vol. 47. P. 221–224.

15. Sanderud J., Bjoro K., Saugstad O.D. Oxygen radicals stimulate thromboxane and prostacyclin synthesis and induce vasoconstriction in pig lungs. *Scand J Clin Lab Invest*. 1993. Vol. 53. P. 447–455.

16. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у еритроцитах поросят за дії міцелярної форми токоферолу / О.В. Данчук та ін. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2016. Вип. 237. С. 164–170.

17. Брошков М.М. Динаміка показників клітинного імунітету у цуценят упродовж неонатального періоду. Біологія тварин. 2015. № 1, т. 17. С. 16–21.

18. Брошков М.М. Утворення специфічних антитіл у цуценят за різних гематологічних показників. Аграрний вісник Причорномор'я. Сер. Ветеринарні науки. 2014. Вип. 72. С. 12–17.

19. Данчук О.В. Перекисне окиснення ліпідів та активність системи антиоксидантного захисту в організмі свиней з різними типами вищої нервової діяльності: автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.13; Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. Київ, 2018. 46 с.

20. Danchuk O.V., Karpovskyi V.I., Trokoz V.O., Postoi R.V. Regulation mechanisms of cortisol level in pigs' blood serum under stress. *Fiziol. Zh.* 2017. Vol. 63(6). P. 60–65. Doi: <https://doi.org/10.15407/fz63.06.060>.

21. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В.В. Влізко та ін. Львів: Сполом, 2012. 760 с.

22. Власенко В.М., Тихонюк Л.А., Рубленко М.В. Оперативна хірургія, анестезіологія і топографічна анатомія. Спеціальна частина. Біла Церква, 2006. 544 с.

REFERENCES

1. Danchuk, V.V., Danchuk, O.V., Cepko, N.L. (2004). Oksydacijnyj stress –patologija chy adaptacija? [Oxidative Stress - Pathology or Adaptation?]. *Zhurnal Tvarynnictvo Ukrainy* [Livestock of Ukraine]. no. 4, pp. 21–23.
2. Halliwell, B. (1999). Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. Vol. 344, pp. 721–724.
3. Saugstad, O.D. (2005). Oxidative stress in the newborn – a 30-year perspective. *Biol Neonate*. Vol. 88, pp. 228–236.
4. Gitto, E., Reiter, R.J., Karbownik, M. (2002). Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period. *Biol Neonate*. Vol. 81, pp. 146–157.
5. Gitto, E., Pellegrino, S., Gitto, P., Barberi, I., Russel, J. Reiter. (2009). Oxidative stress of the newborn in the pre- and postnatal period and the clinical utility of melatonin. Vol. 46, Issue 2, pp. 128–139. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00649.x>
6. Salyha, N.O. (2018). Effects of L-glutamic acid and pyridoxine on glutathione depletion and lipid peroxidation generated by epinephrine-induced stress in rats. *Ukr. Biochem. J.* Vol. 90, no. 4, pp. 102–110. Doi: <https://doi.org/10.15407/ubj90.04.102>
7. Haynes, R.L., Folkerth, R.D., Keefe, R.J. (2003). Nitrosative and oxidative injury to premyelinating oligodendrocytes in periventricular leukomalacia. *J Neuropathol Exp Neurol*. Vol. 62, pp. 441–450.

8. Vasileva, E.M. (2005). Biokhimicheskie osobennosti eritrocitov [Biochemical features of the red blood cell]. Vliyanie patologii [The influence of pathology]. Biomed chemistry. Vol. 51, Issue 2, pp. 118–126.
9. Poetova, V.T., Gitelson, I. I., Terskov, I. A. (1967). Voprosy biofiziki, biokhimii i patologii eritrocitov [Questions of biophysics, biochemistry and erythrocyte pathology]. Moscow, pp. 81–85.
10. Anforova, M.V., Golovaha, V.I., Piddubnjak, O.V., Tyshkiv's'kyj, M.Ja. (2016). Zminy vlastyvostrych erytrocyt u sobak [Changes in erythrocyte properties in dogs]. Naukovy visnyk LNUVMBT imeni S.Z. G'zhyckogo [Scientific Bulletin of the LNUVM and named after S. Z. Zhytskyi]. Vol. 18, no. 3 (71), pp. 3–6. Doi: <https://doi.org/10.15421/nvlvet7101>.
11. Vladimirov, Ju.A., Archakov, A.I. (1972). Perekinnoe okislennye lipidov v biologicheskikh membranah [Lipid peroxidation in biological membranes]. M.: Science, 252 p.
12. Danchuk, O.V., Iskra, R.Ya., Czepko, N.L. (2004). Intensivnist perekisnogo okisnennya lipidiv ta populyacijnij sklad eritroyidnykh klitin krovi porosyat z riznoyu zhivoyu masoyu pri narodzhenni [Intensity of peroxide oxidation and the popular stock of erythrocytes of blood piglets with live live oil during birth]. Naukovo-tekhnichnij byuleten Institutu biologiyi tvarin [Science and technology bulletin to the Institute of Biological Creature]. Lviv, Issue 5, no. 3, pp. 27–31.
13. Buonocore, G., Perrone, S., Longini, M. (2002). Oxidative Stress in Preterm Neonates at Birth and on the Seventh Day of Life. *Pediatr Res.* Vol. 52, pp. 46–49. Doi: <https://doi.org/10.1203/00006450-200207000-00010>
14. Buonocore, G., Perrone, S., Longini, M., Terzuoli, L., Bracci, R. (2000). Total hydroperoxide advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. *Pediatr Res.* Vol. 47, pp. 221–224.
15. Sanderud, J., Bjoro, K., Saugstad, O.D. (1993). Oxygen radicals stimulate thromboxane and prostacyclin synthesis and induce vasoconstriction in pig lungs. *Scand J Clin Lab Invest.* Vol. 53, pp. 447–455.
16. Danchuk, O.V., Postoj, R. V., Karpovskij, V. V., Klyuczuk, M. R., Skripkina, V. M., Karpovskij, V. I., Zheltonozhska, T. B., Permyakova, N. M. (2016). Intensivnist peroksidnogo okisnennya lipidiv u eritrocitakh porosyat za diyi miczelyarnoyi form tokoferolu [The intensity of oxidative oxidation of lipids in erythrocytes of piglets due to the secondary form of tocopherol]. Naukovy visnyk Nacjonalnogo universitetu bioresursiv i prirodokoristuvannya Ukrainy [Science News of the National University of Natural Resources and Nature Protection of Ukraine]. Seriya: Veterinarna medycyna, yakisti bezpeka produkciyi tvarinnicstva [Seriya: Veterinary medicine, product and non-food products]. Issue 237, pp. 164–170.
17. Broshkov, M.M. (2015). Dynamika pokaznykiv klitynnoho imunitetu u tsutseniat uprodovzh neonatalnoho periodu [Dynamics of indicators of cellular immunity in puppies during the neonatal period]. *Biologicheskii zhurnal* [Biological animals]. no. 1, Vol. 17, pp. 16–21.
18. Broshkov, M.M. (2014). Utvorennia spetsyficnykh antytil u tsutseniat za riznykh hematologichnykh pokaznykiv [Formation of specific antibodies in puppies by different hematological parameters]. *Ahrarnyi visnyk Prychornomori* [Agrarian Bulletin of the Black Sea]. Ser. Veterynarni nauky [Series Veterinary Sciences]. Issue 72, pp. 12–17.
19. Danchuk, O.V. (2018). Peroksidne okisnennya lipidiv ta aktivnist sistemi antioksidantnogo zakhistu v organizmi svinej z riznymi tipami vishhoyi nervovoyi diyalnosti: avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk: 03.00.13; Nacz. un-t bioresursiv i prirodokoristuvannya Ukrainy [Lipid peroxidation and activity of the antioxidant protection system in pigs with different types of higher nervous activity: abstract of dissertation of Doctor of Veterinary Sciences: 03.00.13; National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine]. Kyiv, 46 p.
20. Danchuk, O.V., Karpovskiy, V.I., Trokoz, V.O., Postoi R.V. (2017). Regulation mechanisms of cortisol level in pigs' blood serum under stress. *Fiziol. Zh.* Vol. 63(6), pp. 60–65. Doi: <https://doi.org/10.15407/fz63.06.060>.
21. Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratych, I.B. (2012). Laboratorni metody doslidzhennya u biologii, tvarynnictvi ta veterynarnij medycyni [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine]. Lviv: Spolom, 760 p.
22. Vlasenko, V.M., Tyhonjuk, L.A., Rublenko, M.V. (2006). Operativna hirurgija, anesteziologija i topografichna anatomija [Operative surgery, anesthesiology and topographic anatomy]. *Special'na chastyna* [The special part]. Bila Tserkva, 544 p.

Соотношение популяций эритроцитов в крови щенков в постнатальный период развития

Анферова М.В., Брошков Н.Н., Данчук А.В.

В статье приведены новые научные данные о соотношении популяций эритроцитов в щенков служебных пород в постнатальный период. Установлено, что в одностатистическом щенков количество эритроцитов в крови составляет $5,64 \pm 0,12$ Т/л, причем, половина из них относилась к популяции «зрелых», 40 % – «молодых» и 10 % – «старых». При этом у них содержание продуктов перекисного окисления липидов в гемолизатах эритроцитов достаточно высокое, что указывает на развитие постнатального оксидационного стресса. Так, концентрация диеновых конъюгатов, кетодиенов и оснований Шиффа составляет соответственно $1,406 \pm 0,023$; $0,676 \pm 0,004$ и $0,135 \pm 0,003$ усл. ед. В период 1–5-суточного возраста щенков происходит уменьшение количества эритроцитов в крови в 1,5 раза ($p < 0,001$), за счет уменьшения количества «зрелых» клеток (в 1,6 раза; $p < 0,001$). Интенсивность перекисного окисления в организме щенков даже через месяц после рождения относительно высокая, про что свидетельствует концентрация в эритроцитах крови оснований Шиффа – $0,185 \pm 0,002$ усл. ед. Установлено обратные корреляционные связи содержания оснований Шиффа в гемолизате эритроцитов с их количеством в кровяном русле – $r = -0,83$ ($p < 0,001$). Следует также отметить прямые корреляционные связи содержания диеновых конъюгатов с количеством эритроцитов в их крови ($r = 0,58$ $p < 0,05$), а содержание кетодиенов и сопряженных триенов обратно связано с содержанием «молодых» эритроидных клеток в крови щенков ($r = -0,57$ $p < 0,05$). Итак, в результате постнатальной адаптации щенков проходит замена эритроцитов плода на постнатальные клетки, причем этот процесс связан с интенсификацией перекисного

окисления и накоплением в клетках конечных продуктов перекисидации, что сопровождается ускорением процесса «старения» молодых форм эритроцитов, в результате чего создаются предпосылки к развитию анемии.

Ключевые слова: эритроциты, оксидационный стресс, щенки, основания Шиффа, кетодиены, диеновые конъюгаты.

The ratio of erythrocyte populations in the blood of puppies during postnatal oxidative stress

Anfiorova M., Broshkov M., Danchuk O.

The article presents new scientific data on the ratio of erythrocyte populations in puppies' blood during postnatal oxidative stress. It was established that the number of erythrocytes in the blood of one-day-old puppies was $5.64 \pm 0.12 \text{ T/l}$, and half of these cells belonged to the population of "mature", 40% - "young" and 10% - "old". In day-old puppies, the content of lipid peroxidation products in erythrocyte hemolysates is quite high, which indicates the development of postnatal oxidative stress. Thus, the content of diene conjugates, ketodienes and Schiff bases is respectively $1,406 \pm 0,023 \text{ conv. units}$, $0.676 \pm 0.004 \text{ conv. units}$ and $0.135 \pm 0.003 \text{ conv. units}$. From one to five days age of puppies the number

of erythrocytes in the blood decrease by 1.5 times ($p < 0.001$), mainly due to the decrease in the number of "mature" cells (by 1.6 times; $p < 0.001$). The intensity of peroxide oxidation in the body of puppies even a month after birth is relatively high, as indicated by the content of Schiff bases in the erythrocytes of the blood of these animals - $0.185 \pm 0.002 \text{ conv. units}$. The inverse correlations of the content of Schiff bases in erythrocyte hemolysate with their number in the bloodstream were found to be $r = -0.83$ ($p < 0.001$). It should also be noted the direct correlation of the content of diene conjugates in the blood of puppies with the number of erythrocytes in their blood ($r = 0,58$ $p < 0,05$), but the content of ketodienes and conjugated trienes is inversely related to the content of "young" erythroid cells in the puppies' blood ($r = -0.57$ $p < 0.05$). Consequently, post-natal adaptation of puppies results in the replacement of fetal erythrocytes by postnatal cells, and this process is associated with the intensification of peroxide oxidation and accumulation of the end products of peroxidation in the cells. This process is accompanied by an acceleration of the process of "aging" of young forms of erythrocytes, as a result of which prerequisites for the development of anemia are created.

Key words: erythrocytes, oxidative stress, puppies, Schiff bases, ketodienes, diene conjugates.



Copyright: © Anfiorova M., Broshkov M., Danchuk O. 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.



ТЕРАПІЯ ТА КЛІНІЧНА ДІАГНОСТИКА

UDC 619:612.119:616.391:615.35:636.2.053

Hemocytopoiesis and microelements metabolism's indices in calves under the influence of national vitamin-amino-acid complex

Melnyk A. , Bezukh V. , Dubin O., Moskalenko V.,
Vovkotrub N. , Bogatko L. , Tyshkivsky M. 

Bila Tserkva National Agrarian University

 БНАУ, м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1. E-mail: bezukh.vasyl@ukr.net



Melnyk A., Bezukh V., Dubin O., Moskalenko V., Vovkotrub N., Bogatko L., Tyshkivsky M. Hemocytopoiesis and microelements metabolism's indices in calves under the influence of national vitamin-amino-acid complex. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 88–96.

Рукопис отримано: 06.10.2019р.
Прийнято: 03.11.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-88-96

In Ukrainian veterinary medicine the study of the effectiveness of new complex drugs remains relevant. The effect of the vitamin-mineral complex "Alphabet for Animals" on the state of hemocytopoiesis and the microelements metabolism in calves of 1.5–2.5 months of age were studied.

The composition of this drug includes the biologically active substances: vitamins A, D₃, E, B₁, B₃, B₅, B₆, B₁₂, K₃ and essential amino-acids: DL-methionine, L-lysine and arginine. It is used in farm animals and poultry for the normalization of hemocytopoiesis, the prevention and treatment of vitamins and trace elements metabolism's disorders.

In the first week of drug administration, the number of erythrocytes in the experimental animals group has increased significantly ($p < 0.05$) and after its second feeding, the positive effect on erythrocytopoiesis in calves has become even greater ($p < 0.001$), compared to the calves in control group.

The level of hemoglobin in calves of experimental group also increased significantly from the beginning of the drug to the end of the experiment, whereas in calves of the control group there was a tendency to decrease its level throughout the all experiment.

The color index and erythrocyte saturation by hemoglobin (MCH) at the first and second blood samples were significantly decreased ($p < 0.05$) in control calves group, whereas in animals of experimental group there was no significant difference between these parameters ($p < 0.1$). The average volume of red blood cells did not differ between control and test calves during the experiment ($p < 0.1$).

Under the drugs influence the Ferum blood content in calves of experimental group increased by 24.2 %. In the control calves group, this tendency was not so noticeable (the increase of Ferum serum level at the end of experiment was only +7.8 % ($p < 0.1$), compared to the initial indices). The Zinc metabolism, on the contrary, has not undergone significant changes. The Cuprum serum level in experimental calves group remained always significantly higher than in control animals group.

"Alphabet for Animals" has a positive effect on hemocytopoiesis in calves due to its complex composition (fat-soluble and water-soluble vitamins, amino-acids) and improves the metabolism of microelements, including Ferum and Cuprum. The influence on these processes the vitamins of B group, which are a part of this drug, we consider especially valuable in the conditions of the unformed rumen digestion in young cattle.

Key words: vitamin-amino acid complex, erythrocytopoiesis, hypochromia, microcytosis, hemoglobin, color index, hematocrit.

Problem statement and analysis of recent research. In veterinary medicine of Ukraine and abroad it is often used complex preparations of fat-soluble vitamins by different names and with different ratio of separate biologically active substances [1, 5, 8, 14, 16]. Some drugs

contain of the complex of fat and water-soluble vitamins (Oligovit, Introvit, Megavit, Gep-A-Stress, etc.), trace elements and differently affect hemocytopoiesis and metabolism, in particular trace elements, in animals of different species [2–4, 6, 7, 9–13, 15–18]. Therefore, further study of

the efficacy of new complex drugs in veterinary medicine remains relevant [19–24].

The purpose of our work is to study the effect of the vitamin-mineral complex "Alphabet for Animals" on the state of hemocytopoiesis and the metabolism of microelements in calves of 1.5–2.5 months of age.

Material and methods of research. 1 ml of the vitamin-amino acid complex "Alphabet for Animals" contains such active substances: Vitamin A (retinol acetate) - 5000 IU; D₃ (cholecalciferol) - 1000 IU; E (tocopherol acetate) - 10 mg; B₁ (thiamine hydrochloride) - 2 mg; B₃ (calcium pantothenate) - 10 mg; B₅ (pantothenic acid) - 5 mg; B₆ (pyridoxine hydrochloride) - 3 mg; B₁₂ (cyanocobalamin) - 30 mcg; Vitamin K₃ - 1.0; DL-methionine - 10 mg; L-lysine - 2.5 mg; Arginine - 3 mg. The drug is used in horses, cattle, pigs and poultry for normalize hemocytopoiesis and metabolism, for increase total resistance, for prevent and treat the vitamins and microelements metabolism disorders.

At the beginning of the research, two calves groups of 10 animals each were formed under the analogues principle. Before the drug administration, the blood samples from both groups (hereinafter the control and experimental ones) were selected for laboratory testing.

Research results. Analysis of the results of the study at the first blood sampling showed that the content of red blood cells in calves had no significant difference ($p < 0.1$) and calves in the control group was 6.3 ± 0.19 T/l (Lim – 5.2–7.1 T/l) and 6.3 ± 0.22 T/l – in animals of the experimental group (Lim – 5.1–7.2 T/l).

The drug "Alphabet for Animals" was drunk with water at a dose of 2 ml per 1 liter of water daily during 7 days to the calves of the experimental group. After a week-long break, the drug giving

was continued with taking blood for the second time, according to the same scheme and for a week break blood was collected from calves for the third time.

Analysis of the results of the blood test showed that changes of the erythrocytes number in calves of the control group during the experiment were not significantly ($p < 0.1$). The number of erythrocytes in calves of the experimental group changed significantly more interestingly. Thus, in the first week of drinking, the number of erythrocytes in animals in this group increased significantly ($p < 0.05$) from 6.3 ± 0.22 to 7.1 ± 0.22 T/l. The second drug's feeding caused more positive effect on erythrocytopoiesis. In particular, the number of erythrocytes in these calves was significantly ($p < 0.001$) increased to 7.4 ± 0.13 T/l, which was also significantly ($p < 0.01$) greater than in the calves in control group after the end of the experiment (6.5 ± 0.24 T/l fig. 1).

In our opinion, the positive effect of the drug "Alphabet for Animals" on erythrocytopoiesis in the calves of the experimental group throughout the experiment was mainly caused by the influence of vitamin B₁₂, which is the part of the drug (30.0 µg/ml).

This is confirmed by the dynamics of the hemoglobin blood concentration in calves of the experimental group. In particular, after the drug's administration the hemoglobin blood level in calves of both groups did not differ ($p < 0.1$), and weekly drinking of the drug caused a pronounced tendency ($p < 0.05$) to increase the concentration of hemoglobin from 99.4 ± 4.15 to 111.0 ± 3.08 g/l. The second feeding of the drug allowed the calves of the experimental group to keep this index at 111.1 ± 3.26 g/l, which was significantly better compared to the animals of the control group (96.3 ± 2.46 g/l; $p < 0.01$ fig. 2).

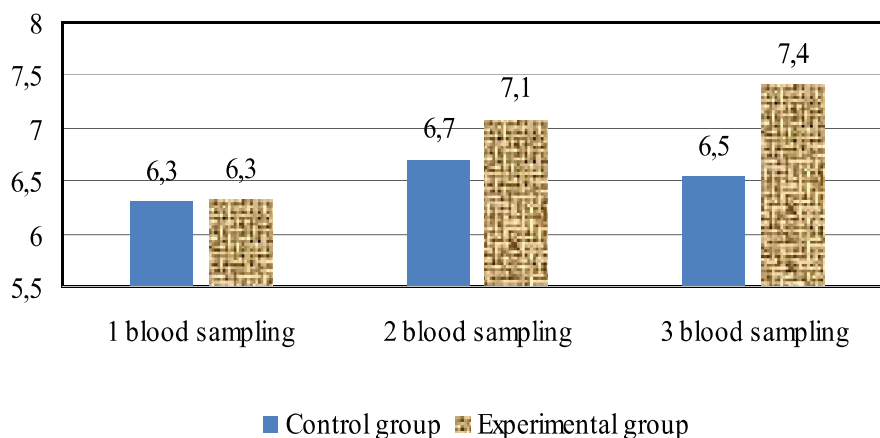


Fig. 1. The number of red blood cells in the blood of calves, T/l.

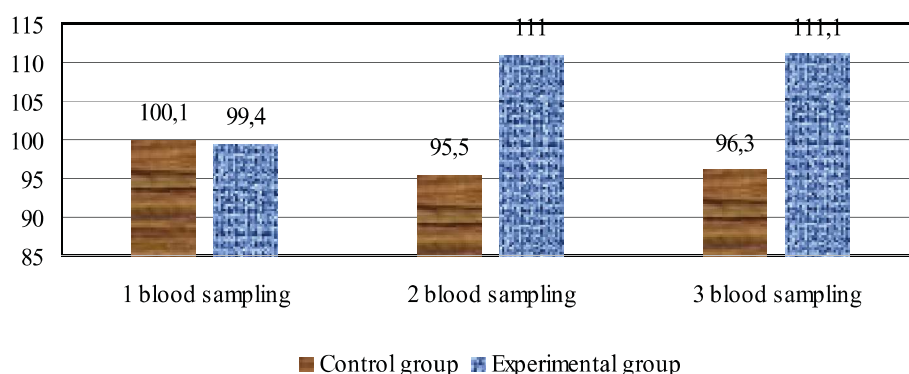


Fig. 2. Hemoglobin blood level in calves, g/l.

At the same time, throughout the experiment, we observed a tendency to decrease the hemoglobin concentration in the blood of the control group. Such changes of this index can be explained by the processes of replacement of fetal hemoglobin with hemoglobin in adult animals, which is a common physiological phenomenon. And the increase of hemoglobin blood concentration in calves of the experimental group indicates a positive stimulating effect of the drug on hemoglobin synthesis in this life period of animals. In our opinion, Cyanocobalamin, which is the part of the “Alphabet for Animals”, is the direct stimulator of hemocytopoiesis.

It is quite difficult to give an objective characterization of erythrocytopoiesis in general without indicators of hematocrit, which allows us to make conclusions not only about the state of erythrocytopoiesis, but also is objective for assessing the degree of animal dehydration and the relative changes of blood parameters against this background.

Analysis of the results of animal blood tests we obtained showed that there were no changes in hematocrit level which is a characteristic of a dehydrated organism. This is confirmed by the fact that the calves of the control group showed only a tendency to decrease the hematocrit from $34.3 \pm 0.84\%$ to $31.1 \pm 0.5\%$ throughout the study ($p < 0.1$). Dehydration was not observed in the animals of the experimental group, but the ratio of liquid blood to its shaped elements in these animals was more stable. During the whole experiment, this index in calves of the experimental group did not change and did not differ from the index in the animals of the control group (33.3 ± 1.17 at the beginning and $33.6 \pm 0.81\%$ – at the end of the experiment (Table 1).

It is known that the hematocrit level is depend on the number of red blood cells, the degree of

body dehydration, the average volume of red blood cells and other factors. In this case, it is worth noting that we have not established a significant difference in the average erythrocyte volume in calves of the control and experimental groups (54.5 ± 1.57 and $52.9 \pm 2.23 \mu\text{m}^3$ in the first blood sampling ($p < 0.1$), 49.3 ± 1.06 and 46.7 ± 1.19 – the second ($p < 0.1$) and 48.0 ± 1.45 and $45.2 \pm 0.58 \mu\text{m}^3$ – the third blood sampling ($p < 0.1$).

In our opinion, it was interesting the change of this index in animals of both groups in the age aspect. Analysis of the results of the studies indicates a decrease in the average erythrocyte volume (MCV) in calves of both groups. Thus, MCV at the first, second and third blood samples from the calves of the control group decreased significantly from $54.5 \pm 1.57 \mu\text{m}^3$ in the first to 49.3 ± 1.06 in the second ($p < 0.05$) and $47.8 \pm 1.45 \mu\text{m}^3$ – the third ($p < 0.01$) blood sampling, in calves of the experimental group – from $52.9 \pm 2.23 \mu\text{m}^3$ to 46.7 ± 1.19 ($p < 0.01$) and $45.2 \pm 0.58 \mu\text{m}^3$ ($p < 0.05$), respectively.

It is known that excessive stimulation of erythrocytopoiesis to be accompanied by polycythemia and microcytosis. Therefore, it can be argued that the drug “Alphabet for Animals” has erythrocytopoiesis stimulatory properties for calves without adverse development of microcytic phenomena, because the changes in MCV are similar in animals of both groups and are age and physiological.

In support of our opinion, color blood index – Color Index and MCH was testified. At the beginning of the experiment, CI – 1.0 ± 0.03 in control versus 1.0 ± 0.05 in the experiment ($p < 0.1$) and erythrocyte saturation with hemoglobin (16.0 ± 0.5 pg – in control and 15.8 ± 0.74 pg – in experiment ($p < 0.1$) the total number of erythrocytes in calves of both groups did not differ.

At the same time, it should be noted that the color index and erythrocyte saturation with

Table 1 – Indices of hemocytopoiesis in calves

Indicator		Blood sampling		
		1	2	3
Ht, %	control	34,30±0,84	32,90±1,03	31,30±0,50
	p<	–	° 0,1	°° 0,01
	experiment	33,30±1,17	32,90±0,62	33,60±0,81
	p<	* 0,1	' 0,1	" 0,1 ** 0,1
MCV, µm ³	control	54,5±1,57	49,3±1,06	47,8±1,45
	p<	–	° 0,05	°° 0,01
	experiment	52,9±2,23	46,7±1,19	45,2±0,58'
	p<	* 0,1	' 0,05	" 0,01 ** 0,1
Color index (CI)	control	1,0±0,03	0,9±0,02	0,9±0,03
	p<	–	° 0,05	°° 0,1
	experiment	1,0±0,05	1,0±0,04	1,0±0,03
	p<	* 0,1	' 0,1	" 0,1 ** 0,1
MCH, pg	control	15,9±0,50	14,3±0,36	14,9±0,50
	p<	–	° 0,05	°° 0,1
	experiment	15,8±0,74	15,8±0,62	14,9±0,22
	p<	* 0,1	' 0,1	" 0,1 ** 0,1

Notes: p< – the criterion of probability;

° – compared to indices of control group 1 and 2 sampling;

°° – compared to indices of control group 1 and 3 sampling;

' – compared to the indices of experimental group 1 and 2 sampling;

" – compared to the indices of the experimental group 1 and 3 sampling;

* – compared to indices of control and experimental groups 1 sampling;

** – compared to indices of control and experimental groups 3 sampling.

hemoglobin (MCH) in calves of the control group for the first and second blood sampling were significantly decreased ($p<0.05$) from 1.0 ± 0.03 (CI) and from 15.8 ± 0.74 pg (MCH) to 0.9 ± 0.02 and 14.3 ± 0.36 pg ($p<0.05$), respectively, whereas in the animals of the experimental group there was no significant difference in these indices: CI practically did not change from 1.0 ± 0.05 at the beginning to 1.0 ± 0.04 , and MCH – from 15.8 ± 0.84 to 15.8 ± 0.62 pg – after the second blood collection ($p<0.1$).

According to the description it is known that the vitamin-amino acid complex "Alphabet for animals" in its composition does not contain trace elements. However, our research has identified some positive changes in the metabolism of certain trace elements, including Ferum, Zinc and Cuprum.

Analysis of the laboratory study results of Ferum serum level in calves has showed that in the body of young cattle under the influence of the drug improves the metabolism of this microelement. In particular, after the first feeding of the drug "Alphabet for Animals" the Ferum serum level in calves of the experimental group increased from 102.4 ± 5.05 µg/100 ml at the beginning to 127.2 ± 4.72 µg/100 ml at the end of the experiment (+ 24,25%), which indicates a

tendency to increase its content, then at the same time in the calves of the control group the trend was not so noticeable (increase the Ferum level at the end of the experiment was only + 7,8% ($p<0,1$) compared to the beginning indices).

The metabolism of another microelements – Zinc, under the influence of the "Alphabet for Animals", on the contrary, did not have significant changes. This is evidenced by the results of a laboratory blood test, according to which the indices of Zinc serum level in calves of both groups did not differ at the beginning and after the end of the experiment ($p<0,1$). Therefore, the testing drug does not have a positive effect on the Zinc metabolism in young cattle.

The most noticeable changes during the period of the experiment occurred in the exchange of Cuprum, which occupies a noticeable position in the processes of hematopoiesis in animals, they were similar, but not unambiguous. It should be noted that before testing, the level of this microelement in the calves of the control and experimental groups was quite high and was equal 103.5 ± 3.74 µg/100 ml and 100.9 ± 3.18 µg/100 ml, respectively, and the difference between them was not significant ($p<0.1$). According to the second and third blood sampling of calves of the control group, the level of Cuprum decreased significantly,

compared to the initial data, the difference was almost – 33% ($p < 0,001$). The Cuprum blood level in calves of the experimental group has also decreased, but the difference from the beginning of the experiment was not so significant (–16.6%, $p < 0,01$). Despite the fact that these changes were parallel in the animals of both groups, at the end of the experiment a significant difference remained between the indices in the animals of the experimental and control groups. In addition, the Cuprum serum level in calves of the experimental group always remained significantly higher than in the animals of the control group (Table 2).

the experience was mainly due to the influence of Vitamin B₁₂, which is the part of the drug. And the confirmation of this phenomenon is the dynamics of increase the hemoglobin blood level in calves of the experimental group. In our opinion, Cyanocobalamin, which is the part of the “Alphabet for Animals”, is a direct stimulator of hemocytopoiesis.

At the same time, the hematocrit level and the average erythrocyte volume during the experiment did not undergo significant change in calves of both groups, although it is known that excessive stimulation of erythrocytopoiesis is accompanied

Table 2 – The microelements serum levels in calves, µg/100 ml

Indices		Fe	Zn	Cu
1 sampling	C	100,8±3,31	102,6±3,62	103,5±3,74
	E	102,4±5,05	108,9±4,42	100,9±3,18
2 sampling	C	97,6±4,62	104,7±5,06	69,2±1,96
	E	112,1±4,5	105,8±4,77	82,4±4,31
3 sampling	C	108,7±5,01	103,6±4,02	69,7±2,54
	E	127,2±4,72	109,7±4,07	84,2±3,71
p ^o <		0,1	0,1	0,001
p ^{oo} <		0,1	0,1	0,001
p' ['] <		0,1	0,1	0,01
p''<		0,01	0,1	0,01
p*<		0,1	0,1	0,1
p**<		0,1	0,1	0,01

Notes: p< – the criterion of probability;

° – compared to indices of control group 1 and 2 sampling;

oo – compared to indices of control group 1 and 3 sampling;

' – compared to the indices of experimental group 1 and 2 sampling;

'' – compared to the indices of the experimental group 1 and 3 sampling;

* – compared to indices of control and experimental groups 1 sampling;

** – compared to indices of control and experimental groups 3 sampling.

Thus, the drug "Alphabet for Animals" has a positive effect on the Ferum metabolism in calves, practically does not change the Zinc level and has some effect on the Cuprum metabolism.

Discussion. There are many vitamin preparations and vitamin-mineral complexes on the market, the use of which primarily involves not only ensuring the health of animals, but also maintaining their high productivity. Therefore, it is important for veterinary medicine doctors to ensure that the animal body is provided with nutrients and biologically active substances that are poorly absorbed or poorly absorbed in the diet.

For more effective use of a drug it is important to study its effects on animals in general and metabolism in particular.

We found that “Alphabet for Animals” had a positive effect on erythrocytopoiesis in calves, as the number of erythrocytes in animals in the experimental group was significantly increased ($p < 0,001$). The likely positive effect of this drug on the state of erythrocytopoiesis throughout

by polycythemia and microcytosis, and thus changes of these indices (Ht, MCV). Therefore, it can be argued that the test drug stimulates erythrocytopoiesis in calves without adverse development of microcytic phenomena in them.

The microelements (Fe, Cu, Zn) metabolism in calves under the influence of the "Alphabet for Animals" had the largest positive changes in the side of Cuprum, slightly smaller – Ferum and no changes according the Zinc level, although it is known that these microelements was not included in the drug. It is obvious that other biologically active substances that are the part of the vitamin-mineral complex, in particular B vitamins, namely Cyanocobalamin (B₁₂), have a positive effect on the Cuprum and Ferum metabolism.

Conclusions. 1. Vitamin and amino acid complex "Alphabet for Animals" has hematopoietic properties, as evidenced by the increase in the total number of erythrocytes (from $6,3 \pm 0,22$ ($p < 0,05$) to $7,4 \pm 0,13$ T/l ($p < 0,001$) and the hemoglobin level ($p < 0,05$), without causing

development microcytosis, hypochromia and hypochromemia.

2. The "Alphabet for Animals" complex has a positive effect on hemocytopoiesis in calves due to its complex composition (fat-soluble and water-soluble vitamins, amino acids). Therefore, we consider the influence on this process of vitamins B, which are a part of the complex, especially valuable in the conditions of the unformed rumen digestion in young cattle.

3. The "Alphabet for Animals" improves microelements' metabolism, as evidenced by the increase the Ferum blood level, the stability of Zinc level and probably greater Cuprum serum level in calves of the experimental group.

LIST OF REFERENCES

1. Вплив препарату «Абетка для тварин» на показники еритроцитопоезу в поросят / А.Ю. Мельник та ін. Наук. вісник вет. медицини: зб. наук. праць БНАУ, Біла Церква. 2018. Вип. 1 (140). С. 65–71. URL: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/1414>.
2. Вплив препарату Геп-А-Стрес на обмін речовин у курчат-бройлерів / В.І. Левченко та ін. Наук. вісник вет. медицини: зб. наук. праць БНАУ, Біла Церква. 2017. Вип. 1 (133). С. 48–55. URL: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/1415>.
3. Вплив препарату Мегавіт на А-вітамінний і кальціє-фосфорний обмін у сільськогосподарських тварин / В.І. Левченко та ін. Наук. вісник вет. медицини: зб. наук. праць БНАУ, Біла Церква. 2016. № 1 (127). С. 49–56. URL: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/289>.
4. Ефективність препарату Феролайф за гіпопластичної анемії поросят і телят / В.І. Левченко та ін. Наук. вісник вет. медицини: зб. наук. праць БНАУ, Біла Церква. 2015. № 2. С. 46–54. URL: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/283>.
5. Нові препарати для лікування окремих внутрішніх хвороб тварин / В.І. Левченко та ін. Здоров'я тварин і ліки. 2016. № 2. С. 14–18. URL: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/296>.
6. Differences in the occurrence of selenium, copper and zinc deficiencies in dairy cows, calves, heifers and bulls / L. Pavlata et al. University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic. 2005. no. 50. pp. 390–40. Doi: <https://doi.org/10.17221/5638-VETMED>.
7. Randhawa C.S., Randhawa S.S. Copper status of crossbred cows of the organised and rural dairy herds in central Punjab. Indian Journal of Animal Science. 2002. no. 72. P. 1087–1091. Doi: <https://doi.org/10.1079/BJN19830013>.
8. Effects of inorganic and organic copper supplemented to first-calf cows on cow reproduction and calf health and performance / E.L. Muehlenbein et al. Journal of Animal Science. 2001. no. 79. pp. 1650–1659. Doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(78\)83686-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(78)83686-8).
9. Mullis L.A., Spears J.W., McCraw R.L. Effects of breed (Angus vs Simmental) and copper and zinc source on mineral status of steers fed high dietary iron. Journal of Animal Science. 2003. no. 81. P. 318–322. Doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75055-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75055-7).
10. Arthington J.D., Spears J.W. Effects of tribasic copper chloride versus copper sulfate provided in corn-and molasses-based supplements on forage intake and copper status of beef heifers. J. Anim. Sci. 2007. no. 85. P. 871–876. Doi: <https://doi.org/10.2527/jas.2006-518>.
11. Enjalbert F., Lebreton P., Salat O. Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2006. no. 90. P. 459–466. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2006.00627.x>.
12. Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin g absorption by newborn calves / H. Kamada et al. J. Dairy Sci. 2007. no. 90. P. 5665–5670. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0348>.
13. Shinde P.L., Dassl R.S., Garg A.K. Effect of vitamin E and selenium supplementation on haematology, blood chemistry and thyroid hormones in male buffalo (Bubalus bubalis) calves. Journal of Animal and Feed Sciences. 2009. no. 18. P. 241–256. Doi: <https://doi.org/10.22358/jafs/66388/2009>.
14. Effect of the application of bioplexes of zinc, copper and manganese on milk quality and composition of milk and colostrum and some indices of the blood metabolic profile of cows / S. Kinal et al. Czech J. Anim. Sci. 2007. no. 52. 2007 (12). P. 423–429. Doi: <https://doi.org/10.17221/2338-CJAS>.
15. Ковзов В.В. Сравнительная профилактическая эффективность ветеринарных препаратов «Феролекс В12» и «Феррум 10%+В12 / «Ученые Записки УО ВГАВМ». Витебск, 2014. Т. 50. вып. 2. ч. 1. С. 154–158.
16. Ковалёнок Ю.К. Микроэлементозы крупного рогатого скота и свиней в Республике Беларусь: монография. Витебск: ВГАВМ, 2013. С. 40–43, 119–125, 143–152.
17. Ковзов В.В., Борознов С.Л. Пищеварение и обмен веществ у крупного рогатого скота: монография. Минск: Бизнесофсет, 2009. 316 с.
18. Кучинский М.П. Биозлементы – фактор здоровья и продуктивности животных: монография. Минск: Бизнесофсет, 2007. 372 с.
19. Кучинский М.П. Отработка оптимальной дозы и изучение профилактической эффективности Тетраминерала при железодефицитной анемии поросят. Ветеринарная медицина Беларуси. 2007. № 1. С. 5–11.
20. Banafsheh Ashraf Hesari., Mehrdad Mohri., Hesam A. Seifi. Effect of copper edetate injection in dry pregnant cows on hematology, blood metabolites, weight gain and health of calves. Trop. Anim. Health Prod. 2012. no. 44. P. 1041–1047. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11250-011-0038-4>.
21. Effects of short-term over-supplementation of copper in milk on hematology, serum proteins, weight gain, and health in dairy calves / Z. Naseri et al. Biological Trace Element Research. 2011. no. 139. P. 24–31. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9324-x>.
22. Arthington J.D., Havenga L.J. Effect of injectable trace minerals on the humoral immune response to multivalent vaccine administration in beef calves. J. Anim. Sci. 2012. no. 90. P. 1966–1971. Doi: <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4024>.
23. High dietary iron reduces transporters involved in iron and manganese metabolism and increases intestinal permeability in calves / S.L. Hansen et al. J. Dairy Sci. 2010. no. 93. P. 656–665. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2341>.

24. Mineral concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and Simmental cattle / D.J. Pogge et al. *J. Anim. Sci.* 2012. no. 90. P. 2692–2698. Doi: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-4482>.

REFERENCES

1. Mel'nyk, A.Ju., Bezuh, V.M., Moskalenko, V.P., Vovkotrub, N.V., Bogatko, L.M., Shhurevych, G.O. (2018). Vplyv preparatu «Abetka dlja tvaryn» na pokaznyky erytrocytopoezu v porosjat [Effect of the drug "Alphabet for Animals" on the parameters of erythrocytopoiesis in piglets]. *Nauk. visnyk vet. medycyny: zb. nauk. prac' BNAU* [Scientific herald of veterinary medicine: a collection of scientific articles of BNAU]. Bila Tserkva, Vol. 1 (140), pp. 65–71. Available at: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/1414>.

2. Levchenko, V.I., Mel'nyk, A.Ju., Moskalenko, V.P., Bezuh, V.M., Bogatko L.M., Shhurevych, G.O., Tyshkivsk'kyj, M.Ja., Sakara, V.S. (2017). Vplyv preparatu Gep-A-Stres na obmin rechovyn u kurchat-brojleriv [Effect of the drug Gep-A-Stress on the metabolism of chicken-broilers]. *Nauk. visnyk vet. medycyny: zb. nauk. prac' BNAU* [Scientific herald of veterinary medicine: a collection of scientific articles of BNAU]. Bila Tserkva, Vol. 1 (133), pp. 48–55. Available at: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/1415>.

3. Levchenko, V.I., Mel'nyk, A.Ju., Bezuh, V.M., Moskalenko, V.P., Harchenko, A.V. (2016). Vplyv preparatu Megavit na A-vitaminnyj i kal'cije-fosfornyj obmin u sil'skogospodars'kyh tvaryn [Effect of Megavit on A-Vitamin and Calcium-Phosphorus Exchange in Farm Animals]. *Nauk. visnyk vet. medycyny: zb. nauk. prac' BNAU* [Scientific herald of veterinary medicine: a collection of scientific articles of BNAU]. Bila Tserkva, no. 1 (127), pp. 49–56. Available at: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/289>.

4. Levchenko, V.I., Mel'nyk, A.Ju., Moskalenko, V.P., Bogatko, L.M. (2015). Efektyvnist' preparatu Ferolajf za gipoplastychnoi' anemii' porosjat i teljat [Efficiency of the Ferolift drug for hypoplastic anemia of pigs and calves]. *Nauk. visnyk vet. medycyny: zb. nauk. prac' BNAU* [Scientific herald of veterinary medicine: a collection of scientific articles of BNAU]. Bila Tserkva, no. 2, pp. 46–54. Available at: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/283>.

5. Levchenko, V., Bohatko, L., Bezuh, V., Moskalenko, V., Melnyk, A. (2016). Novi preparaty dlja likuvannja okremykh vnutrishnih hvorob tvaryn [New drugs for the treatment of individual internal diseases of animals]. *Zdorov'ja tvaryn i lyky* [Health of animals and medicine]. no. 2, pp. 14–18. Available at: <http://rep.btsau.edu.ua/handle/BNAU/296>.

6. Pavlata, L., Podhorsky, A., Pechova, A., Chomat, P. (2005). Differences in the occurrence of selenium, copper and zinc deficiencies in dairy cows, calves, heifers and bulls. *University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic*. no. 50, pp. 390–40. Available at: <https://doi.org/10.17221/5638-VETMED>.

7. Randhawa, C.S., Randhawa, S.S. (2002). Copper status of crossbred cows of the organised and rural dairy herds in central Punjab. *Indian Journal of Animal Science*. no. 72, pp. 1087–1091. Available at: <https://doi.org/10.1079/BJN19830013>.

8. Muehlenbein, E.L., Brink, D.R., Deutscher, G.H., Carlson, M.P., Johnson, A.B. (2001). Effects of inorganic and organic copper supplemented to first-calf cows on cow

reproduction and calf health and performance. *Journal of Animal Science*. no. 79, pp. 1650–1659. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(78\)83686-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(78)83686-8).

9. Mullis, L.A., Spears, J.W., McCraw, R.L. (2003). Effects of breed (Angus vs Simmental) and copper and zinc source on mineral status of steers fed high dietary iron. *Journal of Animal Science*. no. 81, pp. 318–322. Available at: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75055-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75055-7).

10. Arthington, J.D., Spears, J.W. (2007). Effects of tribasic copper chloride versus copper sulfate provided in corn-and molasses-based supplements on forage intake and copper status of beef heifers. *J. Anim. Sci.* no. 85, pp. 871–876. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2006-518>.

11. Enjalbert, F., Lebreton, P., Salat, O. (2006). Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: retrospective study. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* no. 90, pp. 459–466. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2006.00627.x>.

12. Kamada, H., Nonaka, I., Ueda, Y., Murai, M. (2007). Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin g absorption by newborn calves. *J. Dairy Sci.* no. 90, pp. 5665–5670. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0348>.

13. Shinde, P.L., Dass, R.S., Garg, A.K. (2009). Effect of vitamin E and selenium supplementation on haematology, blood chemistry and thyroid hormones in male buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *Journal of Animal and Feed Sciences*. no. 18, pp. 241–256. Available at: <https://doi.org/10.22358/jafs/66388/2009>.

14. Kinal, S., Korniewicz, A., Slupczynska, M., Bodarski, R., Korniewicz, D., Cermak, B. (2007). Effect of the application of bioplexes of zinc, copper and manganese on milk quality and composition of milk and colostrum and some indices of the blood metabolic profile of cows. *Czech J. Anim. Sci.* no. 52, 2007 (12), pp. 423–429. Available at: <https://doi.org/10.17221/2338-CJAS>.

15. Kovzov, V.V. (2014). Sravnitel'naja profilakticheskaja jeffektivnost' veterinarnykh preparatov «Feroleks B12» i «Ferrum 10%+B12 [Comparative prophylactic efficacy of veterinary drugs "Fero lex B12" and "Ferrum 10% + B12"]. *Uchenye Zapiski UO VGAVM* [Scholarly notes VGAVM]. Vitebsk, Vol. 50 (1), pp. 154–158.

16. Kovaljonok, Ju.K. (2013). Mikrojelementozy krupnogo rogatogo skota i svinej v Respublike Belarus': monografija [Microelementoses of cattle and pigs in the Republic of Belarus: monograph]. Vitebsk: VGAVM, pp. 40–43, 119–125, 143–152.

17. Kovzov, V.V., Boroznov, S.L. (2009). Pishhevarenie i obmen veshhestv u krupnogo rogatogo skota: monografija [Digestion and metabolism in cattle: a monograph]. Minsk: Biznesofset, 316 p.

18. Kuchinskij, M.P. (2007). Biojelementy – faktor zdorov'ja i produktivnosti zhivotnyh: monografija [Bioelements – a factor of animal health and productivity: a monograph]. Minsk: Biznesofset, 372 p.

19. Kuchinskij, M.P. (2007). Otrabotka optimal'noj dozy i izuchenie profilakticheskoy jeffektivnosti Tetramineral pri zhelezodeficitnoj anemii porosjat [Testing the optimal dose and the study of the prophylactic efficacy of Tetramineral with iron deficiency anemia in piglets]. *Veterinarnaja medicina Belarusi* [Veterinary medicine of Belarus]. no. 1, pp. 5–11.

20. Banafsheh, Ashraf Hesari., Mehrdad, Mohri., Hesam, A. Seifi. (2012). Effect of copper edetate injection in

dry pregnant cows on hematology, blood metabolites, weight gain and health of calves. *Trop. Anim. Health Prod.* no. 44, pp. 1041–1047. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11250-011-0038-4>.

21. Naseri, Z., Mohri, M., Aslani, M.R., Tabatabaee, A.A.A. (2011). Effects of short-term over-supplementation of copper in milk on hematology, serum proteins, weight gain, and health in dairy calves. *Biological Trace Element Research*. no. 139, pp. 24–31. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9324-x>.

22. Arthington, J.D., Havenga, L.J. (2012). Effect of injectable trace minerals on the humoral immune response to multivalent vaccine administration in beef calves. *J. Anim. Sci.* no. 90, pp. 1966–1971. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4024>.

23. Hansen, S.L., Ashwell, M.S., Moeser, A.J., Fry, R.S., Knutson, M.D., Spears, J.W. (2010). High dietary iron reduces transporters involved in iron and manganese metabolism and increases intestinal permeability in calves. *J. Dairy Sci.* no. 93, pp. 656–665. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2341>.

24. Pogge, D.J., Richter, E.L., Drewnoski, M.E., Hansen, S.L. (2012). Mineral concentrations of plasma and liver after injection with a trace mineral complex differ among Angus and Simmental cattle. *J. Anim. Sci.* no. 90, pp. 2692–2698. Available at: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-4482>.

Показники гемоцитопоезу та обмін мікроелементів у телят за впливу вітчизняного вітамінно-амінокислотного комплексу

Мельник А.Ю., Безух В.М., Дубін О.М., Москаленко В.П., Вовкотруб Н.В., Богатко Л.М., Тишківський М.Я.

У ветеринарній медицині України вивчення ефективності нових комплексних лікарських препаратів залишається актуальним. Вивчали вплив вітамінно-амінокислотного комплексу «Абетка для тварин» на стан гемоцитопоезу та обмін мікроелементів у телят 1,5–2,5-місячного віку. До складу препарату входять біологічно активні речовини: вітаміни А, D₃, Е, В₁, В₃, В₅, В₆, В₁₂, К₃ та незамінні амінокислоти: DL-метіонін, L-лізін, аргінін. Його застосовують сільськогосподарським тваринам і птиці для нормалізації гемоцитопоезу, профілактики і лікування порушень обміну вітамінів та мікроелементів.

За перший тиждень застосування препарату кількість еритроцитів у тварин дослідної групи вірогідно ($p < 0,05$) зросла, а за другим його виповованням позитивний ефект на еритроцитопоез у телят став ще більшим ($p < 0,001$), порівняно з показниками у телят контрольної групи.

Концентрація гемоглобіну у телят дослідної групи також вірогідно зростала від початку застосування препарату й до завершення досліді, тоді як у телят контрольної групи упродовж всього досліді спостерігалася тенденція до зменшення його вмісту.

Колірний показник та насиченість еритроцитів гемоглобіном (MCH) у телят контрольної групи за першим та другим відборами крові вірогідно ($p < 0,05$) зменшувалися, тоді як у тварин дослідної групи вірогідної різниці між цими показниками не встановлено ($p < 0,1$). Середній об'єм еритроцитів протягом досліді у телят контрольної і дослідної груп не відрізнявся ($p < 0,1$).

Під впливом препарату уміст феруму в сироватці крові телят дослідної групи зріс на 24,2 %. У телят контрольної групи ця тенденція була не так помітна (збільшення вмісту феруму у кінці досліді становило лише +7,8 % ($p < 0,1$), порівняно з початковими показниками). Метаболізм цинку, навпаки, не зазнав істотних змін. Уміст купруму у телят дослідної групи завжди залишався вірогідно більшим, ніж у тварин контрольної групи.

Препарат «Абетка для тварин» позитивно впливає на гемоцитопоез у телят завдяки своєму комплексному складу (жиророзчинні та водорозчинні вітаміни, амінокислоти) та покращує обмін мікроелементів, зокрема феруму та купруму. Вплив на ці процеси вітамінів групи В, що входять до складу препарату, вважаємо особливо цінним за умов ще несформованого рубцевого травлення у молодяку великої рогатої худоби.

Ключові слова: вітамінно-амінокислотний комплекс, еритроцитопоез, гіпохромія, мікроцитоз, гемоглобін, колірний показник, гематокрит.

Показатели гемоцитопоеза и обмена микроэлементов у телят под влиянием отечественного витаминно-аминокислотного комплекса

Мельник А.Ю., Безух В.М., Дубин А.М., Москаленко В.П., Вовкотруб Н.В., Богатко Л.М., Тышківський М.Я.

В ветеринарной медицине Украины изучение эффективности новых комплексных лекарственных препаратов остается актуальным. Изучали влияние витаминно-аминокислотного комплекса «Азбука для животных» на состояние гемоцитопоеза и обмен микроэлементов у телят 1,5–2,5-месячного возраста. В состав препарата входят биологически активные вещества: витамины А, D₃, Е, В₁, В₃, В₅, В₆, В₁₂, К₃ и незаменимые аминокислоты: DL-метионин, L-лизин, аргинин. Его применяют сельскохозяйственным животным и птице для нормализации гемоцитопоеза, профилактики и лечения нарушений обмена витаминов и микроэлементов.

За первую неделю применения препарата количество эритроцитов у животных опытной группы достоверно ($p < 0,05$) выросло, а после второй его выпойки положительный эффект на эритроцитопоез у телят стал еще больше ($p < 0,001$), по сравнению с показателями у телят контрольной группы.

Концентрация гемоглобина у телят опытной группы также достоверно возрастала от начала применения препарата и до завершения опыта, тогда как у телят контрольной группы в течение всего опыта наблюдалась тенденция к уменьшению его содержания.

Цветовой показатель и насыщенность эритроцитов гемоглобином (MCH) у телят контрольной группы после первого и второго отборов крови достоверно ($p < 0,05$) уменьшались, тогда как у животных опытной группы достоверной разницы между этими показателями не установлено ($p < 0,1$). Средний объем эритроцитов в течение опыта у телят контрольной и опытной групп не отличался ($p < 0,1$).

Под влиянием препарата содержащее железо в сыворотке крови телят опытной группы выросло на 24,2 %. У телят контрольной группы эта тенденция не так заметна (увеличение содержания железа в конце опыта составило лишь +7,8 % ($p < 0,1$), по сравнению с исходными

показателями). Метаболизм цинка, наоборот, не претерпел существенных изменений. Содержание меди у телят опытной группы всегда оставалось достоверно больше, чем у животных контрольной группы.

Препарат «Азбука для животных» положительно влияет на гемоцитопоз у телят благодаря своему комплексному составу (жирорастворимые и водорастворимые витамины, аминокислоты) и улучшает обмен микроэле-

ментов, в частности железа и меди. Влияние на эти процессы витаминов группы В, входящих в состав препарата, считаем особенно ценным в условиях еще формирующегося рубцового пищеварения у молодняка крупного рогатого скота.

Ключевые слова: витаминно-аминокислотный комплекс, эритроцитопоз, гипохромия, микроцитоз, гемоглобин, цветной показатель, гематокрит.



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



Melnyk A.	ID https://orcid.org/0000-0001-9129-4814
Bezukh V.	ID https://orcid.org/0000-0002-8634-946X
Vovkotrub N.	ID https://orcid.org/0000-0003-3297-454X
Bogatko L.	ID https://orcid.org/0000-0002-1084-7315
Tyshkivsky M.	ID https://orcid.org/0000-0003-0826-5276

ХІРУРГІЯ

УДК 616.5-006:636.7

Моніторинг поширення спонтанних неоплазій у собак в умовах м. Львів та в приміській зоні обласного центру**Івашків Б.Б.** , **Мисак А.Р.** , **Хомин Н.М.** , **Пріцак В.В.** *Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*E-mail: hirurgia-fvm@ukr.net

Івашків Б.Б., Мисак А.Р., Хомин Н.М., Пріцак В.В. Моніторинг поширення спонтанних неоплазій у собак в умовах м. Львів та в приміській зоні обласного центру. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2019. № 2. С. 97–104.

Ivashkiv B.B., Mysak A.R., Homyn N.M., Pricak V.V. Monitoring poshyrennja spontannyh neoplazij u sobak v umovah m. L'viv ta v prymis'kij zoni oblasnogo centru. Naukovyj visnyk veterynarnoi medycyny, 2019. № 2. PP. 97–104.

Рукопис отримано: 11.10.2019р.
Прийнято: 07.11.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-97-104

Представлено результати моніторингових досліджень щодо поширення онкологічних хвороб у собак, проведено аналіз частоти захворюваності тварин залежно від породи, статі та віку. Дослідження виконували впродовж 2016–2019 рр. на 2015 собаках, які надходили у навчальні науково-дослідні клініки кафедри хірургії і хвороб дрібних тварин ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Об'єктом досліджень були онкологічно хворі собаки (n=259) різних порід і статі, віком від 4 місяців до 16 років.

Встановлено, що у структурі хірургічних хвороб собак частка неоплазій становить у середньому 12,85 % (10,2–14,9 % у розрізі років спостережень). Серед онкологічних захворювань найчастіше реєстрували неоплазії молочної залози (35,1 %) та пухлини шкіри (29,8 %), рідше – пухлинні ураження органів репродуктивної системи (13,9 %), неоплазії внутрішніх органів (10,5 %), новоутворення у ділянці голови та шиї (6,6 %). Для неопластичних уражень кровотворної і лімфоїдної тканин (2,3 %) та пухлин кісток і суглобів (1,9 %) характерними були спорадичні випадки захворювання. У 20 % собак встановлено симультантне ураження пухлинами різних нозологічних форм; найчастіше траплялися новоутворення шкіри та молочної залози, рідше – шкіри і пухлини у ділянці голови та шиї.

Встановлено, що серед 259 онкологічно хворих собак 23,2 % тварин були безпородними і 76,8 % – породистими (понад 40 порід); самці становили 48,2 %, самки – 51,8 %. Найвищі показники захворюваності на неоплазії встановлено поміж тварин віком від 7 до 12 років; при цьому медіана захворюваності становила 8,5 роки, а мода (найбільша кількість хворих тварин) припадала на вік 9,5 років.

З'ясовано, що динамічне зростання онкологічних захворювань впродовж 2016–2019 рр. відбулося, здебільшого, за рахунок збільшення кількості тварин із новоутвореннями шкіри і меншою мірою – внутрішніх органів. Пухлини шкіри характеризувалися значним різноманіттям нозологічних форм і були діагностовані у собак усіх вікових груп, а також різних порід і статі. Згідно з результатами гістологічної верифікації у 42 або 54,7 % тварин встановлено доброякісні пухлини шкіри і у 35 або 45,5 % випадках – злоякісні. Доброякісні пухлини були представлені, здебільшого, папіломою (26,0 %), рідше – ліпомою (13,0 %), дерматофібромою (10,3 %) трихоепітеліомою (5,2 %). Злоякісні новоутворення розподілені таким чином: мастоцитомою (18,2 %), плоскоклітинний рак (9,1 %), меланома (3,9 %), Т-клітинна лімфома шкіри (3,9 %), базаліома (3,9 %), аденокарцинома (2,6 %), веретеноклітинна саркома (2,6 %), фібросаркома (1,3 %).

Отже, констатовані показники поширеності спонтанних неоплазій у собак Львівського регіону засвідчують, що на сьогодні пухлини шкіри є найбільш пріоритетним та перспективним напрямом подальших досліджень.

Ключові слова: собаки, новоутворення, поширення, клінічна класифікація пухлин, неоплазії шкіри, гістологічний тип пухлин.

Постановка проблеми. Серед різноманітних хвороб, відомих на сьогодні людству, онкологічні захворювання займають особливий статус. По-перше, пухлини мають суттєве поширення (реєструють в усіх країнах та на усіх континентах земної кулі). По-друге, ці хвороби становлять велику небезпеку для життя тварин, включаючи й людину, адже неоплазії здатні уражувати будь-які органи й тканини живого організму; при цьому клінічні прояви захворювання можуть мати різноманітні нозологічні форми. По-третє, для більшості новоутворень не завжди вдається з'ясувати етіологічний чинник та передбачити патогенез захворювання. По-четверте, для онкологічних захворювань характерною є висока летальність, оскільки діагностують патологію, здебільшого, на пізніх етапах розвитку, а за лікування виникають значні труднощі і, нерідко, допускається багато помилок. З огляду на викладене вище, пухлинні захворювання залишаються на сьогодні найменш вивченими у клінічному, патогенетичному та діагностично-лікувальному аспектах, а дослідження в галузі онкології є актуальною проблемою гуманної та ветеринарної медицини.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відомо, що онкологічні хвороби трапляються у тварин усіх видів, проте найчастіше їх реєструють у собак та котів, популяції яких найбільш чисельні серед свійських тварин [1–4]. Відомо також, що собаки та коти перебувають поряд з людиною, в подібних умовах і піддаються несприятливому впливу однакових канцерогенних чинників довкілля. Згідно з даними літератури [5, 6], спонтанні пухлини тварин відповідають багатьом критеріям новоутворень людини, а подібність етіології, патогенезу, симптоматики та морфології пухлин у собак і людини обумовлює використання тварин як моделей для вивчення біології пухлинного процесу та розробки сучасних діагностичних і терапевтичних заходів [7–10]. За повідомленням [11], за останні десятиріччя в галузі ветеринарної онкології у країнах Європи та Північної Америки досягнуто значних успіхів, проте відсутність стандартизації прогностичних досліджень ускладнює їх оцінку і застосування у клінічній практиці.

З цієї причини, вказані вище дослідники пропонують консенсусні рекомендації щодо уніфікованого підходу ветеринарних патологів та онкологів з усього світу стосовно моніторингу поширення онкологічних захворювань, проведення прогностичних досліджень, оцінки клінічного стану хворих тварин на усіх етапах діагностично-лікувального процесу, а також

використання єдиної класифікації і термінології за оцінки стадій розвитку пухлин. Такі рекомендації дозволять лікарям і науковцям уніфікувати результати власних досліджень та використати їх як за планування діагностично-лікувальних заходів і передбачення прогнозу захворювання, так і для обміну інформацією та взаєморозуміння із фахівцями інших ветеринарно-медичних закладів.

Аналіз стану ветеринарного забезпечення здоров'я тварин в Україні показує, що на сьогодні у лікуванні онкологічних хвороб вкрай важливим є встановлення реальних даних щодо частоти поширення і рівня захворюваності на неоплазії різних видів тварин та запровадження у вітчизняну ветеринарну практику сучасних науково обґрунтованих стандартів діагностики та лікування, залежно від нозології та стадії розвитку пухлинної хвороби.

З огляду на зазначене вище, **метою досліджень** було встановлення частоти поширення спонтанних новоутворень у собак, а також з'ясування їх нозології та структури залежно від породи, статі та віку.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проводили впродовж 2016–2019 рр. на 2015 собаках, які надходили в навчальні науково-дослідні клініки кафедри хірургії і хвороб дрібних тварин ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького для надання хірургічної допомоги. Об'єктом досліджень були онкологічно хворі собаки (n=259) різних порід і статі, віком від 4 місяців до 16 років. За первинного обстеження тварин із новоутвореннями, згідно з рекомендацією ВООЗ, нозологічну стандартизацію неоплазій здійснювали за клінічною характеристикою та анатомічною локалізацією. При цьому виділяли такі клінічні форми пухлин: неоплазії шкіри, молочної залози, зовнішніх статевих органів, голови і шиї, кісток і суглобів, кровотворної і лімфоїдної тканин, внутрішніх органів (у тому числі нервової системи, залоз внутрішньої секреції, параанальних залоз). Для детального оцінювання неоплазій використали міжнародну клінічну класифікацію пухлин за системою TNM (Owen L.N., 1980) [12]. Патолого-морфологічну верифікацію ексцизійного матеріалу проводили згідно з гістологічною класифікацією пухлин (Joshi S.K. et al., 2012) [13] та гістологічною класифікацією для пухлин шкіри (Patnaik, A.K. et al., 1984) [14].

Результати дослідження. Впродовж 2016–2019 рр. в клініки кафедри хірургії і хвороб дрібних тварин ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького надійшло 2015 собак із хірургічною патологією. Серед них, згідно з показниками перевальності (кількості випадків хвороби за пев-

ний період часу) онкологічних захворювань, неоплазії було діагностовано у 259 тварин, що складає 12,85 % (табл. 1).

Встановлено, що у структурі онкологічних захворювань собак найбільшу частку – 91 (35,1 %) випадків становили неоплазії молочної залози, дещо меншу – 77 (29,8 %) пухлини шкіри й підшкірної клітковини. Пухлинні ураження зовнішніх статевих органів встановлено у 36 (13,9 %) собак і у 27 (10,5 %) тварин – неоплазії внутрішніх органів. У 17 (6,6 %) собак новоутворення локалізувалися у ділянці голови та шиї. Водночас випадки захворювання на гемобластози та пухлини кісток мали спорадичний прояв і за період досліджень були діагностовані відповідно у 6 (2,3 %) і 5 (1,9%) собак. На підставі аналізу структури онкологічних захворювань у розрізі 2016–2019 років відмічена тенденція щодо збільшення кількості випадків захворювання собак на неоплазії внутрішніх органів та шкіри і, водночас, зменшення випадків ураження пухлинами зовнішніх статевих органів.

тенденція до зниження захворюваності на пухлини, що, очевидно, пов'язано з геріатричним чинником, а саме невеликою кількістю собак, які доживають до цього віку. У тварин цієї вікової категорії неоплазії були представлені новоутвореннями шкіри, молочної залози та внутрішніх органів. Аналіз структури нозологічних форм пухлин, діагностованих у собак різних вікових категорій, засвідчив, що пухлини шкіри на відміну від інших неоплазій трапляються у тварин усіх вікових груп.

Серед онкологічно хворих тварин, що надійшли в клініки, самці становили 48,2 %, самки – 51,8 % (125 псів і 134 суки). Дещо вищий рівень захворюваності у сук зумовлений більш частими випадками новоутворень молочної залози. При цьому частота ураження пухлинами іншої локалізації в обох статей була майже однаковою.

Аналіз захворюваності собак залежно від породи показав, що поміж 259 онкологічно хворих собак 60 (23,2 %) тварин були безпородними і 199 (76,8 %) – породистими (із охоп-

Таблиця 1 – Превалентність онкологічних захворювань собак у розрізі 2016–2019 років

Роки	Обстежено собак з хірургічною патологією	Виявлено онкологічно хворих	
		кількість голів	%
2016	492	52	10,56
2017	529	79	14,93
2018	581	86	14,8
2019 (до липня)	413	42	10,16
<u>Всього</u>	2015	259	12,85

Спонтанні пухлини діагностовано у собак віком від 4 місяців до 16 років. При цьому найвищі показники захворюваності встановлено поміж тварин віком від 7 до 12 років. Водночас медіана захворюваності становила 8,5 роки, а мода (найбільша кількість хворих тварин) припадала на вік 9,5 років. Встановлено також, що серед тварин різних вікових груп частота захворюваності на різні нозологічні форми неоплазій характеризувалася певними особливостями. Зокрема, у молодих собак віком до 2 років реєстрували, зазвичай, папіломатозні ураження ротової порожнини та шкіри. У тварин віком 3–6 років найчастіше діагностували пухлини шкіри, статевих органів, зокрема трансмісивну венеричну саркому, пухлини кісток, дещо рідше – новоутворення молочної залози та інших органів. Зростання показників захворюваності на 7–10 році життя тварин було зумовлене частими випадками неоплазій молочної залози та шкіри, а також новоутвореннями у ділянці голови та ураженнями кровотворної й лімфоїдної тканини. Серед тварин віком 11 років і старших, в цілому, відмічена

ленням понад 40 порід). Можна зауважити, що встановити серед них вірогідну інформацію щодо схильності до конкретного неопластичного захворювання, не завжди можливо. Адже кількість собак тої чи іншої породи в межах міста є різною (в розрізі років), а значить і кількість спорадичних випадків захворювання може бути адекватною кількості тварин даної породи. Відмічено, що серед собак найбільш поширених у Львівському регіоні порід прослідковується певна схильність до розвитку тих чи інших новоутворень. Так, окрім неоплазій молочної залози та внутрішніх органів, які траплялися у собак незалежно від породи, пухлини шкіри та підшкірної клітковини досить часто реєстрували у собак таких порід як німецька вівчарка (5,8 %), ротвейлер (5 %), стаффордширський тер'єр (5 %), у собак порід: пудель, спаніель, різеншнауцер, ердельтер'єр, фокстер'єр, боксер, доберман, такса, пекінес, лабрадор-ретривер, шарпей, кане-корсо, французький бульдог, такі неоплазії сягали від 2 до 4,6 %. Для собак порід боксер, бордоський дог, кокер-спаніель, крім цього, були властиві

також ураження органів ротової порожнини та гемобластози. Ураження кісток та суглобів, зокрема остеосаркому, встановлено у собак великих порід (кавказька вівчарка, алабай, ротвейлер, ризеншнауцер). Слід відмітити, що у 52 (20 %) собак встановлено симультантне ураження пухлинами різних нозологічних форм, зокрема, найчастіше траплялися пухлини шкіри та молочної залози, рідше – шкіри та пухлини в ділянці голови і шиї.

Зважаючи на те, що пухлини шкіри та підшкірної клітковини займали провідне місце у структурі онкологічних захворювань і були встановлені у собак різних порід та статей, фактично у тварин усіх вікових груп, та характеризувалися значним різноманіттям клінічного прояву, були проведені дослідження щодо встановлення нозологічних форм таких пухлин.

Згідно з результатами гістологічної верифікації у 42 або 54,7 % тварин виявлені доброякісні пухлини шкіри і у 35 або 45,5 % випадках – злоякісні. Доброякісні пухлини були представлені, здебільшого, папіломою – 20 (26,0 %) випадків, рідше ліпомою – 10 (13,0 %), дерматофібромою – 8 (10,3 %) трихоепітеліомою – 4 (5,2 %). Злоякісні новоутворення розподілені таким чином: мастоцитомою – 14 (18,2 %), плоскоклітинний рак – 7 (9,1 %), меланома – 3 (3,9 %), Т-клітинна лімфома шкіри – 3 (3,9 %), базаліома – 3 (3,9 %), аденокарцинома – 2 (2,6 %), веретеноклітинна саркома – 2 (2,6 %), фібросаркома – 1 (1,3 %).

Обговорення. Згідно з повідомленнями зарубіжних дослідників [8,15–17], онкологічні захворювання серед собак із хірургічною патологією становлять від 8 до 18 %. При цьому в структурі онкологічних хвороб неоплазії молочної залози можуть коливатися в межах 25–43 %, новоутворення шкіри, відповідно, – 15–37 %, репродуктивних органів – 10–17 %, ротової порожнини – 3–13 %, скелета – 3,9–5,8 %, лімфоми – 3 %. Згідно з узагальненими даними вітчизняних дослідників [18–22], ситуація щодо поширення онкологічних захворювань собак в Україні є досить подібною, а показники захворюваності на неоплазії та їх структура суттєво не відрізняються від даних зарубіжних вчених. Однак, згідно з метааналізом щодо узагальнення результатів досліджень онкологічних захворювань [11], відмічено, що стрімкий розвиток ветеринарної онкології і зростання об'єму знань у цій галузі на сьогодні суттєво змінюють алгоритм діагностики та лікування неоплазій. Тому виникає необхідність моніторингових досліджень та постійної переоцінки й перегляду поточного стану епідеміологічної ситуації щодо онкологічних захворювань.

Аналіз даних моніторингу епідеміологічної ситуації щодо онкологічних захворювань тварин у м. Львів та в приміській зоні обласного центру за 45-річний період (1975–2019 рр.) засвідчив зростання випадків онкологічної патології у собак більше ніж у 4,5 рази. Зокрема, відповідно до повідомлень [23, 24], в період з 1975 до 1985 роки серед загальної кількості тварин із хірургічними хворобами, частка собак з новоутвореннями становила 2,8 %, у 1986–1987 рр. відсоток уражених пухлинами тварин зріс до 4 %, впродовж 1990–1998 років кількість онкохворих собак становила, в середньому за рік, 5,5 %, за 2000–2010 рр. онкологічну патологію діагностовано, в середньому, у 7,24 % (5,94–8,3 %) тварин. Згідно з даними моніторингових досліджень за 2011–2015 рр. відсоток тварин, хворих на пухлини, в структурі загальної кількості собак із хірургічною патологією становив 8,1 % (6,2–12,1 %). Суттєве зростання захворюваності на пухлини встановлено у 2016–2019 рр. У розрізі останніх років кількість собак з неоплазіями коливалася в межах 10,2–14,9 % і становила, в середньому, 12,85 %. Встановлено, що у структурі онкологічних захворювань собак найбільшу частку становили неоплазії молочної залози (35,1 %) та пухлини шкіри (29,8 %), рідше траплялися пухлинні ураження органів репродуктивної системи (13,9 %), неоплазії внутрішніх органів (10,5 %), новоутворення в ділянці голови та шиї (6,6 %), гемобластози (2,3 %) та пухлини кісток (1,9 %). При цьому відмічено, що динамічне зростання онкологічних захворювань на період досліджень відбулося, здебільшого, через збільшення кількості тварин із новоутвореннями шкіри і менше – внутрішніх органів.

Таким чином, констатовані показники поширеності спонтанних неоплазій у собак Львівського регіону засвідчують, що на сьогодні пухлини шкіри є найбільш пріоритетним та перспективним напрямом подальших досліджень.

Висновки. 1. У структурі хірургічних хвороб собак частка неоплазій займає у середньому 12,85 % (10,2–14,9 % у розрізі років спостережень). Найбільший відсоток серед онкологічних захворювань становили неоплазії молочної залози (35,1 %) та пухлини шкіри (29,8 %), рідше траплялися пухлинні ураження органів репродуктивної системи (13,9 %), неоплазії внутрішніх органів (10,5 %), новоутворення у ділянці голови та шиї (6,6 %), гемобластози (2,3 %) та пухлини кісток (1,9 %).

2. Спонтанні пухлини діагностовано в собак віком від 4 місяців до 16 років. Найвищі показники захворюваності встановлено поміж

тварин віком від 7 до 12 років; при цьому медіана захворюваності становила 8,5 роки і мода – 9,5 років.

3. Серед онкологічно хворих тварин, що надійшли в клініки, пси становили 48,2 % і суки – 51,8 %. Згідно з породною структурою онкопатології 23,2 % тварин були безпородними і 76,8 % – породистими (із охопленням понад 40 порід).

4. Зростання показника онкологічних захворювань собак впродовж 2016–2019 рр. відбулося, в основному, за рахунок збільшення кількості тварин із неоплазіями шкіри і, менше – неопластичних уражень внутрішніх органів. Пухлини шкіри характеризувалися значним різноманіттям нозологічних форм і були діагностовані у собак усіх вікових груп, а також різних порід і статей. Згідно з результатами гістологічної верифікації у 42 або 54,7 % тварин встановлено доброякісні пухлини шкіри і у 35 або 45,5 % випадках злоякісні. Доброякісні пухлини представлені, здебільшого, папіломою (26,0 %), рідше – ліпомою (13,0 %), дерматофібромою (10,3 %), трихоепітеліомою (5,2 %). Із злоякісних неоплазій верифіковано мастоцитому (18,2 %), плоскоклітинний рак (9,1 %), меланому (3,9 %), Т-клітинну лімфому шкіри (3,9 %), базаліому (3,9 %), аденокарциному (2,6 %), веретеноклітинну саркому (2,6 %) та фібросаркому (1,3 %).

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Baba A.I., Cătoi C. Comparative Oncology Bucharest: The Publishing House of the Romanian Academy; 2007. P.14–29.
2. Villamil J.A. Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms / J.A. Villamil, et al. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2011 Oct 1. Vol. 239(7), P. 960–965. Doi: <https://doi.org/10.2460/javma.239.7.960>.
3. Butler L., Bonett B., Page R. Epidemiology and the evidence-based medicine approach / Withrow S.J. et al. Animal Clinical Oncology – E-Book. Elsevier Saunders, St. Louis, 2013. P. 69–80.
4. The Swiss Canine Cancer Registry: A Retrospective Study on the Occurrence of Tumours in Dogs in Switzerland from 1955 to 2008 / K. Grüntzig et al. Journal of Comparative Patholog. Vol. 152. Issues 2–3. February–April 2015. P. 161–171. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.02.005>
5. Comparative oncology: The paradigmatic example of canine and human mast cell neoplasms / M. Willmann et al. Vet Comp Oncol. 2019. Vol. 17(1). P. 1–10. Doi: <https://doi.org/10.1111/vco.12440>.
6. Garden O.A., Volk S.W., Mason N.J., Perry J.A. Companion animals in comparative oncology: One Medicine in action. The Veterinary Journal. 2018. Vol. 240. P. 6–13. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.08.008>.
7. Brønden L.B., Flagstad A., Kristensen A. T. Veterinary cancer registries in companion animal cancer: a review Journal compilation. 2007 Blackwell Publishing Ltd, Veterinary and Comparative Oncology. Vol. 5.3. P. 133–144. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2007.00126.x>
8. Parker H.G., Shearin A.L., Ostrander E.A. Man's best friend becomes biology's best in show: genome analyses in the domestic dog Annual Review of Genetics. 2010. Vol. 44. P. 309–336. Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102808-115200>.
9. Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis / S.S. Pinho et al. Translational Research. 2012. Vol. 159. no. 3. P. 165–172. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.11.005>.
10. Gaetano Gargiulo. Next-Generation in vivo Modeling of Human Cancers. Front. Oncol., 10 October 2018. Doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00429>.
11. Recommended Guidelines for the Conduct and Evaluation of Prognostic Studies in Veterinary Oncology / J. D. Webster, et al. Veterinary Pathology. 2011. Vol. 48 (1). P. 7–18.
12. Owen L.N. TNM Classification of Tumors in Domestic Animals. Geneva: World Health Organization, 1980. 53 p.
13. Joshi S.K., Bhadauria R.S., Diwaker A.K. Introduction to Neoplasm: «Tumor Classification». Joshi and Jadon IJARPB. 2012. Vol. 2 (2). P. 227–263.
14. Patnaik A.K., Ehler W.J., MacEwen E.G. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. Vet Pathol. 1984. Vol. 21. P. 469–474.
15. Northrup N., Geiger T. Tumors of the skin, subcutis and other soft tissues / C. Henry, M.L. Higginbotham eds. Cancer Management in Small Animal Practice. Saunders. 2010. P. 299–313.
16. Morris J., Dobson J. Onkologia mallych zwierząt. Sima WLW: Warszawa, 2003. 351 p.
17. Hauck M.L. Tumors of the skin and subcutaneous tissues / S.J. Withrow, D.M. Vail, R. Page eds. Small Animal Clinical Oncology. 5th ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders. 2013. P. 305–320.
18. Мисак А.Р. Проблема неоплазій у продуктивних і дрібних домашніх тварин. Науковий вісник ЛНУВМтаБТ імені С.З. Гжицького. Том 14. №2 (52). Ч. 1. Серія „Ветеринарні науки“. Львів, 2012. С. 250–255.
19. Пустовіт Р.В., Данилейко Ю. М., Рубленко М. В. Моніторинг хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин ДЛВМ у Київському районі м. Одеси за 2003–2005 роки. Вісник Білоцерківського НАУ. Біла Церква, 2006. Вип. 36. С. 132–137.
20. Рубленко М.В., Білий Д. Д. Поширення спонтанних новоутворень молочної залози у собак в умовах м. Дніпропетровськ. Вісник ЖНАЕУ. Житомир: Полісся, 2012. Вип. 1 (32). Т. 3. Ч. 2. С. 12–18.
21. Зон Г.А., Івановська Л. Б., Доб'я М.В. Результати діагностики пухлин собак в м. Суми. Вісник Сумського НАУ: Серія «Ветеринарна медицина». Суми, 2013. Вип. 9 (33). С. 171–174.
22. Лещова М.О., Шулешко О.О., Балчугов В.О. Поширення і структура новоутворень тварин у місті Дніпро. Науково-технічний бюлетень Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Наукове електронне видання. Т. 6. № 2. 2018. С. 30–38.

23. Гамота А.А., Завірюха В.І., Крупник Я.Г., Мисак А.Р. Пухлини тварин: етіологія, патогенез, діагностика, комплексна терапія. Львів: Галицька видавнича спілка, 2007. 168 с.

24. Мисак А.Р. Застосування клінічної класифікації пухлин за системою TNM при спонтанних новоутвореннях у собак. Науковий вісник ЛНУВМ та БТ імені С. З. Гжицького. Львів, 2010. Том 12. № 3 (45). Ч. 1. С. 170–176.

REFERENCES

- Baba, A.I., Cătoi, C. (2007). *Comparative Oncology Bucharest: The Publishing House of the Romanian Academy*. pp. 14–29.
- Villamil, J.A., Henry, C.J., Bryan, J.N., Ellersieck, M., Schultz, L., Tyler, J.W., Hahn, A.W. (2011). Identification of the most common cutaneous neoplasms in dogs and evaluation of breed and age distributions for selected neoplasms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* Oct 1. Vol. 239(7), pp. 960–965. Available at: <https://doi.org/10.2460/javma.239.7.960>.
- Withrow S.J., et al. (2013). *Epidemiology and the evidence-based medicine approach. Animal Clinical Oncology - E-Book*. Elsevier Saunders, St. Louis, pp. 69–80.
- Grüntzig, K., Graf, R., Hässig, M., Welle, M., Meier, D., Lott, G., Erni, D., Schenker, N.S., Guscetti, F., Boo, G., Axhausen, K., Fabrikant, S., Folkers, G., Pospischil, A. (2015). The Swiss Canine Cancer Registry: A Retrospective Study on the Occurrence of Tumours in Dogs in Switzerland from 1955 to 2008. *Journal of Comparative Patholog.* Vol. 152(2–3), pp. 161–171. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.02.005>.
- Willmann, M., Hadzijušufovic, E., Hermine, O. (2019). Comparative oncology: The paradigmatic example of canine and human mast cell neoplasms. *Vet Comp Oncol.* Vol. 17(1), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1111/vco.12440>.
- Garden, O.A., Volk, S.W., Mason, N.J., Perry, J.A. (2018). Companion animals in comparative oncology: One Medicine in action. *The Veterinary Journal.* Vol. 240, pp. 6–13. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.08.008>.
- Brønden, L.B., Flagstad, A., Kristensen, A.T. (2007). Veterinary cancer registries in companion animal cancer: a review. *Veterinary and Comparative Oncology.* Vol. 5(3), pp. 133–144. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2007.00126.x>.
- Parker, H.G., Shearin, A.L., Ostrander, E.A. (2010). Man's best friend becomes biology's best in show: genome analyses in the domestic dog *Annual Review of Genetics.* Vol. 44, pp. 309–336. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102808-115200>.
- Pinho, S.S., Carvalho, S., Cabral, J., Reis, C.A., Gärtner, F. (2012). Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis. *Translational Research.* Vol. 159(3), pp. 165–172. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.11.005>.
- Gaetano, Gargiulo. (2018). Next-Generation in vivo Modeling of Human Cancers. *Front. Oncol.*, 10 October. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00429>.
- Webster, J.D., Dennis, M.M., Dervisis, N. (2011). Recommended Guidelines for the Conduct and Evaluation of Prognostic Studies in Veterinary Oncology. *Veterinary Pathology.* Vol. 48(1), pp. 7–18.
- Owen, L.N. (1980). *TNM Classification of Tumors in Domestic Animals* Geneva: World Health Organization.
- Joshi, S.K., Bhadauria, R.S., Diwaker, A.K. (2012). Introduction to Neoplasm: «Tumor Classification». Joshi and Jadon IJARPB. Vol. 2(2), pp. 227–263.
- Patnaik, A.K., Ehler, W.J., MacEwen, E.G. (1984). Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet Pathol.* Vol. 21, pp. 469–474.
- Northrup, N., Geiger, T. (2010). Tumors of the skin, subcutis and other soft tissues. In: Henry C., Higginsbotham M.L., eds. *Cancer Management in Small Animal Practice*. Saunders. pp. 299–313.
- Morris, J., Dobson, J. (2003). *Onkologia malych zwierząt*. Sima WLW: Warszawa, 351 p.
- Hauck, M.L. (2013). Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: Withrow S.J., Vail D.M., Page R., eds. *Small Animal Clinical Oncology*. 5th ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders. pp. 305–320.
- Mysak, A.R. (2012). Problema neoplazii u produktivnykh i dribnykh domashnikh tvaryn [The problem of neoplasia in productive and small pets]. *Naukovyi visnyk LNUVM ta BT imeni S. Z. Gzhytskoho [Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies]*. The Veterinary Science Series. Lviv, Vol. 14, no. 2(52), pp. 250–255.
- Pustovit, R.V., Danyleiko, Yu.M., Rublenko, M.V. (2006). Monitoryng khirurhichnoi patolohii sered dribnykh domashnikh tvaryn DLVM u Kyivskomu raioni m. Odesy za 2003–2005 roky [Monitoring of surgical pathology among small animals of DLVM in the Kiev region of Odessa for 2003–2005]. *Bulletin of Belotserkovsky NAU. Bila Tserkva*, Issue 36, pp. 132–137.
- Rublenko, M.V., Bilyi, D.D. (2012). Poshyrennia spontannykh novoutvoren molochnoi zalozy u sobak v umovakh m. Dnipropetrovsk [Spread of spontaneous breast tumors in dogs in Dnipropetrovsk]. *Bulletin of ZhNAEU. Zhytomyr: Polesie*, Issue 3, Vol. 1(32), pp. 12–18.
- Zon, H.A., Ivanovska, L.B., Dobia, M.V. (2013). Rezultaty diahnozyky pukhlyn sobak v m. Sumy [Results of diagnostics of dog tumors in Sumy]. *Visnyk Sumskoho NAU: Serii «Veterynarna medytsyna» [Bulletin of Sumy NAU: Series "Veterinary Medicine"]*. Sumy, Issue 9(33), pp. 171–174.
- Lieshchova, M.O., Shuleshko, O.O., Balchuhov, V.O. (2018). Poshyrennia i struktura novoutvoren tvaryn u misti Dnipro [Distribution and structure of animal neoplasms in the city of Dnipro]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten Naukovo-doslidnoho tsentru biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK Dniprovskoho derzhavnogo ahrarno-ekonomichnoho universytetu Naukove elektronne vydannia [Scientific and Technical Bulletin of the Research Center for Biosafety and Environmental Control of the Agricultural Resources of the Dnipro State Agrarian and Economic University Scientific Electronic Edition]*. Vol. 6(2), pp. 30–38.
- Hamota, A.A., Zaviriukha, V.I., Krupnyk, Ya.H., Mysak, A.R. (2007). Pukhlyny tvaryn: etiologia, patohenez, diahnozyka, kompleksna terapiia [Tumors of animals: etiology, pathogenesis, diagnostics, complex therapy]. Lviv: Galician Publishing Union.
- Mysak, A.R. (2010). Zastosuvannia klinichnoi klasyfikatsii pukhlyn za systemoiu TNM pry spontannykh novoutvorennyakh u sobak [Application of clinical classification of tumors according to the TNM system in spontaneous neoplasms in dogs]. *Naukovyi visnyk LNUVM ta BT imeni S.Z. Gzhytskoho [Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies]*. 12, 3(45), pp. 170–176.

Мониторинг распространения спонтанных неоплазий у собак в условиях г. Львов и в пригородной зоне областного центра

Ивашкив Б.Б., Мисак А.Р., Хомин Н.М., Прицак В.В.

Представлено результаты мониторинговых исследований по распространению онкологических болезней у собак, проведен анализ частоты заболеваемости животных в зависимости от породы, пола и возраста. Исследования выполняли в течение 2016–2019 гг. на 2015 собаках, которые поступали в учебные научно-исследовательские клиники кафедры хирургии и болезней мелких животных ЛНУВМБ имени С.З. Гжицкого. Объектом исследований были онкологически больные собаки (n = 259) различных пород и пола в возрасте от 4 месяцев до 16 лет.

Установлено, что в структуре хирургических болезней собак доля неоплазий составляет в среднем 12,85 % (10,2–14,9 % в разрезе лет наблюдений). Среди онкологических заболеваний чаще всего регистрировали неоплазии молочной железы (35,1 %) и опухоли кожи (29,8 %), реже – опухолевые поражения органов репродуктивной системы (13,9 %), неоплазии внутренних органов (10,5 %), новообразования в области головы и шеи (6,6 %). Для неопластических поражений кроветворной и лимфоидной тканей (2,3 %) и опухолей костей и суставов (1,9 %) характерными были спорадические случаи заболевания. У 20 % собак установлено симультантное поражение опухолями различных нозологических форм; чаще всего случались новообразования кожи и молочной железы, реже – опухоли в области головы и шеи.

Установлено, что среди 259 онкологически больных собак 23,2 % животных были беспородными и 76,8 % – породистыми (с охватом более 40 пород); самцы составляли 48,2 %, а самки – 51,8 %. Самые высокие показатели заболеваемости неоплазиями установлены среди животных в возрасте от 7 до 12 лет; при этом медиана заболеваемости составила 8,5 года, а мода (наибольшее количество больных животных) приходилась на возраст 9,5 лет.

Выяснено, что динамичный рост онкологических заболеваний в период 2016–2019 г произошёл, в основном, за счёт увеличения количества животных с новообразованиями кожи и в меньшей степени – внутренних органов. Опухоли кожи характеризовались значительным разнообразием нозологических форм и были диагностированы у собак всех возрастов, а также различных пород и стати. Согласно результатам гистологической верификации в 42 или 54,7 % животных установлено доброкачественные опухоли кожи и в 35 или 45,5 % случаях – злокачественные. Доброкачественные опухоли были представлены, в основном, папилломой (26,0 %), реже – липомой (13,0 %), дерматофибромой (10,3 %) трихоэпителиомой (5,2 %). Злокачественные новообразования распределены следующим образом: мастоцитомы (18,2 %), плоскоклеточный рак (9,1 %), меланома (3,9 %), Т-клеточная лимфома кожи (3,9 %), базалиома (3,9 %), аденокарцинома (2,6 %), веретеноклеточная саркома (2,6 %), фибросаркома (1,3 %).

Таким образом, констатированные показатели распространенности спонтанных неоплазий у собак Львовского региона свидетельствуют, что на сегодня опухоли кожи являются наиболее приоритетным и перспективным направлением дальнейших исследований.

Ключевые слова: собаки, новообразования, распространение, клиническая классификация опухолей, неоплазии кожи, гистологический тип опухоли.

Monitoring of spontaneous neoplasia distribution in dogs in the conditions of Lviv and in the suburban area of the regional center

Ivashkiv B., Mysak A., Khomyn N., Pritsak V.

The article deals with the results of monitoring searches on the spread of cancer in dogs and conducted the analysis of incidence rates of animals depending on breed, gender and age. Research were performed during the 2016-2019 years on 2015 dogs, who came to the educational research clinics of the Department of Surgery and Diseases of Small Animals named after Stepan Gzhytskyj LNUVMB. Cancer patients sick dogs (n = 259) of different breeds and genders, aged from 4 months to 16 years, were the subject of research.

It was installed, that in the structure of surgical diseases of dogs the share of neoplasia averages 12.85% (10.2-14.9% by years of observation). Among neoplasms, breast neoplasia (35.1%) and skin tumors (29.8%) were most commonly reported, less frequently - tumor lesions of the organs of the reproductive system (13.9%), neoplasia of the internal organs (10.5%), neoplasms in the head and neck (6.6%). Neoplastic lesions of hematopoietic and lymphoid tissues (2.3%) and tumors of bones and joints (1.9%) were characterized by sporadic cases. In 20% of dogs, there was a simultaneous tumor lesion of different nosological forms; most often there are skin and breast tumors, less often skin and tumors in the head and neck.

It was also installed, that among 259 dog cancer patients, 23.2% of the animals were outbred and 76.8% were purebred (with more than 40 breeds); males accounted for 48.2% and females for 51.8%. The highest incidence of neoplasia was found in animals between 7 and 12 years of age; the median incidence was 8.5 years, and fashion (the highest number of diseased animals) was 9.5 years.

It is found out that the dynamic growth of oncological diseases during 2016-2019 occurred, for the most part, by increasing the number of animals with skin tumors and, to a lesser extent, internal organs. Skin tumors were characterized by a wide variety of nosological forms and were diagnosed in dogs of all ages, as well as different breeds and genders. According to the results of histological verification, 42 or 54.7% of animals had benign tumors of the skin and malignancies in 35 or 45.5% of cases. It was also installed, that benign tumors were mostly represented by papilloma (26.0%), less frequently - lipoma (13.0%), dermatofibroma (10.3%), trichoepithelioma (5.2%). Malignancies are distributed as follows: mastocytoma (18.2%), squamous cell carcinoma (9.1%), melanoma (3.9%), T-cell lymphoma of the skin (3.9%), basalioma (3.9%),

adenocarcinoma (2.6 %), spindle cell sarcoma (2.6%) fibrosarcoma (1.3%).

Therefore, the reported prevalence of spontaneous neoplasia in dogs in our region certify that skin tumors are

currently the most important and promising area for further research.

Key words: dogs, neoplasms, spread, clinical classification of tumors, skin neoplasia, histological type of tumors.



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



Івашків Б.Б.

ID <http://orcid.org/0000-0002-1566-2213>

Мисак А.Р.

ID <http://orcid.org/0000-0002-0063-3532>

Хомин Н.М.

ID <http://orcid.org/0000-0003-2239-9334>

Пріцак В.В.

ID <http://orcid.org/0000-0002-2687-6444>

ХІРУРГІЯ

UDC 619:611.018:616-003.93:636

Technologies for producing platelet masses for regenerative medicine (оглядова стаття)

Sevchenko S., Rublenko M. , Bonkovsky O.

Bila Tserkva National Agrarian University

 БНАУ, м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1. E-mail: B.Svetlana@ukr.net

Sevchenko S., Rublenko M.,
Bonkovsky O. Technologies for
producing platelet masses for regen-
erative medicine. Науковий вісник
ветеринарної медицини, 2019.
№ 2. С. 105–117.

Рукопис отримано: 11.10.2019р.
Прийнято: 10.11.2019р.
Затверджено до друку: 17.12.2019р.

doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-105-117

The development of regenerative medicine is to improve existing and to search for new tools for morphological and functional tissue repair, among which plasma or fibrin enriched with platelets (PRP and PRF) can be significant. Autogenic platelet masses stimulate collagen synthesis, induce vascular growth, reduce pain, provide hemostasis, accelerate regeneration, reduce the risk of postoperative infectious and inflammatory complications, and also have powerful osteoinductive properties.

Due to the ability to produce the majority of growth factors, platelets can affect all stages of the inflammatory-regenerative process, and therefore their biological products are of great importance in solving the problems of regenerative medicine. The technologies for obtaining PRP and PRF are based on centrifugation of blood, as a result of which its active components are concentrated in certain areas of the centrifuge.

Blood sampling with or without an anticoagulant, as well as modification of centrifugation protocols, allows to obtain various forms of platelet masses, such as a liquid, gel or clots. They are classified, depending on the cellular content and architecture of fibrin, into several categories, namely: pure plasma enriched in platelets (P-PRP), plasma enriched in leukocytes and platelets (L-PRP); injectable fibrin enriched with platelets (i-PRF) and pure fibrin enriched with platelets (P-PRF), as well as fibrin enriched with white blood cells and platelets (L-PRF).

The main difference in the manufacture of PRP compared to PRF is the use of anticoagulants and activators, as well as the possibility of using two-stage centrifugation.

Platelet mass is used as an independent component mainly to stimulate the restoration of muscle tissue, to heal chronic wounds, to treat articular pathologies, and in combination with other materials, in particular to replace bone defects.

The mechanisms of influence of each of the categories of platelet mass on tissue regeneration remains poorly understood. It is necessary to standardize the protocols for their preparation, taking into account the influence of additional substances, such as platelet activators or blood clotting and anticoagulants, as well as optimization of the methods for using each of the platelet mass forms.

Key words: platelets, PRP, PRF, centrifuges, centrifugal force.

Problem statement, analysis of recent research. In recent years, regenerative biomedicine has acquired significant theoretical and practical development, which represents scientifically based concepts, methods and technologies for the obtaining and storage of cellular and tissue-engineered products, restoration and controlled regeneration of tissues and organs, their structures and functions. The problems of regenerative biomedicine are extremely wide. On the one

hand, it is caused by significant differences in the regenerative properties of tissues and organs, and on the other hand, by the loss of their reparative potential [1, 2].

The reasons for this can be various factors, in particular tissue degeneration, oxidative damage and an imbalance of regenerative mechanisms based on the loss of blood supply or large-volume injuries, their complications by infectious and inflammatory processes, metabolic syndrome or

immunopathological processes leading to tissue destruction or metaplasia [3].

The technologies of regenerative medicine turned out to be especially widespread in traumatology and orthopedics for damage to ligaments and tendons, cartilage and bones [1, 4]. Although bone tissue, due to its exclusively cellular type of regeneration, has the unique property of forming identical bone regenerate, the reparative osteogenesis is often complicated by various pathological conditions. However, many innovative approaches have not improved yet the clinical results of treatment of significant bone defects [5, 6]. They are primarily aimed at the use of auto-transplants, allotransplants and tissue-engineering structures associated with cells or other biological factors [1]. Each of the options has certain disadvantages, such as reduced bioactivity of implants, immunological inflammatory reactions, the need for additional surgical intervention, limited availability, inadequate size and shape, as well as transmission of diseases from the donor [7, 8, 9].

This necessitates the improvement and search for new accessible, safe and optimal materials that must meet certain requirements [10]: biocompatibility, stimulation of angiogenesis [5], osteo-conductivity and osteo-inductivity [11], as well as the absence of inflammatory, allergic and toxic reactions [10].

At the same time, significant attention is paid to various growth factors and bone morphogenetic proteins [12, 13]. However, platelet masses can be their alternative; they can enhance and optimize regeneration processes due to the content of all known growth factors in platelets [4, 9, 14].

Platelets and platelet mass.

Platelets are nuclear-free spherical cells with a diameter of 2-4 microns [15]. In the blood stream, they circulate for about 9–11 days, capable of instant adhesion, aggregation, and secretion of their granules contents [16], the first to accumulate in large numbers in areas of damaged vessel and surrounding tissues [17]. These cells contain almost all possible sources of reactive oxygen species, such as xanthine oxidase, cytoplasmic NAD (F) H oxidase, mitochondria, and enzymes that catalyze the conversion of arachidonic acid. Active forms of oxygen perform many functions in the body: participation in the reactions of oxidative phosphorylation, biosynthesis of prostaglandins and nucleic acids, in the processes of mitosis and decay of phagocytized bacterial cells [18].

In platelets there are about 35 α -granules and 5 dense bodies that serve as the main storage tanks for various biologically active substances [17].

Platelet activation occurs by a number of stimulants (thrombin, calcium chloride, collagen, etc.) [19] due to contact with specific receptors located on their surface, or as a result of interaction with collagen, von Willebrand factor and other adhesive proteins. At the same time, the intracellular concentration of calcium ions increases, and as a result, the proteins of the platelets cell membrane mediate adhesion and aggregation [15, 20, 21].

In general, due to its complex organization, platelets carry out and control adhesion, aggregation and primary vascular-platelet hemostasis, angiogenic and reparative functions, which became the basis for the use of concentrates or a combination with fibrin and leukocytes for a variety of pathologies.

The concept of “platelet masses” is a term that summarizes the name of products made by centrifuging blood immediately after sampling it. They can be activated, not activated, with or without leukocytes, but all are characterized by increased platelet concentration to a certain level [22].

Autogenic platelet masses stimulate collagen synthesis, induce vascular growth, reduce pain, provide hemostasis, accelerate regeneration, and reduce the risk of postoperative infectious and inflammatory complications, which has led to their use for treating soft tissue wounds and inducing reparative osteogenesis for bone defects [23–27].

Platelet concentrates are becoming more widely used in various fields of humane medicine such as orthopedics, otorhinolaryngology, gynecology, cosmetic surgery, ophthalmology, general surgery and dentistry [22, 28], as well as recently in veterinary medicine. Plasma enriched with platelets has powerful osteoinductive properties, and therefore it is combined with various osteoconductive materials [29].

Different forms of platelet mass are made by modifying the protocols of blood centrifuging. Their classification is based on two main parameters, such as fibrin architecture and cell content. Depending on this, platelet concentrates can be divided into 5 main categories [22, 33]:

- pure platelet-rich plasma (Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP)) or plasma rich in growth factors (Plasma Rich in Growth Factors (PRGF))

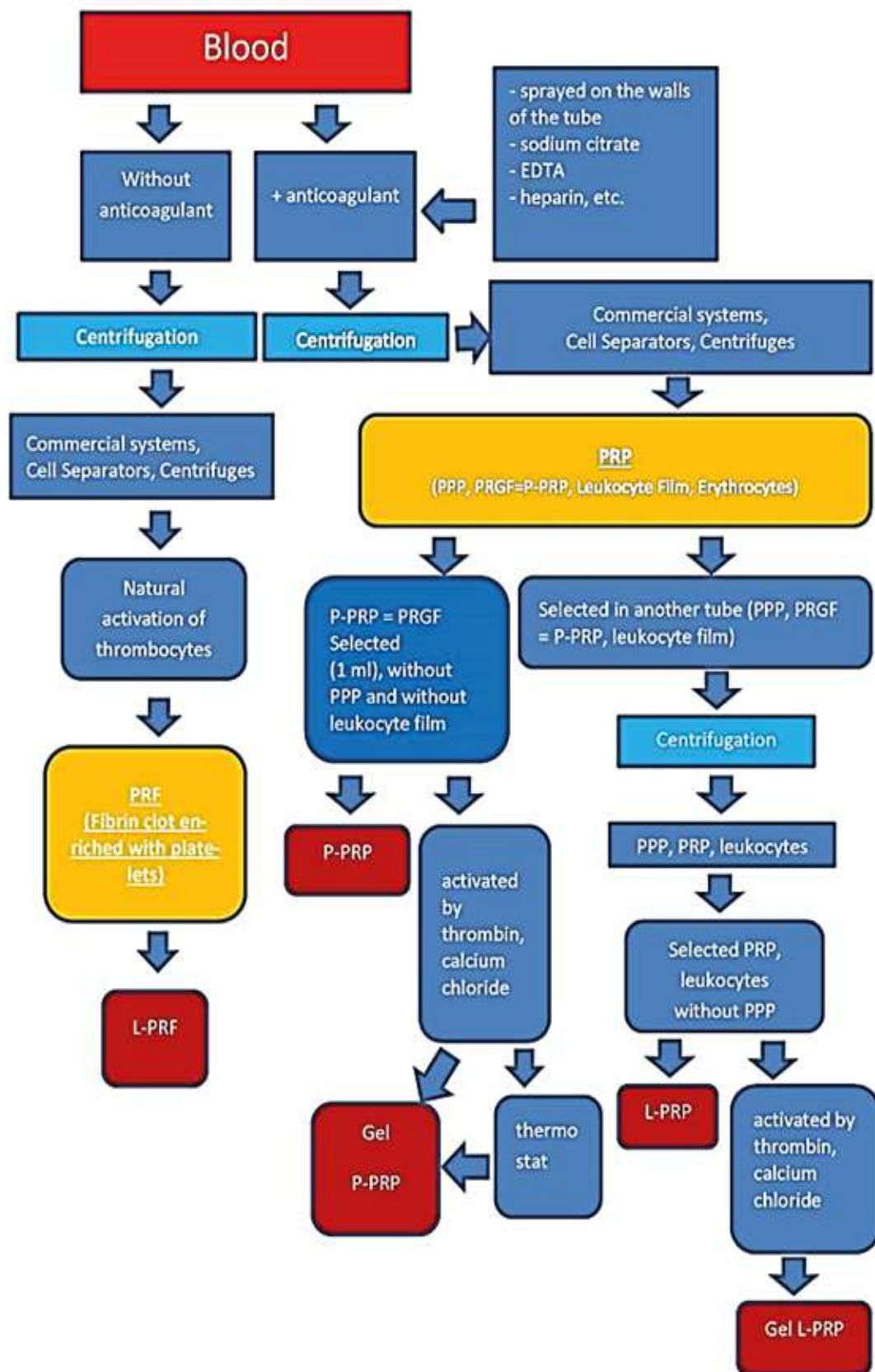


Fig. 1. Preparation of platelet masses.

- plasma enriched in white blood cells and platelets (Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma (L-PRP))

- injectable platelet-rich fibrin (injectable-Platelet-Rich Fibrin (i-PRF))

- pure fibrin enriched with platelets (Pure Platelet-Rich Fibrin (P-PRF)), commercial name Fibrinet (its manufacturing technology involves the use of an anticoagulant)

- fibrin enriched with leukocytes and platelets (Platelet-Rich Fibrin (L-PRF)) [37, 38, 30].

The therapeutic efficacy of P-PRP and PRF is based on the action of a significant number of growth factors and other signaling molecules concentrated in platelet granules [39]: platelet growth factor (PDGF) [7, 40], transforming growth factor beta (TGF- β) [41], fibroblast growth factor (FGF) [37], insulin-like growth factor-1 (IGF-1) [22], insulin-like growth factor-2 (IGF-2), vascular endothelial growth factor (VEGF) [28], epidermal growth factor (EGF), interleukin 8 (IL-8), keratinocyte growth factor (KGF) and connective tissue growth factor (CTGF) [39, 42].

Their molecules induce and regulate angiogenesis, extracellular matrix remodeling, and cellular effects: stem cell involvement, chemotaxis, proliferation, and differentiation [43]. That is, they are able to influence any stage of the regenerative process - inflammatory, proliferative and remodeling. However, the effectiveness of their influence on these biological mechanisms largely depends on the degree of release and activity of growth factors and other substances of platelets, which is determined by the technology and protocol of their concentration [28].

These forms of platelet mass are used: liquid, gel [35], clots or films (membranes) of fibrin [44, 30], topically, as an injection [45, 46, 32], or in combination with other materials [47, 29]. A variety of forms and methods of using PRP allows their use for the regeneration of various types of tissues. In this case, the type of centrifuge, its rotation speed [46, 48, 49] and rotor diameters play an important role, since platelets of different composition and properties are obtained for various parameters, which is the most controversial today [50]. The calculation of the relative centrifugal force (g) allows to determine the desired centrifugation speed for each centrifuge [51].

Platelet-rich plasma is a fraction of the volume of blood plasma after centrifugation with a platelet count within 1 million/ μ l of cells. Five-

fold increase in the concentration of platelets is considered optimal, but at its level of more than 5 million/ μ l, inhibition of angiogenesis is observed [52].

The following forms of platelet-rich plasma are used: liquid — not activated and gel — activated [42, 53, 41, 49, 54]. For the concentration of platelets, one- or two-stage centrifugation is used [55, 56]. Moreover, the composition of PRP, depending on the technique, can be significantly different in the content of cells, growth factors and cytokines. It is also affected by the method of platelet activation, which affects the clinical efficacy [40, 57]. This often leads to a contradictory interpretation of its results [42].

The properties of autologous platelet-rich plasma are also affected by the rate of capture and the volume of whole blood (which determines the number of platelets in the final plasma volume), the choice of anticoagulant [46, 42] (sodium citrate, heparin, sodium EDTA and potassium EDTA (sodium and potassium ethylenediaminetetraacetic acid, which is not recommended for preparation, reduces the loss of grain size)) and pH (7.2 - 8.0) [58].

Methods for the preparation of autologous platelet-rich plasma by single-stage centrifugation.

Blood is taken from a vein with a syringe, which is transferred to a plastic tube with an anticoagulant [37, 40]. Then the blood is centrifuged at a certain speed for a certain time (table. 1). The modes of centrifugation of blood depend on the diameter of the centrifuge rotor, as well as on the angle of its inclination [50]. There are special centrifuges for plasmolifting and test tubes with separation gel - commercial systems. After centrifugation, the erythrocyte layer (55%) separates, over which a white blood cell film (5%) and a plasma layer (40%) above it [46] are formed. In turn, the plasma is also divided into several layers - the plasma layer enriched in platelets is located immediately behind the white blood cell film, its volume is about 1/3 of the total plasma volume and the plasma layer depleted in platelets is 2/3 of the volume. After that, with the help of a syringe or a pipette, the plasma enriched in platelets is taken and transferred to another tube [29, 59, 56]. It is used either inactive (liquid), or it is activated using various substances, such as calcium gluconate, calcium chloride, cattle

Table 1– Platelet-rich plasma techniques

№	Name	Anticoagulant	Number of centrifugation steps	Protocol of centrifugation, (leukocyte film)	Activation	Year	Source
1	PRP	Acid dextrose of salt to lemon ACD-A acid	2	3000 rpm — (are not specified) 3 min. 4000 rpm — 3 min.	Thrombin and chloride of calcium	2018	[46]
2	PRP	Sodium citrate	2	1600 rpm — 10 min. (with leukocyte film) 2000 rpm — 10 min.	Calcium gluconate	2016	[48]
3	PRP	Sodium citrate	2	2400 rpm — 10 min. 5000 rpm — 10 min.	Calcium chloride	2018	[47]
4	PRP	Sodium citrate	2	2800 rpm — 15 min. (with leukocyte film) 2800 rpm — 15 min.	Calcium chloride	2018	[49]
5	PRP	Phosphate Citrate Dextrose	2	400 g — 15 min. (with leukocyte film) 160 g — 20 min.	not indicated	2018	[29]
6	PRGF	Sodium citrate	1	460 g — 8 min. (without leukocyte film)	Calcium chloride	2018	[55]
7	PRP	Acid dextrose of salt to lemon ACD acid	2	1800rpm — 8 min. (not indicated) 1000 rpm — 8 min.	Calcium chloride	2018	[27]
8	PRP	Sodium citrate	2	5600 rpm — 10 min. (with leukocyte film) 2400 rpm — 15 min.	Thrombin and chloride of calcium	2008	[53]
9	PRP	Sodium citrate	1	460 g — 8 min. (without leukocyte film)	Calcium chloride	2009	[60]
10	PRP	SiO	1	2800 rpm — 9 min.	not indicated	2011	[56]
11	PRP	Sodium citrate, heparin	2	200 g — 30 min. (not indicated) 450 g — 10 min.	Calcium chloride	2019	[51]
12	PRP	Sodium citrate	1	400 g — 10-12 min. (not indicated)	not indicated	2017	[59]

thrombin or other substances [48, 47, 53]. They cause the exit from the granules of platelets of various growth factors and the transformation of liquid plasma into a gel form.

Two-stage centrifugation. In the first stage, red blood cells are separated from plasma and white blood cells with platelets. During the second stage, the final separation of plasma, white blood cells and platelets occurs. As in the previous case, the blood is taken with an anticoagulant and centrifuged. The erythrocyte layer is separated, over which a white blood cell film is formed, and a plasma layer above it. The whole plasma with or without a white blood cell film (depending on what type of plasma needs to be made: pure plasma enriched in platelets or plasma enriched in white blood cells and platelets) is taken with a pipette into another tube, which is subjected to the following centrifugation (Table 1). As a result, a layer of plasma enriched in platelets is formed

at the base of the tube [51]. After centrifugation, separated from the platelet-depleted plasma, the platelet mass is collected in a syringe and activated using various activators (calcium chloride, calcium gluconate, thrombin). The final product is a gel [42].

Platelet-rich fibrin.

Platelet-rich fibrin contains an autologous fibrin matrix enriched in white blood cells, platelets, and cytokines. Its tetramolecular structure acts as a matrix and is capable of biological resorption. It induces the development of the vasculature and directed cell migration [8]. If a normal clot formed from native blood without centrifugation contains 95% red blood cells, 5% platelets, less than 1% leukocytes and numerous fibrin fibers, then the platelet concentration enriched with platelets reaches 95% [61].

The advantages of PRF over other categories of platelet mass include ease of preparation,

the absence of anticoagulants and activators, uniformity and stability [25]. This autologous product does not contain any foreign substances that can adversely affect the regeneration processes and is absolutely physiological [8]. Platelet-rich fibrin is used in the form of a clot (PRF) [54, 30] and in liquid injection form (i-PRF) [45, 61, 32].

The method of preparation of fibrin enriched in platelets is presented in table. 2. It includes the selection of blood in a plastic tube without an anticoagulant and immediate centrifugation. After this, erythrocytes are concentrated in the lower part of the test tube, a fibrin clot enriched with platelets - in the middle, and serum in the upper part. It should be noted that, as in a platelet-rich plasma, a high concentration of cellular elements in a fibrin clot is located in its lower third. In the upper third, platelets can be found in very small amounts or they are absent [62, 63, 64]. The most important parameter for the success of this procedure is the minimum possible time interval between the process of blood selection and centrifugation [23, 30].

The preparation of i-PRF is based on centrifugation at low speed and the use of plastic tubes to prevent premature blood coagulation.

As a result, blood is distributed into the following fractions: in the lower - erythrocytes, in the middle - red liquid, liquid fibrin enriched in platelets, in which leukocytes and platelets are more concentrated, and in the upper fraction - yellow, with fewer cellular elements [32] (table 3). After a few minutes, fibrin polymerizes and turns into a dense clot. The complexity of preparation of injectable fibrin is justified by the wider possibilities of its use in contrast to the PRF clot: in the form of an injection and in combination with other materials, forming a homogeneous composite [45, 46, 61]. However, the properties of i-PRF require detailed study [32].

The use of platelet masses.

Platelet-rich plasma is able to restore muscle tissue [26], accelerates the healing of skin wounds [67] and chronic wounds [49], reduces synovial edema, joint stiffness, which indicates its anti-inflammatory and regenerative properties [68]. The positive effect of platelet-rich plasma on tendon repair is also reported [26]. The use of platelet-rich plasma in combination with implants provides restoration of bone tissue defects [47]. Its combination with hydroxyapatite materials improved the regeneration of skull bones, as it was

Table 2 – Platelet-rich Fibrin Preparation Techniques

№	Name	The centrifugation protocol			Year	Source
		Rotation speed rpm	The relative centrifugal force, g	Time, minutes		
1	L-PRF	2700	not indicated	12 min	2018	[46]
2	PRF	3000	not indicated	10 min	2018	[49]
3	PRF	not specified	1843 g	10min	2018	[65]
4	PRF	not specified	400 g	10 min	2018	[54]
5	PRF	2700	735g	12 min	2019	[66]
6	PRF	2700	400 g	12 min.	2019	[32]
7	Chukrun's L-PRF	2700-3000	400 g	10-12 min	2018	[30]
8	PRF	3000	400 g	10 min	2006	[63]
9	PRF	1500	not indicated	14 min	2018	[25]

Table 3 – Methods for the preparation of injectable platelet-rich fibrin

№	Name	The centrifugation protocol			Year	Source
		Rotation speed rpm	The relative centrifugal force, g	Time, minutes		
1	i-PRF	700	60 g	3 min	2017	[45]
2	i-PRF	2400-2700	not indicated	2-3 min	2018	[46]
3	i-PRF	700	60 g	3 min	2019	[32]
4	i-PRF	3300	not indicated	2 min	2015	[61]

in studies on rats [29], but in some studies there were no particular advantages observed when using platelet-rich plasma [28].

Platelet-rich fibrin was used to heal wounds of the distal limbs [54]. It causes the formation of a large number of blood vessels [69], promotes the restoration of periodontal defects - a study on rats [65], and tissue repair in depulped teeth in dogs [70].

Some studies indicate results that have not demonstrated the benefits of using platelet-rich fibrin in combination with deproteinized bone material for healing bone defects [71]. At the same time, its combination with other materials gives better results in the restoration of bone defects in rabbits than the use of each of them separately [72].

Conclusions. So, platelet rich plasma and fibrin are safe, affordable, and biocompatible materials. They can be used both independently and in combination with various components. However, the effect of each of the categories of platelet mass on tissue regeneration remains debatable.

The ability of various forms of platelet masses to restore tissue due to the release of growth factors remains insufficiently studied. It is necessary to standardize the protocols for the production and classification of these autologous products. As a result of any slightest deviation from the procedure, a biologically active substance with other properties is formed.

When choosing a category of platelet masses for the restoration of a particular type of tissue, it is necessary to pay attention to the complexity of their preparation, the use of additional substances, such as anticoagulants and activators, the material of the tubes, the availability and diameter of the centrifuge, and also to consider and to optimize the possible method of administration each form of platelet mass for the regeneration of various tissues (bones, skin, muscles, etc.).

LIST OF REFERENCES

1. Використання композитних матеріалів за переломів трубчастих кісток у тварин / М.В. Рубленко та ін. Біла Церква. 2015. 86 с.
2. Перспективи розвитку клітинних технологій у ветеринарній медицині / А.Й. Мазуркевич та ін. Вісник аграрної науки. 2017. С. 34–40.
3. Тканевая реконструкция поврежденных кожи и мягких тканей методами регенеративной медицины / Н.В. Смирнова и др. Научно-технические ведомости СПбГПУ. Физико-математические науки. 2016. № 4 (253). С. 129–138.
4. Лечение тендинита поверхностного сгибателя пальца у лошадей с использованием тромбоцитарной аутоплазмы / Б.С. Семенов и др. Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2017. № 1 (147). С. 125–132.
5. Winkler T., Sass F.A., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. *Bone Joint Res.* 2018. Vol. 7. № 3. P. 232–243.
6. Turan Cihan Dülgeroglu., Hasan Metineren. Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on Long Bone Healing: An Experimental Rat Model. *Orthopedics.* 2017. Vol. 40. № 3. P. 479–484.
7. F. Raquel Maia., Vitor M., Corrello, Joaquim M. Oliveira., Rui L. Reis. Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. *Principles of Regenerative Medicine. Third Edition.* 2019. P. 535–558. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00032-1>
8. Kiran N.K., Mukunda K.S., Tilak Raj T.N. Platelet Concentrates: A Promising Innovation In Dentistry. *Journal of Dental Sciences & Research.* 2011. Vol. 2. № 1. P. 50–61.
9. Dohan Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution / David M. Dohan et al. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006. Vol. 101. P. 37–44.
10. Кореньков О.В. Використання біогенних та біоінертних матеріалів у кістково-пластичній хірургії (огляд літератури). *Ортопедия, травматология и протезирование.* 2012. № 4. С. 120–128.
11. Osman K., Ayman Gabr., Fares S. Haddad. General Orthopaedics and Basic Science, Orthopaedic Study Guide Series. 2019. P. 111–119. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-92193-8_14
12. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration / G. Weibrich et al. *Bone.* 2004. № 34. P. 665–671.
13. Костив Р.Е., Калининченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Трофические факторы роста костной ткани, их морфогенетическая характеристика и клиническое значение. *Pacific Medical Journal.* 2017. № 1. P. 10–16.
14. Timothy E.L. Douglas, Marta Vandrovcová, Nikola Kročilová. Application of whey protein isolate in bone regeneration: Effects on growth and osteogenic differentiation of bone-forming cells. *Journal of Dairy Science.* 2018. Vol. 101. № 1. P. 1 – 9.
15. Ройтман Е.В. Основы профилактики венозных тромбоэмболических осложнений в онкологии. Учебное пособие. Москва: Издательство РАМН. 2016. 83 с.
16. Алексеева Л.В., Зайцев В.В., Соловьева Л.П. Физиологические механизмы реализации гемостатических функций тромбоцитов. Электронный научно-образовательный Вестник «Здоровье и образование в XXI веке». 2017. Вып. 19. № 1. С. 1–6.
17. Matthias H.F. Klinger, Wolfgang Jelkmann. Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation. *Journal of Interferon & Cytokine Research.* 2002. Vol. 22. P. 913–922.
18. Wachowicz B., Olas B., Zbikowska H.M., Andrzej Buczynski C. Generation of reactive oxygen species in blood Platelets. *Platelets.* 2002. Vol. 13. P. 175–182.
19. Просянникова Н.В., Липова Е.В., Покровский К.А., Тарасенко Г.Н. Тромбоцитарная масса при хронических язвенных дефектах кожи. *Российский журнал кожных и венерических болезней.* 2013. № 2. С. 20–23.

20. Савченко А.П., Зайцев В.В., Макурина О.Н. Физиологические основы диагностики агрегации тромбоцитов у биологических объектов. Электронный научно-образовательный Вестник «Здоровье и образование в XXI веке». 2017. Том 19. С. 14–18.
21. Platelet Aggregation Percentage Increased in Healthy Broodmares During the Peripartum / Marilena Bazzano et al. *Journal of Equine Veterinary Science* XX. 2015. P. 1–4.
22. Tomasz Bielecki, David M. Dohan Ehrenfest. Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): Surgical Adjuvants, Preparations for In Situ Regenerative Medicine and Tools for Tissue Engineering. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012. № 13. P. 1121–1130.
23. Nilkanth Mhaske., Carol Fernandes., Nilima Rajhans., Gabriela Fernandes. The role of leucocyte- and platelet rich fibrin (L-PRF) in periodontal regeneration: A review article. *Mouth Teeth*. 2018. Vol. 2. № 3. P. 1–5.
24. Sabrina Marcazzan., Roberto Lodovico Weinstein., Massimo Del Fabbro. Efficacy of platelets in bone healing: A systematic review on animal studies. *Platelets*, Early Online. 2017. P. 1–12. URL: <http://www.tandfonline.com/iplt>.
25. Ayswaria B., Sarath C., Seema G. An Overview of Platelet Rich Fibrin in Periodontal Therapy. *Journal of Indian Dental Association Attingal Branch*. 2018. Vol. 8. № 2. P. 49–53.
26. Kaux J.F., Drion P., Croisier J.L., Crielaard J.M. Tendinopathies and platelet-rich plasma (PRP): from pre-clinical experiments to therapeutic use. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine*. 2015. Vol. 11. № 1. P. 7–17.
27. Daikh Badis., Bennoune Omar. The effectiveness of platelet-rich plasma on the skin wound healing process: A comparative experimental study in sheep. *Veterinary World*. 2018. Vol. 11. № 6. P. 800–808.
28. Maria Rosaria De Pascale., Linda Sommese., Amelia Casamassimi, Claudio Napoli. Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfusion Medicine Reviews*. 2015. Vol. 29. P. 52–61.
29. Effects of platelet-rich plasma and carbonated hydroxyapatite combination on cranial defect Bone Regeneration: An animal study / Maximillian Christian Oleya et al. *Wound Medicine*. 2018. № 21. P. 12–15.
30. Muñoz F.T., Haidar Z.S. L-PRF for Use in Oro-Maxillo-Facial Surgeries: What Do We Know? *J Oral Res*. 2018. Vol. 7. № 3. P. 88–90.
31. Comparison of two surgical techniques in the treatment of multiple gingival recessions sandwiched with a combination of A-PRF and L-PRF / S.V.S.S. Musalaiah et al. *Saudi Dental Journal*. 2018. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2018.03.002>
32. Prakan Thanasrisuebwong, Rudee Surarit, Sompop Bencharit, Nisarut Ruangsawasdi. Influence of Fractionation Methods on Physical and Biological Properties of Injectable Platelet-Rich Fibrin: An Exploratory Study. *Int. J. Mol. Sci*. 2019. Vol. 20. URL: www.mdpi.com/journal/ijms
33. David M., Dohan Ehrenfest., Lars Rasmusson., Tomas Albrektsson. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*. Vol. 27. № 3. P. 158–167.
34. Kawase T., Tanaka T. An updated proposal for terminology and classification of platelet-rich fibrin. *Regenerative Therapy*. 2017. Vol. 7. P. 80–81.
35. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO / David M. Dohan Ehrenfest et al. *POSEIDO*. 2013. Vol. 1. № 1. P. 17–27.
36. In Search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use: Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and Leukocytes / David M. Dohan Ehrenfest et al. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012. Vol. 12. P. 1131–1137.
37. Badran Zahi, Abdallah Mohamed-Nur, Torres Jesus, Tamimi Faleh. Platelet concentrates for bone regeneration: Current evidence and future challenges. *Platelets*. 2017. P. 1–8. Doi: <http://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327656>.
38. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives / David M. Dohan Ehrenfest et al. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*. 2014. Vol. 4. № 1. P. 3–9.
39. Ahmad Oryan, Soodeh Alidadi, Ali Moshiri, Amin Bigham-Sadegh. Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. 2014. P. 1–23.
40. Franklin Samuel P., Birdwhistell Kate E., Alena Strelchik. Influence of Cellular composition and Exogenous Activation of Growth Factor and Cytokine Concentrations in Canine Platelet-Rich Plasmas. *Frontiers in Veterinary Science*. 2017. Vol. 4. P. 1–10.
41. Platelet rich fibrin: focus on growth factors and cytokines / Amita Mali et al. *International Journal of Recent Scientific Research*. 2018. Vol. 9. № 5 (B). P. 26531–26535.
42. Platelet-Rich Preparations to Improve Healing. Part II: Platelet Activation and Enrichment, Leukocyte Inclusion, and Other Selection Criteria / Vicki L. Davis et al. *Journal of Oral Implantology*. 2014. Vol. 15. № 4. P. 511–521.
43. Alessandro Crisci, Ugo De Crescenzo, Michela Crisci. Platelet-rich concentrates (L-PRF, PRP) in tissue regeneration: Control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Journal of Clinical and Molecular Medicine*. 2018. Vol. 1 (3). P. 1–5.
44. George Sam, Rosamma Joseph Vadakkekuttal, Nagrale Vijay Amol. In vitro evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane and scanning electron microscopic examination of its surface characteristics. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2015. Vol. 19. № 1. P. 32–36.
45. Behavior of Gingival Fibroblasts on Titanium Implant Surfaces in Combination with either Injectable-PRF or PRP / Xuzhu Wang et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. P. 1–15.
46. Mehmet Yaltirik., Meltem Koray., Hümeýra Kocaelli., Duygu Ofluoglu. Platelet-Rich Plasma in Trauma Patients. *Trauma in Dentistry*. 2018. Doi: <http://doi.org/10.5772/intechopen.79966>.
47. Bartłomiej Baszczyk, Wojciech Kaspera, Krzysztof Ficek. Effects of Polylactide Copolymer Implants and Platelet-Rich Plasma on Bone Regeneration within a Large Calvarial Defect in Sheep. *BioMed Research International*. 2018. P. 1–11.
48. Pazzini Josiane M., De Nardi Andriago B., Huppés Rafael R., Ana P. Gering. Method to obtain platelet-rich plasma from rabbits. *Pesq. Vet. Bras*. 2016. Vol. 36 (1). P. 39–44.

49. Falan H. Khalaf, Serwa Ibrahim Salih. Clinical and histopathological evaluation of using platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin matrix in treatment of induced chronic open wounds in bucks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11. № 5. P. 337–341.
50. Peck M.T., Hiss D., Stephen L. Factors affecting the preparation, constituents, and clinical efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *SADJ*. 2016. Vol. 71. № 7. P. 298–302.
51. Preparation of highly-Concentrated Autologous Platelet-Rich Plasma for Biomedical use. Ukr. / V. Chernyshenko et al. *Biochemical Journal*. 2019. Vol. 91. № 2. P. 19–27.
52. Pencho Kossev, Tsvetan Sokolov. Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. *Immunopathology and Immunomodulation*. 2015. P. 173–195. Doi: <http://doi.org/10.5772/61326>
53. Peterson Role of Platelet-Rich Plasma in Acceleration of Bone Fracture Healing / Richard Simman et al. *Annals of Plastic Surgery*. 2008. Vol. 61. № 3. P. 337–344.
54. Effectiveness of allogeneic platelet-rich fibrin on second intention wound healing of experimental skin defect in distal limb in donkeys (*Equus asinus*) / M.A. Hamed et al. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.12.014>.
55. Combined plasma rich in growth factors and adipose-derived mesenchymal stem cells promotes the cutaneous wound healing in rabbits / Deborah Chicharro et al. *BMC Veterinary Research*. 2018. Vol. 14. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1577-y>
56. Банашек-Мещерякова Т.В. Применение обогащенной тромбоцитами плазмы для стимуляции регенеративных процессов при операциях на среднем ухе: спец. 14.01.03 "болезни уха, горла и носа". Санкт-Петербург, 2011. 30 с.
57. Alsousou Joseph., Harrison Paul. Therapeutic Platelet-Rich Plasma in Wound Healing. PART VI Therapy to Increase Platelet Numbers and/or Function. P. 1161–1171. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813456-6.00065-5>
58. Etulain Julia. Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets*. 2018. P. 1–13. Doi: <https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1430357>
59. Yerke Lisa M., Jamjoom Amal, Zahid Talal M., Cohen Robert E. The Effect of Platelet-Rich Fibrin, Calcium Sulfate Hemihydrate, Platelet-Rich Plasma and Resorbable Collagen on Soft Tissue Closure of Extraction Sites. *J. Funct. Biomater*. 2017. Vol. 8. № 17. P. 1–8.
60. David M. Dohan Ehrenfest, Lars Rasmusson, Tomas Albrektsson. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*. 2009. Vol. 27. № 3. P. 158–167.
61. Choukroun J., Ghanaati S. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2018. Vol. 44. P. 87–95.
62. A proposed protocol for the standardized preparation of PRF membranes for clinical use / Mito Kobayashi et al. *Biologicals*. 2012. Vol. 40. P. 323–329.
63. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features / David M. Dohan et al. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006. Vol. 101. P. 45–50.
64. Platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in human cell cultures: Growth factor release and contradictory results / David M. Dohan Ehrenfest et al. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010. Vol. 110. № 42. P. 418–421.
65. Nikos Donos, Xanthippi Dereka, Elena Calciolari. The use of bioactive factors to enhance bone regeneration: A narrative review. *J Clin Periodontol*. 2019. Vol. 46 (Suppl. 21). P. 124–161.
66. David Polak, Navit Clemer-Shamai, Lior Shapira. Incorporating Antibiotics into Platelet Rich Fibrin (PRF): A Novel Antibiotics Slow Release Biological Device. *Journal of Clinical Periodontology*. 2019. P. 241–247. Doi: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13063>.
67. Huang Y., Wu C., Zhang X., Chang J. Regulation of immune response by bioactive ions released from silicate bioceramics for bone regeneration. *Acta Biomaterialia*. 2017. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.044>.
68. Gait Changes Vary among Horses with Naturally Occurring Osteoarthritis Following Intra-articular Administration of Autologous Platelet-Rich Plasma / M.H. Mirza et al. *Front. Vet. Sci*. 2016. Vol. 3. URL: www.frontiersin.org
69. Moody A. Samuel, Maha A. Abou Khadr, Azza S. Koura, Marwa I. Madi. The effect of platelet rich fibrin on angiogenesis during periodontal regeneration. *Alexandria Dental Journal*. 2017. Vol. 42. P. 182–186.
70. Wang Qi Lin, Yang Pan, Ge Li Hong, Liu He. Preliminary Evaluation of Platelet Rich Fibrin-Mediated Tissue Repair in Immature Canine Pulpless Teeth. *The Chinese Journal of Dental Research*. 2016. Vol. 19. 1. P. 49–54.
71. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study / Yu Zhang et al. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2012. Vol. 40. P. 321–328.
72. Salih S.I., Al-Falahi N.H., Saliem A.H., Abedsali A.N. Effectiveness of platelet-rich fibrin matrix treated with silver nanoparticles in fracture healing in rabbit model. *Veterinary World*. 2018. Vol. 11 (7). P. 944–952.

REFERENCES

1. Rublenko, M.V., Andriets, V.H., Semeniak, S.A. (2015). Vykorystannia kompozytnykh materialiv za perelomiv trubchastykh kistok u tvaryn [The use of composite materials for tubular bone fractures in animals]. *Bila Tserkva*, 86 p.
2. Mazurkevych, A.I., Maliuk, M.O., Danilov, V.B., Kovpak, V.V. (2017). Perspektyvy rozvytku klitynykh tekhnolohii u veterynarii medytsyni [Prospects for the development of cellular technologies in veterinary medicine]. *Visnyk aharnoi nauky* [Bulletin of agrarian science], pp. 34–40.
3. Smyrnova, N.V., Petrova, N.O., Lebedeva, Y.O., Popriadukhyn, P.V. (2016). Tkanevaja rekonstrukcija povrezhdenij kozhi i mjagkih tkanej metodami regenerativnoj medicyny [Tissue reconstruction of skin and soft tissue injuries using regenerative medicine methods]. *Nauchno-tekhnicheskiye vedomosti SPbHPU* [Scientific and technical statements of SPbSPU]. *Fyzyko-matematicheskiye nauky* [Physics and mathematics], no. 4 (253), pp. 129–138.

4. Semenov, B.S., Huseva, V.A., Rybin, E.V., Romanova, O.V. (2017). Lechenie tendinita poverhnostnogo sgibatel'ya pal'ta u loshadej s ispol'zovaniem trombocitarnoj autoplazmy [Treatment of surface finger flexor tendonitis in horses using platelet autoplasm]. *Vestnyk Altaiskogo gosudarstvennogo ahrarnogo unyversyteta* [Bulletin of Altai State Agrarian University]. no. 1 (147), pp. 125–132.
5. Winkler, T., Sass, F.A., Duda, G.N., Schmidt-Bleek K. (2018). A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. *Bone Joint Res.* Vol. 7, no. 3, pp. 232–243.
6. Turan Cihan, Dülgeroglu, Hasan, Metineren. (2017). Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on Long Bone Healing: An Experimental Rat Model. *Orthopedics.* Vol. 40, no. 3, pp. 479–484.
7. Raquel Maia, F., Vitor, M. Correló., Joaquim, M. Oliveira., Rui, L. Reis. (2019). Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. *Principles of Regenerative Medicine.* Third Edition. pp. 535–558. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00032-1>
8. Kiran, N.K., Mukunda, K.S., Tilak Raj, T.N. Platelet Concentrates: A Promising Innovation In Dentistry. *Journal of Dental Sciences & Research.* 2011. Vol. 2. no. 1, pp. 50–61.
9. David, M. Dohan., Joseph, Choukroun., Antoine, Diss., Steve, L. Dohan. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* Vol. 101, pp. 37–44.
10. Korenkov, O.V. (2012). Vykorystannia biohennykh ta bioinertnykh materialiv u kistkovo-plastychnii khirurhii (ohliad literatury) [Use of biogenic and bioinert materials in bone and plastic surgery (literature review)]. *Ortopediya, travmatolohiya y protezyrovanye* [Orthopedics, traumatology and prosthetics]. no. 4, pp. 120–128.
11. Osman, K., Ayman, Gabr., Fares, S. Haddad. (2019). General Orthopaedics and Basic Science, Orthopaedic Study Guide Series. pp. 111–119. Available at: doi.org/10.1007/978-3-319-92193-8_14
12. Weibrich, G., Hansen, T., Kleis, W., Buch, R., Hitzler, W.E. (2004). Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone.* no. 34, pp. 665–671.
13. Kostyv, R.E., Kalynychenko, S.H., Matveeva, N.Iu. (2017). Troficheskiye faktory rosta kostnoi tkany, ykh morfoheneticheskaya kharakterystyka y klynicheskoe znachenye [Trophic bone growth factors, their morphogenetic characteristics and clinical significance]. *Pacific Medical Journal.* no. 1, pp. 10–16.
14. Timothy, E.L. Douglas, Marta, Vandrovová, Nikola, Kročilová. (2018). Application of whey protein isolate in bone regeneration: Effects on growth and osteogenic differentiation of bone-forming cells. *Journal of Dairy Science.* Vol. 101, no. 1, pp. 1–9.
15. Roitman, E.V. (2016). Osnovy profilaktiki venoznykh tromboembolicheskikh oslozhnenij v onkologii [Fundamentals of the prevention of venous thromboembolic complications in oncology]. *Uchebnoe posobie* [Tutorial]. Moscow: RAMS Publishing House. 83 p.
16. Alekseeva, L.V., Zaitsev, V.V., Soloveva, L.P. (2017). Fiziologicheskie mehanizmy realizacii gemostaticeskikh funkciy trombocitov [Physiological mechanisms for the implementation of hemostatic platelet functions]. *Jelektronnyj nauchno-obrazovatel'nyj Vestnik «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke»* [Electronic scientific and educational Bulletin "Health and education in the XXI century."]. Vol. 19, no. 1, pp. 1–6.
17. Matthias, H.F. Klinger, Wolfgang Jelkmann. (2002). Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation. *Journal of Interferon & Cytokine Research.* Vol. 22, pp. 913–922.
18. Wachowicz B., Olas B., Zbikowska H.M., Andrzej Buczynski. (2002). Generation of reactive oxygen species in blood Platelets. *Platelets.* Vol. 13, pp. 175–182.
19. Prosiannykova, N.V., Lypova, E.V., Pokrovskiy, K.A., Tarasenko, H.N. (2013). Trombocitarnaja massa pri hronicheskikh jazvennykh defektah kozhi [Platelet mass in chronic ulcerative skin defects]. *Rossijskij zhurnal kozhnykh i venericheskikh boleznej* [Russian Journal of Skin and Sexually Transmitted Diseases]. no. 2, pp. 20–23.
20. Savchenko, A.P., Zaitsev, V.V., Makuryna O.N. (2017). Fiziologicheskie osnovy diagnostiki agregacii trombocitov u biologicheskikh ob'ektov [Physiological basis for the diagnosis of platelet aggregation in biological objects]. *Jelektronnyj nauchno-obrazovatel'nyj Vestnik «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke»* [Electronic scientific and educational Bulletin "Health and education in the XXI century."]. Vol. 19, pp. 14–18.
21. Marilena, Bazzano., Francescam, Arfuso., Elisabetta, Giudice, Simona, Di Pietro, Giuseppe, Piccione. (2015). Platelet Aggregation Percentage Increased in Healthy Broodmares During the Peripartum. *Journal of Equine Veterinary Science KhKh.* pp. 1–4.
22. Tomasz, Bielecki., David, M. Dohan Ehrenfest. (2012). Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): Surgical Adjuvants, Preparations for In Situ Regenerative Medicine and Tools for Tissue Engineering. *Current Pharmaceutical Biotechnology.* no. 13, pp. 1121–1130.
23. Nilkanth, Mhaske, Carol, Fernandes., Nilima, Rajhans., Gabriela, Fernandes. (2018). The role of leucocyte- and platelet rich fibrin (L-PRF) in periodontal regeneration: A review article. *Mouth Teeth.* Vol. 2, no. 3, pp. 1–5.
24. Sabrina, Marcuzzan, Roberto, Lodovico Weinstein., Massimo, Del Fabbro. (2017). Efficacy of platelets in bone healing: A systematic review on animal studies. *Platelets, Early Online.* pp. 1–12. URL: <http://www.tandfonline.com/iplt>.
25. Ayswaria, B., Sarath, C., Seema, G. (2018). An Overview of Platelet Rich Fibrin in Periodontal Therapy. *Journal of Indian Dental Association Attingal Branch.* Vol. 8, no. 2, pp. 49–53.
26. Kaux, J.F., Drion, P., Croisier, J.L., Crielaard, J.M. (2015). Tendinopathies and platelet-rich plasma (PRP): from pre-clinical experiments to therapeutic use. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine.* Vol. 11, no. 1, pp. 7–17.
27. Daikh, Badis, Bennoune, Omar. (2018). The effectiveness of platelet-rich plasma on the skin wound healing process: A comparative experimental study in sheep. *Veterinary World.* Vol. 11, no. 6, pp. 800–808.
28. Maria Rosaria, De Pascale, Linda, Sommesse, Amelia, Casamassimi, Claudio, Napoli. (2015). Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfusion Medicine Reviews.* Vol. 29, pp. 52–61.
29. Maximillian, Christian Oleya, Andi, Asadul Islamb, Mochammad, Hattac, Marhaen, Hardjod. (2018). Effects of platelet-rich plasma and carbonated hydroxyapatite combination on cranial defect Bone Regeneration: An animal study. *Wound Medicine.* no. 21, pp. 12–15.

30. Muñoz, F.T., Haidar, Z.S. (2018). L-PRF for Use in Oro-Maxillo-Facial Surgeries: What Do We Know? *J Oral Res.* Vol. 7, no. 3, pp. 88–90.
31. Musalaiah, S.V.S.S., Shaik, Sameera, Medandrao, Nagasri, Pavuluri, Aravind Kumar. (2018). Comparison of two surgical techniques in the treatment of multiple gingival recessions sandwiched with a combination of A-PRF and L-PRF. *Saudi Dental Journal.* Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2018.03.002>
32. Prakan, Thanasisuebwong, Rudee, Surarit, Sompop, Bencharit, Nisarut, Ruangsawadi. (2019). Influence of Fractionation Methods on Physical and Biological Properties of Injectable Platelet-Rich Fibrin: An Exploratory Study. *Int. J. Mol. Sci.* Vol. 20. Available at: www.mdpi.com/journal/ijms
33. David, M. Dohan Ehrenfest, Lars, Rasmusson, Tomas, Albrektsson. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology.* Vol. 27, no. 3, pp. 158–167.
34. Kawase, T., Tanaka, T. (2017). An updated proposal for terminology and classification of platelet-rich fibrin. *Regenerative Therapy.* Vol. 7, pp. 80–81.
35. David, M. Dohan Ehrenfest, Gilberto, Sammartino, Jamil, Awad Shibli, Hom-Lay, Wang, De-Rong, Zou. (2013). Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. *POSEIDO.* Vol. 1, no. 1, pp. 17–27.
36. David, M. Dohan Ehrenfest, Tomasz, Bielecki, Allan, Mishra, Piero, Borzini. (2012). In Search of a Consensus Terminology in the Field of Platelet Concentrates for Surgical Use: Platelet-Rich Plasma (PRP), Platelet-Rich Fibrin (PRF), Fibrin Gel Polymerization and Leukocytes. *Current Pharmaceutical Biotechnology.* Vol. 12, pp. 1131–1137.
37. Zahi, Badran, Mohamed-Nur, Abdallah, Jesus, Torres, Faleh, Tamimi. (2017). Platelet concentrates for bone regeneration: Current evidence and future challenges. *Platelets.* pp. 1–8. Available at: <http://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327656>.
38. David, M. Dohan Ehrenfest, Isabel, Andia, Matthias, A. Zumstein, Chang-Qing, Zhang. (2014). Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal.* Vol. 4, no. 1, pp. 3–9.
39. Ahmad, Oryan, Soodeh, Alidadi, Ali, Moshiri, Amin, Bigham-Sadegh. (2014). Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology.* pp. 1–23.
40. Samuel, P. Franklin, Kate, E. Birdwhistell, Alena, Strelchik. (2017). Influence of Cellular composition and Exogenous Activation of Growth Factor and Cytokine Concentrations in Canine Platelet-Rich Plasmas. *Frontiers in Veterinary Science.* Vol. 4, pp. 1–10.
41. Amita, Mali, Shraddha, Gokhale, Vishakha, Patil, Yogesh, Khadtare. (2018). Platelet rich fibrin: focus on growth factors and cytokines. *International Journal of Recent Scientific Research.* Vol. 9, no. 5 (B), pp. 26531–26535.
42. Vicki, L. Davis, Aladdin, B. Abukabda, Nicholas, M. Radio, Paula, A. (2014). Witt-Enderby et al.. Platelet-Rich Preparations to Improve Healing. Part II: Platelet Activation and Enrichment, Leukocyte Inclusion, and Other Selection Criteria. *Journal of Oral Implantology.* Vol. 15, no. 4, pp. 511–521.
43. Alessandro, Crisci, Ugo, De Crescenzo, Michela, Crisci. (2018). Platelet-rich concentrates (L-PRF, PRP) in tissue regeneration: Control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Journal of Clinical and Molecular Medicine.* Vol. 1 (3), pp. 1–5.
44. George, Sam, Rosamma, Joseph Vadakkekuttikal, Nagrale, Vijay Amol. (2015). In vitro evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane and scanning electron microscopic examination of its surface characteristics. *Journal of Indian Society of Periodontology.* Vol. 19, no. 1, pp. 32–36.
45. Xuzhu, Wang, Yufeng. Zhang, Joseph, Choukroun, Shahram, Ghanaati. (2017). Behavior of Gingival Fibroblasts on Titanium Implant Surfaces in Combination with either Injectable-PRF or PRP. *International Journal of Molecular Sciences.* pp. 1–15.
46. Mehmet, Yaltirik, Meltem, Koray, Hümeýra, Kocaelli, Duygu, Ofuoglu. (2018). Platelet-Rich Plasma in Trauma Patients. *Trauma in Dentistry.* Available at: <http://doi.org/10.5772/intechopen.79966>.
47. Bartłomiej, Baszczyk, Wojciech, Kaspera, Krzysztof, Ficek. (2018). Effects of Polylactide Copolymer Implants and Platelet-Rich Plasma on Bone Regeneration within a Large Calvarial Defect in Sheep. *BioMed Research International.* pp. 1–11.
48. Josiane, M. Pazzini, Andriago, B. De Nardi, Rafael, R. Huppes, Ana, P. (2016). Gering. Method to obtain platelet-rich plasma from rabbits. *Pesq. Vet. Bras.* Vol. 36 (1), pp. 39–44.
49. Falan, H. Khalaf, Serwa, Ibrahim Salih. (2018). Clinical and histopathological evaluation of using platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin matrix in treatment of induced chronic open wounds in bucks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* Vol. 11, no. 5, pp. 337–341.
50. Peck, M.T., Hiss, D., Stephen, L. (2016). Factors affecting the preparation, constituents, and clinical efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *SADJ.* Vol. 71, no. 7, pp. 298–302.
51. Chernyshenko, V., Steinberg, K., Lugovska, N., Ryzhykova, M. (2019). Preparation of highly-Concentrated Autologous Platelet-Rich Plasma for Biomedical use. *Ukr. Biochemical Journal.* Vol. 91, no. 2, pp. 19–27.
52. Pencho, Kossev, Tsvetan, Sokolov. (2015). Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. *Immunopathology and Immunomodulation.* pp. 173–195. Available at: <http://doi.org/10.5772/61326>
53. Richard, Simman, Andrea, Hoffmann, Jordan Bohinc, R., Wylan, C. Peterson. (2008). Role of Platelet-Rich Plasma in Acceleration of Bone Fracture Healing. *Annals of Plastic Surgery.* Vol. 61, no. 3, pp. 337–344.
54. Hamed, M.A., Abouelnasr, K.S., El-Adl, M., Abo, Elfadl E.A. (2019). Effectiveness of allogeneic platelet-rich fibrin on second intention wound healing of experimental skin defect in distal limb in donkeys (*Equus asinus*). *Journal of Equine Veterinary Science.* Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.12.014>.
55. Deborah, Chicharro, Jose, M. Carrillo, Mónica, Rubio, Ramón, Cugat. (2018). Combined plasma rich in

growth factors and adipose-derived mesenchymal stem cells promotes the cutaneous wound healing in rabbits. BMC Veterinary Research. Vol. 14. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1577-y>

56. Banashek-Meshherjakova T.V. Primenenie obogashhennoj trombocitami plazmy dlja stimuljacii regenerativnyh processov pri operacijah na srednem uhe: spec. 14.01.03 "bolezni uha, gorla i nosa". [The use of platelet-rich plasma to stimulate regenerative processes in operations on the middle ear: spec. 01/14/03 "diseases of the ear, throat and nose"]. Sankt-Peterburg, 2011. 30 s.

57. Joseph, Alsousou, Paul, Harrison. Therapeutic Platelet-Rich Plasma in Wound Healing. PART VI Therapy to Increase Platelet Numbers and/or Function. pp. 1161–1171. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813456-6.00065-5>

58. Julia, Etulain. (2018). Platelets in wound healing and regenerative medicine. Platelets. pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1430357>

59. Lisa, M. Yerke, Amal, Jamjoom, Talal, M. Zahid, Robert, E. Cohen. (2017). The Effect of Platelet-Rich Fibrin, Calcium Sulfate Hemihydrate, Platelet-Rich Plasma and Resorbable Collagen on Soft Tissue Closure of Extraction Sites. J. Funct. Biomater. Vol. 8, no. 17, pp. 1–8.

60. David, M. Dohan Ehrenfest, Lars, Rasmusson, Tomas, Albrektsson. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in Biotechnology. Vol. 27, no. 3, pp. 158–167.

61. Choukroun, J., Ghanaati, S. (2018). Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept. Eur J Trauma Emerg Surg. Vol. 44, pp. 87–95.

62. Mito, Kobayashi, Tomoyuki, Kawase, Makoto, Horimizu, Kazuhiro, Okuda. (2012). A proposed protocol for the standardized preparation of PRF membranes for clinical use. Biologicals. Vol. 40, pp. 323–329.

63. David, M. Dohan, Joseph, Choukroun, Antoine, Diss, Steve, L. Dohan. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Vol. 101, pp. 45–50.

64. David, M. Dohan Ehrenfest, Marco, Del Corso, Francesco, Inchingolo, Gilberto, Sammartino. (2010). Platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in human cell cultures: Growth factor release and contradictory results. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. Vol. 110, no. 42, pp. 418–421.

65. Nikos, Donos, Xanthippi, Dereka, Elena, Calciolari. (2019). The use of bioactive factors to enhance bone regeneration: A narrative review. J Clin Periodontol. Vol. 46(Suppl. 21), pp. 124–161.

66. David, Polak, Navit, Clemer-Shamai, Lior, Shapira. (2019). Incorporating Antibiotics into Platelet Rich Fibrin (PRF): A Novel Antibiotics Slow Release Biological Device. Journal of Clinical Periodontology. pp. 241–247. Available at: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13063>.

67. Huang, Y., Wu, C., Zhang, X., Chang, J. (2017). Regulation of immune response by bioactive ions released from silicate bioceramics for bone regeneration. Acta Biomaterialia. Available at: <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.044>.

68. Mirza, M.H., Bommala, P., Richbourg, H.A., Rademacher, N. (2016). Gait Changes Vary among Horses with Naturally Occurring Osteoarthritis Following Intra-articular Administration of Autologous Platelet-Rich Plasma. Front. Vet. Sci. Vol. 3. Available at: www.frontiersin.org

69. Moody, A. Samuel, Maha, A. Abou Khadr, Azza, S. Koura, Marwa, I. Madi. (2017). The effect of platelet rich fibrin on angiogenesis during periodontal regeneration. Alexandria Dental Journal. Vol. 42, pp. 182–186.

70. Qi, Lin WANG, Pan, YANG, Li, Hong Ge, He, Liu. (2016). Preliminary Evaluation of Platelet Rich Fibrin-Mediated Tissue Repair in Immature Canine Pulpless Teeth. The Chinese Journal of Dental Research. Vol. 19. 1, pp. 49–54.

71. Yu, Zhang, Stefan, Tangl, Christian, D. Huber, Ye, Lin. (2012). Effects of Choukrouns platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study. Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery. Vol. 40, pp. 321–328.

72. Salih, S.I., Al-Falahi, N.H., Saliem, A.H., Abdalrhman, A.N. (2018). Effectiveness of platelet-rich fibrin matrix treated with silver nanoparticles in fracture healing in rabbit model. VeterinaryWorld. Vol. 11 (7), pp. 944–952.

Технології одержання тромбоцитарних мас для регенеративної медицини

Шевченко С.М., Рубленко М.В., Боньковський О.А.

Розвиток регенеративної медицини передбачає вдосконалення існуючих та пошук нових засобів для морфофункціонального відновлення тканин, серед яких слід виділити плазму чи фібрин, збагачені тромбоцитами (PRP та PRF). Аутогенні тромбоцитарні маси стимулюють синтез колагену, індукцію росту судин, зменшують біль, забезпечують гемостаз, прискорюють регенерацію, знижують ризик післяопераційних інфекційно-запальних ускладнень, а також мають потужні остеоіндуктивні властивості.

Завдяки здатності до продукції більшості факторів росту, тромбоцити можуть впливати на всі стадії запально-регенеративного процесу, а тому їх біологічні продукти набувають суттєвого значення у вирішенні завдань регенеративної медицини. Технології виготовлення PRP та PRF ґрунтуються на центрифугуванні крові, в результаті чого її активні компоненти концентруються у певних ділянках центрифугату.

Відбір крові з антикоагулянтом чи без нього, а також модифікація протоколів центрифугування дозволяє одержувати різні форми тромбоцитарних мас, такі як рідина, гель або згустки. Їх класифікують, залежно від клітинного вмісту та архітектури фібрину, на декілька категорій, а саме: на чисту плазму, збагачену тромбоцитами (P-PRP) та плазму, збагачену лейкоцитами і тромбоцитами (L-PRP); ін'єкційний фібрин, збагачений тромбоцитами (i-PRF) та чистий фібрин, збагачений тромбоцитами (P-PRF), і фібрин, збагачений лейкоцитами та тромбоцитами (L-PRF).

Механізми впливу кожної із категорій тромбоцитарних мас на регенерацію тканин залишаються недостатньо вивченими. Потребують стандартизації протоколи їх отримання, із врахуванням впливу додаткових речовин, таких як активатори тромбоцитів чи згортання та антикоагулянти, а також оптимізація способів застосування кожної з форм тромбоцитарних мас.

Ключові слова: тромбоцити, PRP, PRF, центрифуги, центробіжна сила.

Технологии получения тромбоцитарных масс для регенеративной медицины

Шевченко С.Н., Рубленко М.В., Боньковский А.А.

Развитие регенеративной медицины заключается в совершенствовании существующих и поиске новых средств для морфофункционального восстановления тканей, среди которых можно выделить плазму и фибрин, обогащенные тромбоцитами (PRP и PRF). Аутогенные тромбоцитарные массы стимулируют синтез коллагена, индукцию роста сосудов, уменьшают боль, обеспечивают гемостаз, ускоряют регенерацию, снижают риск послеоперационных инфекционно-воспалительных осложнений, а также имеют мощные остеиндуктивные свойства.

Благодаря способности продуцировать большинство факторов роста, тромбоциты могут влиять на все стадии воспалительно-регенеративного процесса, а потому их биологические продукты приобретают существенное значение в решении задач регенеративной медицины. Технологии получения PRP и PRF основываются на центрифугировании крови, в результате чего ее активные компоненты концентрируются в определенных участках центрифугата.

Отбор крови с антикоагулянтом или без него, а также модификация протоколов центрифугирования позволяет получать различные формы тромбоцитарных масс, такие как жидкость, гель или сгустки. Их классифицируют, в зависимости от клеточного содержания и архитектуры фибрина, на несколько категорий, а именно: чистую плазму, обогащенную тромбоцитами (P-PRP), плазму, обогащенную лейкоцитами и тромбоцитами (L-PRP); инъекционный фибрин, обогащенный тромбоцитами (и-PRF) и чистый фибрин, обогащенный тромбоцитами (P-PRF), а также фибрин, обогащенный лейкоцитами и тромбоцитами (L-PRF).

Механизмы влияния каждой из категорий тромбоцитарных масс на регенерацию тканей остаются недостаточно изученным. Необходимы стандартизация протоколов их получения с учетом влияния дополнительных веществ, таких как активаторы тромбоцитов или сворачивания крови и антикоагулянты, а также оптимизация способов применения каждой из форм тромбоцитарных масс.

Ключевые слова: тромбоциты, PRP, PRF, центрифуги, центробежная сила.



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



Рубленко М.В.

ID <https://orcid.org/0000-0001-9690-9531>

Наукове видання

Науковий вісник ветеринарної медицини

Збірник наукових праць

Випуск 2 (152) 2019

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 60г 84¹/₈. Ум. др. арк. 12,48. Зам. 6964. Тираж 300.

. Ум. др. арк. 13,83. Зам. 6916. Тираж 300.

Підписано до друку 17.12.2019 р.

Видавець і виготовлювач:

Білоцерківський національний аграрний університет,

09117, Біла Церква, Соборна площа, 8/1, тел. 33-11-01,

e-mail: redaksiaviddil@ukr.net

Свідоцтво внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру

видавців, виготовників і розповсюджувачів видавничої продукції

№ 3984 ДК від 17.02.2011 р.