

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

# НАУКОВИЙ ВІСНИК

ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ  
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ  
імені С.З. ГЖИЦЬКОГО

**СЕРІЯ: ВЕТЕРИНАРНІ НАУКИ**



**SCIENTIFIC MESSENGER**  
OF LVIV NATIONAL UNIVERSITY OF VETERINARY  
MEDICINE AND BIOTECHNOLOGIES

**SERIES: VETERINARY SCIENCES**

**Том 22 № 99**  
**2020**

Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки входить до “Переліку наукових фахових видань України” (категорія Б), в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук у галузі ветеринарних наук (остання пере-реєстрація згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 1301 від 15 жовтня 2019 р.). Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації серія КВ № 14133–3104 ПР від 11.06.2008 року.

#### РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

##### Голова редакційної колегії:

В. В. СТИБЕЛЬ, д.вет.н. (Україна)

##### Заступники голови редакційної колегії

О. М. ФЕДЕЦЬ, к.с.–г.н. (Україна)

Ю. С. СТРОНСЬКИЙ, к.вет.н. (Україна)

##### Відповідальний секретар

Б. В. ГУТИЙ, д.вет.н. (Україна)

##### Члени редакційної колегії

Р. АЛКСІЄВИЧ, док. габ. (Республіка Польща)

Р. ВЕІЛЕНМАН, к.вет.н (Швейцарія)

С. ВІНЯРЧИК, док. габ. (Республіка Польща)

П. І. ГОЛОВАЧ, д.вет.н. (Україна)

В. М. ГУНЧАК, д.вет.н. (Україна)

Д. Ф. ГУФРІЙ, д.вет.н. (Україна)

М. М. ЖЕЛАВСЬКИЙ, д.вет.н. (Україна)

Я. В. КІСЕРА, д.вет.н. (Україна)

І. І. КОВАЛЬЧУК, д.вет.н. (Україна)

О. В. КОЗЕНКО, д.с.–г.н. (Україна)

Г. І. КОЦЮМБАС, д.вет.н. (Україна)

Б. М. КУРТЯК, д.б.н. (Україна)

К. КУБЯК, док. габ. (Республіка Польща)

М. КОЗИРОВСЬКИЙ док. габ. (Республіка Польща)

А. Р. МИСАК, д.вет.н. (Україна)

Р. А. ПЕЛЕНЬО, д.вет.н. (Україна)

Р. ПИЛИП, к.вет.н (Канада)

Р. ПОГРАНИЧНИЙ д.вет.н. (США)

А. М. ТИБІНКА, д.вет.н. (Україна)

В. З. САЛАТА, д.вет.н. (Україна)

Л. Г. СЛІВІНСКА, д.вет.н. (Україна)

В. Ю. СТЕФАНІК, д.вет.н. (Україна)

В. Г. СТОЯНОВСЬКИЙ, д.вет.н. (Україна)

М. Р. СІМОНОВ, д.вет.н. (Україна)

Н. М. ХОМИН, д.вет.н. (Україна)

І. Д. ЮСЬКІВ, д.вет.н. (Україна)

Рекомендовано Вченою радою Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (протокол № 6 від 28.10.2020 р.).

##### Адреса редакційної колегії:

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, Україна, 79010 тел. +38 (032) 2392622, +380681362054 E-mail: admin@vetuniver.lviv.ua, bvvh@ukr.net

Scientific messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

includes in the “List of scientific professional publications of Ukraine”, which can be published the results of dissertations for the degree of doctor and candidate of Science in Veterinary Science (last re-registration under the order of the Ministry education of Ukraine number 1301 of October 15, 2019)

Certificate of registration of print media Series KV number 14133–3104 PR from 11.06.2008 year.

#### EDITORIAL BOARD

##### Editor-in-Chief:

V. STYBEL, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

##### Deputy Editors:

O. FEDETS, Cand. Agr. Sci. (Ukraine)

J. STRONSKYJ, Cand. Vet. Sci. (Ukraine)

##### Executive Secretary:

B. GUTYJ, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

##### Editorial board

R. ALEKSIEWICZ, Dr. Vet. Sci. (Poland)

R. WEILENMANN, Cand. Vet. Sci. (Switzerland)

S. WINIARCZYK, Dr. Vet. Sci. (Poland)

P. GOLOVACH, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

V. HUNCHAK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

D. HUFRIY, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

M. ZHELAVSKYI, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

Y. KISERA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

I. KOVALCHUK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

O. KOZENKO, Dr. Agr. Sci. (Ukraine)

G. KOTSYUMBAS, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

B. KURTYAK, Dr. Biol. Sci. (Ukraine)

K. KUBIAK, Dr. Vet. Sci. (Poland)

M. KOZIOROWSKI, Dr. Vet. Sci. (Poland)

A. MYSAK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

R. PELENO, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

R. PILIP, Cand. Vet. Sci. (Canada)

R. POGRANICHNIY, Dr. Vet. Sci. (USA)

A. TYBINKA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

V. SALATA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

L. SLIVINSKA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

V. STEFANYK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

V. STOJANOVSKYJ, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

M. SIMONOV, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

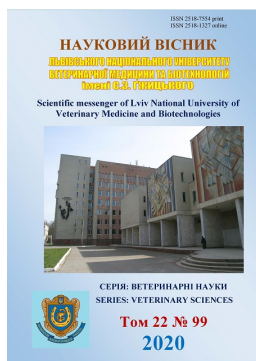
N. KHOMYN, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

I. YUSKIV, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)

Recommended by Academic Council of Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv (Minutes № 6 of 28.10.2020).

##### Editorial address:

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, 79010, Ukraine, Lviv, Pekarska str., 50 tel. +38 (032) 2392622, +380681362054 E-mail: admin@vetuniver.lviv.ua, bvvh@ukr.net



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9901  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.99:595.421

## Comparative effectiveness of acaricides

V. A. Levytska

State Agrarian and Engineering University in Podilia, Kamianets-Podilskyi, Ukraine

### Article info

Received 27.08.2020  
Received in revised form  
23.09.2020  
Accepted 24.09.2020

State Agrarian and Engineering  
University in Podilia,  
Shevchenko Str., 13, Kamianets-  
Podilskyi, 32300, Ukraine.  
Tel.: +38-067-381-20-12  
E-mail: Levytska28@gmail.com

*Levytska, V. A. (2020). Comparative effectiveness of acaricides. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 3–7. doi: 10.32718/nvlvet9901*

The use of chemicals is the main method of controlling ectoparasites around the world. In Ukraine, due to the lack of an effective system for controlling ixodid ticks, there is an annual increase in the number of tick-borne diseases. Prevention of tick bites is largely based on the use of chemical repellents and acaricides. The study was conducted in 2019 in the laboratory of parasitology of the Department of Infectious and Invasive Diseases FVMTT PDATU. The experiments used neonicotinoids – imidacloprid, phenyl pyrazole – fipronil, pyrethroid compounds – cyfluthrin, permethrin. In the first phase of the studies, acetone was used as a diluent, each acaricide was diluted to obtain a 1.0 % solution, after which 10-fold dilutions of each acaricide from 1:10 to 1:10<sup>7</sup> were prepared and the study was performed. In the second stage of research, the method of topical application of acetone solutions of different concentrations was used. Cyfluthrin caused 100 % death of ticks of *D. reticulatus* and *I. ricinus* within 24 hours at a dilution of up to 1:10.000. Statistical analysis showed that ticks of the two species were significantly more sensitive to cyfluthrin and permethrin than to fipronil and imidacloprid, based on LD<sub>50</sub> values. According to the level of contact activity, which is determined by topical application and the estimated LD<sub>50</sub>, cyfluthrin against *I. ricinus* was the most active acaricide and LD<sub>50</sub> was 0.33 ± 0.07. In relation to *D. reticulatus*, the LD<sub>50</sub> of cyfluthrin was 0.51 ± 0.08. After contact with cyfluthrin, 40 % of *I. ricinus* ticks and 30 % of *D. reticulatus* ticks died within one hour, and after 24 hours all ticks were dead. Among the adult stages of ixodid ticks, males were more resistant to the drugs than females. Therefore, cyfluthrin is recommended for the controlling of ticks, which ensures the death of mites after a short period of time.

**Key words:** ixodid ticks, *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, acaricides, efficiency.

## Порівняльна ефективність окремих акарицидів

В. А. Левицька

Подільський державний аграрно-технічний університет, м. Кам'янець-Подільський, Україна

Застосування хімічних речовин є основним методом боротьби з ектопаразитами у всьому світі. В Україні через відсутність розробленої ефективної системи боротьби з іксодовими кліщами щорічно спостерігається збільшення кількості трансмісивних хвороб. Профілактика укусів кліщів значною мірою заснована на застосуванні хімічних репелентів та акарицидів. Дослідження проведено протягом 2019 року в умовах лабораторії паразитології кафедри інфекційних та інвазійних хвороб ФВМТТ ПДАТУ. У досліджах використані неонікотиноїди – імідаклопрід, фінілпіралізоль – фіпроніл, піретроїди з'єднання – цифлутрин, перметрин. На першому етапі досліджень використовували ацетон як розріджувач, кожен акарицид розбавляли для отримання 1 % розчину, після чого готували 10-кратні розведення кожного акарициду від 1:10 до 1:10<sup>7</sup> і проводили дослідження. На другому етапі досліджень був використаний метод топікального нанесення ацетонових розчинів різної концентрації. Цифлутрин спричиняв 100 % загибель кліщів виду *D. reticulatus* та *I. ricinus* протягом 24 годин при розведенні до 1: 10 000. Статистичний аналіз показав, що кліщі обох видів були значно чутливішими до цифлутрину та перметрину, ніж до фіпронілу та імідаклопріду, на основі значень ЛД<sub>50</sub>. За рівнем контактної активності, яка визначається топікальним нанесенням і оцінюваної ЛД<sub>50</sub>, цифлутрин щодо *I. ricinus* був найбільш активним акарицидом і ЛД<sub>50</sub> склала 0,33 ± 0,07. Щодо *D. reticulatus* також ЛД<sub>50</sub> цифлутрину склала 0,51 ± 0,08. Після контакту з цифлутрином вже через одну годину загинуло 40 % кліщів *I. ricinus* і 30 % кліщів *D. reticulatus*, а через добу всі кліщі

були мертвими. Серед імагінальних стадій іксодид самці виявились стійкішими до дії препаратів, ніж самки. Отже, для знищення кліщів рекомендовано цифлутрин, який забезпечує вже через короткий проміжок часу загибель кліщів.

**Ключові слова:** іксодові кліщі, *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, акарицидна ефективність.

## Вступ

Застосування хімічних речовин є основним методом боротьби з ектопаразитами в усьому світі. В Україні через відсутність розробленої ефективної системи боротьби з іксодовими кліщами щорічно спостерігається збільшення кількості трансмісивних хвороб. Внаслідок цього як сільськогосподарські, так і домашні тварини зазнають збитків від вірусних, бактеріальних, рикетсіозних та паразитарних захворювань. Велика увага приділяється лікуванню цих захворювань, однак проблема боротьби з переносниками кліщами в основному залишається без уваги (Samish et al., 2004; Walker, 2014; Levvytska et al., 2019).

В даний час профілактика укусів членистоногих в основному досягається за рахунок знищення кліщів та запобігання їх нападу. Профілактика укусів кліщів значною мірою заснована на застосуванні хімічних репелентів та акарицидів. Однак розвиток стійкості серед кліщів, забруднення навколишнього середовища та забруднення м'яса й молока худоби є основними проблемами при використанні цих засобів (George et al., 2004; Abbas et al., 2014).

Акарицидами називають хімічні речовини, які знищують кліщів. Розрізняють дві групи акарицидів: специфічні, що діють тільки на кліщів, і неактивні – проти інших членистоногих та інсектоакарициди, що мають активність не тільки щодо кліщів, а й щодо комах. Специфічні акарициди, володіють вибірковою дією щодо кліщів паразитів рослин і не володіють активністю щодо іксодових кліщів (Mel'nikov et al., 1995). Очевидно, така вибірковість є наслідком глибоких еволюційних перебудов в організмі кліщів, у яких в процесі еволюції сформувалися різні типи харчування: соками рослин або кров'ю хребетних тварин. Відомо, що гематофаги – іксодові кліщі проявляють чутливість до багатьох інсектоакарицидів з різних груп хімічних сполук (Endris et al., 2000).

За характером дії на організм членистоногих інсектоакарициди поділяються на: контактні, які діють при безпосередньому потраплянні на покриви тіла або при контакті членистоногих з обробленою поверхнею; кишкові, які проникають в організм членистоногих при харчуванні через органи травлення; фуміганти, що перебувають в повітрі у вигляді пари та димів і потрапляють в організм членистоногих через дихальну систему (Burridge et al., 2003).

Цифлутрин належить до групи синтетичних піретроїдів третього покоління, вибірково зв'язується з рецепторами нервових клітин комах та порушує роботу натрієвих каналів нервових клітин, що призводить до затримки реполяризації мембран, гальмування нервових імпульсів, порушення координації рухів, паралічу і швидкої загибелі комах. Перметрин – інсектицид, акарицид. Належить до групи піретроїдів також. Удосконалення хімічної будови піретроїдів призвело до створення сполук, що володіють високою

інсектицидною і акарицидною активністю, відносно тривалою залишковою дією і фотостабільністю. Піретроїди поділяють на два типи. До першого типу належать піретрини і піретроїди: перметрин, тетраметрин, біоаллетрин, ресметрин, фенотрин та ін. У всіх цих сполук присутня центральна компонента -COOCH<sub>2</sub>-, і вони викликають у комах гіперактивність, тремор, а потім нокдаун, який може бути оборотним. Піретроїди першого типу називають неціанвмісними. Піретроїди другого типу – циперметрин, дельтаметрин, фенвалерат і ін. У всіх цих сполук центральною компонентою є -COOCHCN-, і вони викликають у комах гіперактивність, втрату координації, конвульсії, нокдаун, який завжди є незворотним. Піретроїди другого типу називають ціанвмісними. Загалом сполуки, що містять ціаногрупу в центральній компоненті, більш токсичні для теплокровних (Izmerova, 1989).

В останні 30 років відбувається бурхливий ріст обсягу виробництва піретроїдів і розширення їхнього асортименту, оскільки ця група сполук більше за інших відповідає критеріям ефективності та безпеки.

Фіпроніл належить до інсектоакарицидів групи фенілпіразолів. Селективно блокує роботу ГАМК-залежних хлор-іонних каналів в мембранах нервових клітин членистоногих, що призводить до порушення передачі нервових імпульсів, конвульсії та загибелі ектопаразитів.

Імідаклоприд – інсектицид з класу неонікотиноїдів, який найбільш широко застосовується. Механізм дії – зв'язується з постсинаптичними нікотиновими ацетилхоліновими рецепторами центральної нервової системи комах, в результаті чого у них розвиваються паралічі й конвульсії, що приводять до загибелі (Peter et al., 2005).

Метою роботи була оцінка дії на кліщів *Ixodes ricinus* та *Dermacentor reticulatus* акарицидів різних класів хімічних сполук, перспективних для використання у тваринництві.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено протягом 2019 року в умовах лабораторії паразитології кафедри інфекційних та інвазійних хвороб ФВМТТ ПДАТУ. Кліщів збирали у природних біотопах Хмельницької області на прапор та ідентифікували за загальноприйнятими методиками і визначниками.

У дослідах використані неонікотиноїди – імідаклоприд, фінілпіразолі – фіпроніл, піретроїдні з'єднання – цифлутрин, перметрин. На першому етапі досліджень використовували ацетон як розріджувач, кожен акарицид розбавляли для отримання 1% розчину, після чого готували 10-кратні розведення кожного акарициду від 1:10 до 1:10<sup>7</sup>. По 0,5 мл кожного розчину кожного акарициду наносили піпетками у скляні чашки Петрі, закривали кришкою та обертаючи всі внутрішні поверхні чаші зрошували розведе-

ним акарицидом. Коли всі поверхні були вологими, надлишок розведеного акарициду виливали і чашку Петрі висушували на повітрі. У контрольній групі використовували лише ацетон. Для кожного досліджуваного виду кліщів по 20 дорослих кліщів поміщали в кожен чашку Петрі з акарицидом, яку потім закривали кришкою, обладнаною отворами для повітря, та інкубували при 24 °С. Після цього проводили спостереження за кліщами протягом 24 год.

На другому етапі досліджень був використаний метод топікального нанесення ацетонових розчинів різної концентрації (Metodicheskie ukazaniya, 2004). Токсичність сполук в даному випадку характеризується величиною летальної дози (ЛД), яка виражається в мкг акарициду по ДР на 1 г маси членистоногих. Ця величина відповідає кількості токсину, який викликає заданий відсоток загибелі досліджуваного об'єкта. Ми розраховували показник ЛД<sub>50</sub> як дозу акарициду, що викликає загибель 50 % кліщів, при топікальному нанесенні акарициду в мкг/г. У наших експериментах ми наносили на дорсальну поверхню кліщів краплю обсягом 0,5 мкл. При вивченні кожного акарициду використовували ті ж концентрації, що описані вище. В контрольній групі використовували дистильовану воду. Після нанесення розчину кліщів поміщали в стерильні чашки Петрі та спостерігали протягом доби. Облік результатів досліджень проводили кожної години протягом доби. Всі досліди проводили в групах, в кожній по 20 кліщів. Дані оброблені за допомогою аналізу за стандартною методикою (Popov, 1965).

Життєздатність кліщів визначали за допомогою мікроскопії (Konus 5605 Biogex-3), враховуючи рухову реакцію при подразненні. Критерієм загибелі кліщів вважали відсутність рухливості та відсутність реакції на механічні подразники.

### Результати досліджень

Цифлутрин спричиняв 100 % загибель кліщів виду *D. reticulatus* протягом 24 годин при розведенні 1:10 000. Подібним чином перметрин спричиняв 100 % загибель – протягом 24 годин при розведенні

1:1000. На відміну від цього імідаклоприд не призвів до загибелі всіх кліщів протягом 24 годин навіть при найменшому розведенні (1:100). Статистичний аналіз показав, що кліщі виду *D. reticulatus* були значно чутливішими до цифлутрину та перметрину, ніж до фіпронілу та імідаклоприду, на основі значень ЛД<sub>50</sub>.

Повна 100 % загибель кліщів виду *I. ricinus* була досягнута протягом 24 годин розчином цифлутрину у розведенні 1:10 000, перметрином у розведенні до 1:1 000 та фіпронілом лише у нерозведеному продукті. Знову ж таки, імідаклоприд не призвів до 100 % загибелі кліщів виду *Ixodes ricinus* протягом 24 годин навіть при найменшому розведенні розчину (1:100). Статистичний аналіз показав, що дорослі кліщі виду *I. ricinus* були найбільш чутливими до цифлутрину порівняно з усіма іншими акарицидами, випробуваними на основі значень ЛД<sub>50</sub>. Наступним найбільш ефективним акарицидом був перметрин. Фіпроніл та імідаклоприд були найменш ефективними акарицидами проти дорослих кліщів виду *I. ricinus*.

Загибель кліщів настала значно швидше після їхнього контакту з цифлутрином і перметрином, ніж з іншими дослідженими препаратами. За рівнем контактної активності, яка визначається топікальним нанесенням, і оцінюваної ЛД<sub>50</sub>, цифлутрин щодо *I. ricinus* був найактивнішим акарицидом і ЛД<sub>50</sub> склала 0,33 ± 0,07 мкг/г. Щодо *D. reticulatus* також ЛД<sub>50</sub> цифлутрина склала 0,51 ± 0,08 мкг/г. Після контакту з цифлутрином вже через одну годину загинуло 40 % кліщів *I. ricinus* і 30 % кліщів *D. reticulatus*, а через добу всі кліщі були мертвими. Подібним чином перметрин спричинив 100 % загибель кліщів протягом 24 годин. Після контакту з фіпронілом загибель кліщів через 1 годину становила не більше 10 % і навіть через добу частина кліщів залишилася живою. Після контакту з імідаклопридом через добу залишилися живі майже всі кліщі. Порівняльна ефективність акарицидів при знищенні кліщів наведена в таблиці 1. Статистичний аналіз показав, що як самці, так і самки обох видів кліщів були значно чутливішими до цифлутрину та перметрину, ніж до фіпронілу та імідаклоприду.

Таблиця 1

Дослідження акарицидної дії хімічних речовин на кліщів виду *Ixodes ricinus* та *Dermacentor reticulatus* при топікальному нанесенні

Хімічна речовина	Загинуло кліщів через 15 хв, %		Загинуло кліщів через 1 год, %		Загинуло кліщів через 24 год, %	
	Самки	Самці	Самки	Самці	Самки	Самці
<i>Dermacentor reticulatus</i>						
Цифлутрин	0	0	40	40	100	100
Перметрин	10	10	30	20	100	100
Імідаклоприд	0	0	0	0	10	10
Фіпроніл	0	0	10	0	40	20
Контроль	0	0	0	0	0	0
<i>Ixodes ricinus</i>						
Цифлутрин	10	0	50	30	100	100
Перметрин	0	10	40	20	100	100
Імідаклоприд	0	0	10	10	20	10
Фіпроніл	0	0	10	10	40	30
Контроль	0	0	0	0	0	0

Рухова активність кліщів обох видів при контакті з імідаклопридом та фіпронілом в перші 3 хвилини після контакту з ними не змінилася. Стан нокдауну не було зареєстровано в першу годину після контакту. Ці дані дозволяють припускати, що процес отруєння кліщів після контакту з хімічними сполуками не настає в першу годину. Однак рухова активність кліщів обох видів значно змінилась вже в перші хвилини після контакту з цифлутрином. Кліщі обох видів *I. ricinus* та *D. reticulatus* вже в перші 3 хвилини почали рухатися достовірно повільніше (приблизно в 2 рази).

Серед імагінальних стадій іксодид самці виявились стійкішими до дії препаратів, ніж самки.

Кліщі з групи контролю лишалися живими протягом всього експерименту, що підтверджувалося руховими реакціями.

### Обговорення

Членистоногі відіграють важливу роль у патологіях людини і тварин – починаючи від запалень, спричинених укусом, а також алергічних реакцій до складних захворювань, які можуть спричинити зниження продуктивності або навіть і загибель тварини. При виборі засобів захисту від іксодових кліщів необхідно враховувати ризики, пов'язані з патогенами, які можуть переносити кліщі, а також стійкість кліщів до певних хімічних речовин.

У попередніх дослідженнях, проведених в США та Європі, було встановлено, що синтетичні піретроїди є ефективними проти кліщів роду *Ixodes*. Ефективна концентрація цих сполук коливалась від 0,004 мг/см<sup>2</sup> до 0,25 мг/см<sup>2</sup>. Було встановлено, що період впливу на кліщів коливався від 10 секунд до 1 години, що призводило до знешкодження або загибелі > 90 % личинок, німф та дорослих видів *Ixodes*. Крім того, дані хімічні сполуки мають накопичувальну дію на поверхнях і в подальшому можуть забезпечувати ефективний захист від паразитів. Ця дія залежить від концентрації речовини, а також часу дії препарату на кліщів (Lane, 1989; Kocisova & Para, 1999). В наших дослідженнях було продемонстровано, що цифлутрин і перметрин, які належать до групи синтетичних піретроїдів, є найефективнішими для знищення кліщів протягом доби. Також варто зазначити, що дія почалась в першу годину, що є важливим фактором для захисту від укусів кліщів.

Дослідниками встановлено, що сприйнятливість до піретроїдів серед кліщів зростає зі збільшенням віку кліща. Крім того, важливим є те, що при обробці акарицидами іксодових кліщів можливе зменшення кількості відкладених самками яєць, зменшення числа личинок, що вилуплюються, і т. д. Ці явища були характерними для багатьох видів іксодових кліщів і при використанні різних речовин (McCosker, 1979; FAO, 1990; Endris et al., 2000).

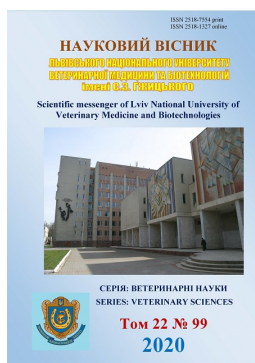
### Висновки

Отже, для знищення кліщів рекомендовано цифлутрин, який забезпечує вже через короткий проміжок часу загибель кліщів. Важливо, що кліщі при цьому стають менш активними, що відповідає основним вимогам щодо акарицидних речовин. Дана сполука володіє вираженою акарицидною дією на іксодових кліщів та вже через добу забезпечує 100 % ефективне знищення кліщів. Планується подальше проведення досліджень препарату “Цифлур-комбі” у виробничих умовах.

### References

- Abbas, R. Z., Zaman, M. A., Colwell, D. D., Gilleard, J., & Iqbal, Z. (2014). Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: the state of play. *Vet Parasitol*, 203(1–2), 6–20. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.03.006.
- Burridge, M. J., Simmons, L.-A., & Allan, S. A. (2003). Efficacy of acaricides for control of four tick species of agricultural and public health significance in the United States. *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 20, 207–219. URL: <http://scentsoc.org/Volumes/JAUE/v20/207.pdf>.
- Endris, R. G., Matthewson, M. D., Cooke, M. D., & Amodie, D. (2000). Repellency and efficacy of 65 % permethrin and 9.7% fipronil against *Ixodes ricinus*. *Vet Ther.*, 1(3), 159–168. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19757578>.
- FAO (1990). Report of the FAO expert consultation on revision of strategies for the control of ticks and tick-borne diseases, Rome, 25–29 September 1989. *Parassitologia*, 32, 3–12.
- George, J. E., Pound, J. M., & Davey, R. B. (2004). Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. *Parasitology*, 129, 353–366. doi: 10.1017/S0031182003004682.
- Izmerova, N. F. (1989). Piretroidy. *Nauchnye obzory sovetskoj literatury po toksichnosti i opasnosti himicheskikh veshhestv. Centr mezhdunarodnyh proektov GKNT*, 119, 74 (in Russian).
- Kocisova, A., & Para, L. (1999). Possibilities of long-term protection against blood-sucking insects and ticks. *Cent Eur J Pub Hlth*, 7(1), 27–30. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10084018>.
- Lane, R. S. (1989). Treatment of clothing with permethrin spray for personal protection against the western black-legged tick, *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol*, 6(4), 343–352. doi: 10.1007/bf01193304.
- Levytska, V. A., Mushynskiy, A. B., & Berezovskiy, A. V. (2019). Monitorynh transmysyvnnykh zakhvoriuvan shcho peredaiutsia iksodovymy klishchamy v zakhidnykh oblastiakh Ukrainy. *Naukovyi visnyk LNUVMB im. S. Z. Gzhytskoho*, 21(96), 14–18. doi: 10.32718/nvlvet9603 (in Ukrainian).
- McCosker, P. J. (1979). Global aspects of the management and control of ticks of veterinary im-

- portance. *Recent Adv Acarol*, 2, 45–53. doi: 10.1016/B978-0-12-592202-9.50012-4.
- Mel'nikov, H. N., Novozhilov, K. V., & Belan, S. R. (1995). *Pesticidy i reguljatory rosta rastenij*. Sprav, izd. M.: Himija (in Russian).
- Metodicheskie ukazanija (2004). *Metody opredelenija jeffektivnosti insekticidov, akaricidov, reguljatorov razvitija i repellentov, ispol'zuemyh v medicinskoj dezinsekcii* (MU 3.5.2. 1759-03 ot 28.09.2003 g.). M.: Federal'nyj centr Gossanjepidnadzora Minzdrava Rosii (in Russian).
- Peter, R. J., Van den Bossche, P., Penzhorn, B. L., & Sharp, B. (2005). Tick, fly, and mosquito control – lessons from the past, solutions for the future. *Vet Parasitol*, 132, 205–215. doi: 10.1016/j.vetpar.2005.07.004.
- Popov, P. V. (1965). Statisticheskij analiz opytnyh dannyh s pomoshh'ju linii regressii “doza pesticida aktivnost’”. *Himija*, 10, 72–74 (in Russian).
- Samish, M., Ginsber, G. H., & Glazer, I. (2004). Biological control of ticks. *Parasitology*, 129, S389–403. doi: 10.1017/S0031182004005219.
- Walker, A. R. (2014). Ticks and associated diseases: a retrospective review. *Med Vet Entomol*, 28(S1), 1–5. doi: 10.1111/mve.12031.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9902  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:614.31:621.565:637.5

## Sanitary and hygienic condition of refrigerators and facilities for storage of meat of slaughtered animals at the powers of their production and circulation

N. M. Bogatko

Bilotserkivsky National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

### Article info

Received 27.08.2020  
Received in revised form  
24.09.2020  
Accepted 25.09.2020

Bilotserkivsky National Agrarian  
University, Cathedral Square, 8/1,  
Bila Tserkva, Kyiv region,  
09117, Ukraine.  
Tel.: +38-067-395-21-50  
E-mail: nadiyabogatko@ukr.net

**Bogatko, N. M. (2020). Sanitary and hygienic condition of refrigerators and facilities for storage of meat of slaughtered animals at the powers of their production and circulation. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 8–19. doi: 10.32718/nvlvet9902**

The sanitary and hygienic condition of refrigeration chambers (air, walls, floors, tables/counters, refrigeration chamber hangers) in the process of production and storage of meat of slaughter animals (beef, pork, lamb and goat) at a temperature from  $4 \pm 2$  °C to  $-12$  °C. Indicators of qualitative and quantitative composition of air microflora of refrigerators of meat processing capacity, wholesale base at a temperature of  $-2... -3$  °C for 20 days, at a temperature of  $-12$  °C, where beef for 8 months, pork for 3 months, lamb and goat for 6 months; refrigerators, supermarket counters at a temperature of  $4 \pm 2$  °C for 2 days and at a temperature of  $-6... -8$  °C for 20 days, where the meat of slaughter animals was sold; agri-food market at a sales temperature of  $0... 6$  °C and 2 days and at a temperature of  $0... -1$  °C for 16 days, where the meat of slaughter animals was stored for sale. It is proved that at a temperature of  $-12$  °C in refrigeration chambers during storage of meat of slaughter animals at production facilities and wholesale base at relative humidity of 95 and 90 % for 3, 6 and 8 months, respectively, the content of MAFANM in the air was respectively  $(0.39 \pm 0.04) \times 10^2$  and  $(0.41 \pm 0.04) \times 10^2$  CFU/m<sup>3</sup>; at a temperature of  $-2... -3$  °C in refrigeration chambers of power and wholesale base at a relative humidity of 90 % for 20 days, respectively –  $(0.52 \pm 0.05) \times 10^2$  ( $P \leq 0.05$ ) and  $(1.19 \pm 0.09) \times 10^2$  CFU/m<sup>3</sup> ( $P \leq 0.001$ ); at a temperature of  $-6... -8$  °C in the refrigerator at a relative humidity of 85 % of the supermarket for 20 days –  $(0.61 \pm 0.06) \times 10^2$  CFU/m<sup>3</sup>, and at a temperature of  $4 \pm 2$  °C in an open refrigerator at a relative humidity 82 % for 2 days –  $(1.72 \pm 0.08) \times 10^2$  CFU/m<sup>3</sup> ( $P \leq 0.001$ ); at a temperature of  $0... 6$  °C in the refrigerating chamber of the premises on the agri-food market at a relative humidity of 88 % and 2 days –  $(2.19 \pm 0.11) \times 10^2$  CFU/m<sup>3</sup>, and at a temperature of  $0... -1$  °C for 16 days –  $(1.89 \pm 0.09) \times 10^2$  CFU/m<sup>3</sup> ( $P \leq 0.05$ ). The probable dependence of the number of microorganisms on the air temperature of refrigeration chambers was determined: the lower the air temperature ( $-12$  °C,  $-6... -8$  °C), the higher the sanitary condition of the chambers. With increasing temperature in refrigeration chambers:  $4 \pm 2$  °C,  $0... 6$  °C and  $0... -1$  °C, the average number of mold fungi in the air increased in direct proportion:  $65.00 \pm 1.04$  CFU/m<sup>3</sup>,  $103.00 \pm 2.24$  CFU/m<sup>3</sup> (including  $5 \pm 1$  *Cladosporium herbarum*, indicating its unsatisfactory sanitary condition) and  $85.00 \pm 1.13$  ( $P \leq 0.001$ ) CFU/m<sup>3</sup>. At a temperature of  $-2... -3$  °C in the refrigeration chamber of the slaughterhouse meat production capacity, the highest content of MAFANM was in the floor washes 4.48 times ( $P \leq 0.001$ ), in the walls – 2.27 times ( $P \leq 0.001$ ) and hung – 1.16 times ( $P \leq 0.001$ ) compared to the indicators in the refrigerator at a temperature of  $-12$  °C. Using a temperature of  $4 \pm 2$  °C in a refrigerated open window in a supermarket, the highest content of MAFANM of high probability ( $P \leq 0.001$ ) was established from the washing of objects and hands of workers within  $(8.23 \pm 0.11) \times 10^1$  –  $(1.83 \pm 0.06) \times 10^2$  CFU/cm<sup>2</sup>; from the objects of agro-food market premises and hands of workers at a temperature of  $0... 6$  °C was in the range  $(1.08 \pm 0.07) \times 10^2$  –  $(2.24 \pm 0.14) \times 10^2$  CFU/cm<sup>2</sup>, which indicated their unsatisfactory sanitary condition. When using the temperature of  $-12$  °C in the refrigeration chambers of the meat production and wholesale base, the content of MAFANM from the washes of the objects was in the range:  $(0.73 \pm 0.04) \times 10$  –  $(1.23 \pm 0.07) \times 10$  CFU/cm<sup>2</sup> and  $(0.65 \pm 0.04) \times 10$  –  $(1.42 \pm 0.10) \times 10$  CFU/cm<sup>2</sup> (good sanitation); for temperatures  $-2... -3$  °C –  $(0.85 \pm 0.05) \times 10$  –  $(5.51 \pm 0.11) \times 10$  CFU/cm<sup>2</sup> and  $(0.79 \pm 0.05) \times 10$  –  $5.29 \pm 0.12) \times 10$  CFU/cm<sup>2</sup> (satisfactory sanitary condition). Test cultures of bacteria of different genera were isolated from the facilities of refrigeration chambers of production facilities and wholesale base at temperatures of  $-12$  °C and  $-2... -3$  °C: *Echerichia* – 12.5–16.7 %; *Staphylococcus aureus* – up to 12.5 %, *Salmonella* – not detected; from the objects of refrigeration chambers of the agri-food market at room temperature  $0... 6$  °C and  $0... -1$  °C, knives, hands of workers: *Echerichia* – 41.7–50.0 %; *Salmonella* – 16.7–12.5 %; *Staphylococcus aureus* – up to 33.3–29.7 %; from supermarket facilities at the temperature of refrigeration chambers  $-6... -8$  °C and  $4 \pm 2$  °C, knives, hands of



employees: *Echerichia* – 16.7–50.0 %; *Salmonella* – 12.5–16.7 %; *Staphylococcus aureus* – 8.3–20.8 %. There was a directly proportional increase in the contamination of meat of slaughter animals MAFANM for storage and sale in refrigerators in the supermarket at a temperature of  $4 \pm 2$  °C and agri-food market at a temperature of 0...6 °C for 2 days, respectively: in beef –  $(1.15 \pm 0.22) \times 10^3$  and  $(2.26 \pm 0.21) \times 10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>; pork –  $(1.32 \pm 0.18) \times 10^3$  and  $(2.81 \pm 0.19) \times 10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>; mutton –  $(1.09 \pm 0.20) \times 10^3$  and  $(2.18 \pm 0.22) \times 10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>; goat meat –  $(1.18 \pm 0.12) \times 10^3$  and  $(1.97 \pm 0.17) \times 10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>. Hygienic criteria of the technological process in the meat of slaughter animals were the number of colonies of aerobic microorganisms in the meat of slaughter animals from  $m = 3.6 \log$  CFU/cm<sup>2</sup> to  $m = 3.9 \log$  CFU/cm<sup>2</sup> and from  $M = 5.1$  CFU/cm<sup>2</sup> up to  $M = 5.5$  CFU/cm<sup>2</sup> (in supermarkets) and from  $m = 3.7 \log$  CFU/cm<sup>2</sup> to  $m = 4.4 \log$  CFU/cm<sup>2</sup> and from  $M = 5.1$  CFU/cm<sup>2</sup> to  $M = 5.4$  CFU/cm<sup>2</sup> (in agri-food markets); Enterobacteriaceae in meat of slaughter animals from  $m = 1.6 \log$  CFU/cm<sup>2</sup> to  $m = 2.0 \log$  CFU/cm<sup>2</sup> and from  $M = 2.5$  CFU/cm<sup>2</sup> to  $M = 3.4$  CFU/cm<sup>2</sup> (in supermarkets) and from  $m = 1.5 \log$  CFU/cm<sup>2</sup> to  $m = 2.3 \log$  CFU/cm<sup>2</sup> and from  $M = 3.3$  CFU/cm<sup>2</sup> to  $M = 3.7$  CFU/cm<sup>2</sup> (in agri-food markets). Therefore, food market operators implementing the HACCP system based on the current procedures of GMP, GHP and GLP must carry out sanitary and microbiological control of refrigeration facilities (air, floors, tables/counters, walls, hangers) of meat production facilities, wholesale bases, supermarkets and agri-food markets, as well as knives and hands of workers, which will create appropriate sanitary and hygienic conditions at these facilities, prevent contamination of meat of slaughter animals with microorganisms, its spoilage, the emergence of food poisoning.

**Key words:** production and circulation facilities, facilities of refrigeration chambers, temperature, sanitary and hygienic condition, washes, meat of slaughter animals.

## Санітарно-гігієнічний стан холодильних камер та об'єктів за зберігання м'яса забійних тварин на потужностях з їх виробництва та обігу

Н. М. Богатко

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна

Досліджено санітарно-гігієнічний стан холодильних камер (повітря, стін, підлоги, столів/прилавоків, вішал холодильних камер) у процесі виробництва та зберігання м'яса забійних тварин (яловичина, свинина, баранина і козятина) за температури від  $4 \pm 2$  °C до -12 °C. Встановлено показники якісного та кількісного складу мікрофлори повітря холодильних камер м'ясопереробної потужності, оптової бази за температури -2...-3 °C на 20 добу, за температури -12 °C, де зберігались яловичина на 8 міс., свинина на 3 міс., баранина і козятина на 6 міс.; холодильних камер, прилавоків супермаркету за температури  $4 \pm 2$  °C на 2 добу та за температури -6...-8 °C на 20 добу, де реалізовувалося м'ясо забійних тварин; агропродовольчому ринку за температури реалізації 0...6 °C на 2 добу та за температури 0...-1 °C на 16 добу, де зберігалося м'ясо забійних тварин для реалізації. Доведено, що за температури -12 °C у холодильних камерах при зберіганні м'яса забійних тварин на потужності з виробництва та оптової бази за відносної вологості відповідно 95 і 90 % на 3, 6 і 8 міс. вміст МАФАНМ у повітрі становив відповідно  $(0,39 \pm 0,04) \times 10^2$  та  $(0,41 \pm 0,04) \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup>; за температури -2...-3 °C у холодильних камерах потужності та оптової бази за відносної вологості 90 % на 20 добу відповідно –  $(0,52 \pm 0,05) \times 10^2$  ( $P \leq 0,05$ ) та  $(1,19 \pm 0,09) \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup> ( $P \leq 0,001$ ); за температури -6...-8 °C у холодильній камері за відносної вологості 85 % супермаркету на 20 добу –  $(0,61 \pm 0,06) \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup>, а за температури  $4 \pm 2$  °C у холодильній відкритій камері за відносної вологості 82 % на 2 добу –  $(1,72 \pm 0,08) \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup> ( $P \leq 0,001$ ); за температури 0...6 °C у холодильній камері приміщення на агропродовольчому ринку за відносної вологості 88 % на 2 добу –  $(2,19 \pm 0,11) \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup>, а за температури 0...-1 °C на 16 добу –  $(1,8 \pm 0,09) \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup> ( $P \leq 0,05$ ). Визначено вірогідну залежність кількості мікроорганізмів від температури повітря холодильних камер: чим нижча температура повітря (-12 °C, -6...-8 °C), тим вищий санітарний стан камер. За збільшення температури у холодильних камерах: 4, 2 °C, 0...6 °C та 0...-1 °C прямо пропорційно збільшувалася середня кількість плісневих грибів у повітрі відповідно:  $65,00 \pm 1,04$  КУО/м<sup>3</sup>,  $103,00 \pm 2,24$  КУО/м<sup>3</sup> (в тому числі  $5 \pm 1$  *Cladosporium herbarum*, що вказувало на її незадовільний санітарний стан) та  $85,00 \pm 1,13$  ( $P \leq 0,001$ ) КУО/м<sup>3</sup>. За температури -2...-3 °C у холодильній камері потужності з виробництва м'яса забійних тварин найвищий вміст МАФАНМ становив у змивах із підлоги – більше у 4,48 разу ( $P \leq 0,001$ ), стін – у 2,27 разу ( $P \leq 0,001$ ) та вішал – у 1,16 разу ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з показниками у холодильній камері за температури -12 °C. За використання температури  $4 \pm 2$  °C у холодильній відкритій вітрині в супермаркеті найбільший вміст МАФАНМ високого ступеня вірогідності ( $P \leq 0,001$ ) встановили зі змивів об'єктів та рук працівників в межах  $(8,23 \pm 0,11) \times 10^1$  –  $(1,83 \pm 0,06) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup>; із об'єктів приміщень агропродовольчого ринку і рук працівників за температури 0...6 °C був в межах  $(1,08 \pm 0,07) \times 10^2$  –  $(2,24 \pm 0,14) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup>, що вказувало на їхній незадовільний санітарний стан. За використання температури -12 °C у холодильних камерах потужності з виробництва м'яса та оптової бази вміст МАФАНМ зі змивів об'єктів становив відповідно в межах:  $(0,73 \pm 0,04) \times 10$  –  $(1,23 \pm 0,07) \times 10$  КУО/см<sup>2</sup> та  $(0,65 \pm 0,04) \times 10$  –  $(1,42 \pm 0,10) \times 10$  КУО/см<sup>2</sup> (добрий санітарний стан); за температури -2...-3 °C –  $(0,85 \pm 0,05) \times 10$  –  $(5,51 \pm 0,11) \times 10$  КУО/см<sup>2</sup> та  $(0,79 \pm 0,05) \times 10$  –  $(5,29 \pm 0,12) \times 10$  КУО/см<sup>2</sup> (задовільний санітарний стан). Були виділені тест-культури бактерій різних родів із об'єктів холодильних камер потужностей з виробництва та оптової бази за температури -12 °C та -2...-3 °C: *Echerichia* – 12,5–16,7 %; *Staphylococcus aureus* – до 12,5 %, *Salmonella* – не виявлено; із об'єктів холодильних камер агропродовольчого ринку за температури приміщення 0...6 °C та 0...-1 °C, ножів, рук працівників: *Echerichia* – 41,7–50,0 %; *Salmonella* – 16,7–12,5 %; *Staphylococcus aureus* – до 33,3–29,7 %; із об'єктів супермаркету за температури холодильних камер -6...-8 °C та  $4 \pm 2$  °C, ножів, рук працівників: *Echerichia* – 16,7–50,0 %; *Salmonella* – 12,5–16,7 %; *Staphylococcus aureus* – 8,3–20,8 %. Відмічалася прямо пропорційне збільшення обміненія м'яса забійних тварин МАФАНМ за зберігання і реалізації в холодильних камерах у супермаркеті за температури  $4 \pm 2$  °C та агропродовольчому ринку за температури 0...6 °C на 2 добу відповідно: в яловичині –  $(1,15 \pm 0,22) \times 10^3$  та  $(2,26 \pm 0,21) \times 10^3$  КУО/см<sup>2</sup>; свинині –  $(1,32 \pm 0,18) \times 10^3$  та  $(2,81 \pm 0,19) \times 10^3$  КУО/см<sup>2</sup>; баранині –  $(1,09 \pm 0,20) \times 10^3$  та  $(2,18 \pm 0,22) \times 10^3$  КУО/см<sup>2</sup>; козятині –  $(1,18 \pm 0,12) \times 10^3$  та  $(1,97 \pm 0,17) \times 10^3$  КУО/см<sup>2</sup>. Отже, оператори ринку харчових продуктів, впроваджуючи систему HACCP на основі діючих процедур GMP, GHP та GLP, повинні здійснювати санітарно-мікробіологічний контроль об'єктів холодильних камер (повітря, підлоги, столів/прилавоків, стін, вішал) потужностей з виробництва м'яса, оптових баз, супермаркетів та агропродовольчих ринків, а також ножів і рук працівників, що дасть можливість створити належні санітарно-гігієнічні умови на цих потужностях, запобігти обміненню м'яса забійних тварин мікроорганізмами, його псуванню, виникненню харчових токсикоінфекцій.

**Ключові слова:** потужності з виробництва та обігу, об'єкти холодильних камер, температура, санітарно-гігієнічний стан, змиви, м'ясо забійних тварин.

## Вступ

На операторів ринку покладено зобов'язання щодо виконання вимог дотримання законодавства під час виробництва та обігу екологічно безпечного м'яса забійних тварин – яловичини, свинини, баранини і козлятини. Згідно із Законом України “Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів” необхідно здійснювати інспекційні перевірки щодо дотримання санітарно-гігієнічних вимог за зберігання м'яса забійних тварин в холодильних камерах на потужностях з їх виробництва, оптових баз, супермаркетах і агропродовольчих ринках, а також виконувати вимоги нової Європейської регламентації щодо харчових продуктів, Комісії Кодексу Аліментаріус, а також організувати свою роботу на основі оцінки ризиків із санітарної безпеки харчових продуктів (Regulation EC № 178, 2002; Regulation EC № 852, 2004; Schillinger & Lucke, 2003; Rodionova et al., 2020).

З метою запобігання порушенням санітарно-гігієнічного стану об'єктів холодильних камер потужностей з виробництва та обігу м'яса забійних тварин, ножів і рук працівників оператори ринку повинні здійснювати належний ризик-орієнтований контроль за мікробіологічними небезпеками (*Listeria*, *S. aureus*, мікроскопічні гриби) впродовж виробництва (Odewade et al., 2018; Paliy et al., 2018), зберігання, реалізації яловичини, свинини, баранини і козлятини, що буде гарантувати високий рівень гігієни та харчової безпеки, ефективність функціонування системи управління ланцюгом поставок, зниження кількості аудиторських перевірок із боку державних установ та партнерів, зменшення випуску небезпечної м'ясної сировини (Velemets, 2020).

Визначення показників санітарно-мікробіологічного контролю холодильних камер, об'єктів на потужностях з виробництва та обігу є актуальним, тому що це запобігає негативному впливу на безпечність та якість м'яса забійних тварин в терміни закінчення його зберігання та відвертає нанесення шкоди здоров'ю пересічного споживача і дає можливість профілакувати харчові отруєння та харчові токсикоінфекції (Milios et al., 2012).

Мікробіологічний контроль на потужностях з виробництва і переробки м'яса проводиться при вимірюванні вмісту аденозотрифосфату (АТФ), що є енергоносієм і міститься в усіх живих клітинах бактерій і м'яса та на основі зіставлення визначеного об'єму АТФ до деякої кількості мікроорганізмів роблять висновок щодо їхнього кількісного складу (Nagibina et al., 2014). Оцінка мікробіологічної безпеки холодильних камер піддавалася візуальному огляду, рівням АТФ- біоломісценції, індикаторних мікроорганізмів *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus*, а також наявності *Listeria monocytogenes* и *Salmonella*, які були виділені із полиць, відповідно у 17,9, 12,6, 59,5, 32,5 % (Macias-Rodriguez et al., 2013).

За холодильного зберігання яловичини в ньому проходять мікробіологічні зміни через розмноження мезофільної та психротрофної мікрофлори, яку треба контролювати, внаслідок подальшого обсіменіння м'ясної сировини (Ercolini et al., 2009).

Для профілактики зниження ризику хвороб харчового походження була проведена перевірка холодильних камер методом ПЦР, яка показала, що 51,7 % зразків були позитивні на патогени: *L. monocytogenes* 41,6 %, *S. aureus* 5,5 %, *Salmonella* spp. 4,6 %.

За дослідженнями (Bogatko & Sakhniuk, 2013) було встановлено, що холодильні камери за температури -1°C та -12° С не чинять бактеріостатичного впливу на життєдіяльність плісневих грибів, яких найбільше виявляли у повітрі на відстані від підлоги 0,5 м (7 ± 2 колоній).

Дана тема є досить актуальною під час впровадження системи HACCP на потужностях харчової галузі України, тому наші дослідження полягали у всебічному контролі санітарно-гігієнічного стану холодильних камер за різних температурних і вологісних режимів та інших об'єктів за зберігання та реалізації яловичини, свинини, баранини і козлятини в кінцевий нормативний термін зберігання на потужностях з їх виробництва та обігу.

Метою дослідження було встановити показники якісного та кількісного складу мікрофлори повітря, стін, підлоги, столів/прилавків, вішал холодильних камер, ножів, рук працівників за виробництва та обігу м'яса забійних тварин, а також встановити мікробіологічні показники за вмістом МАФАНМ в м'ясі забійних тварин, що зберігалися у холодильних камерах потужностей різних типів.

## Матеріал і методи досліджень

Випробування щодо мікробіологічного контролю відбитків та змивів із об'єктів державного контролю проводили на потужностях з виробництва м'яса ТОВ МПЗ “Баварія”, оптовій базі, супермаркеті “Сільпо”, “АТБ”, агропродовольчому ринку Київської області згідно з вимогами національного стандарту ДСТУ ISO 18593:2006 “Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Мікробіологічний аналіз із використанням відбитків і змивів з поверхонь”. Відбирали проби з повітря холодильних камер: м'ясопереробної потужності, оптової бази за температури -2...-3 °С на 20 добу, за температури -12 °С, де зберігались яловичина на 8 міс., свинина на 3 міс., баранина і козлятина на 6 міс.; із полиць холодильної відкритої вітрини за температури 4 ± 2 °С на 2 добу та холодильних камер за температури -6...-8 °С на 20 добу, де реалізовувалося м'ясо забійних тварин; агропродовольчому ринку за температури реалізації 0...6 °С на 2 добу та за температури 0...-1 °С на 16 добу, де зберігалося м'ясо забійних тварин для реалізації. Змиви також відбирали з об'єктів холодильних камер: стін, підлоги, вішал м'ясопереробної потужності й оптової бази, а також із

рук працівників. У супермаркетах – зі столів, підлоги, стін, де проходила розрубка і пакування м'ясних туш яловичини, свинини, баранини і козлятини, із полиць холодильної відкритої вітрини та холодильних камер за температури  $-6...-8$  °С, де реалізувалося м'ясо забійних тварин, із рук та ножів працівників-фасувальників м'яса; на агропродовольчому ринку – зі столів, підлоги, ножів та рук продавців. Об'єм досліджуваної проби повітря ( $\text{м}^3$ ) у холодильних камерах м'ясопереробної потужності складав  $134,21 \times 10^2 \text{ м}^3$ ; оптової бази –  $114,50 \times 10^2 \text{ м}^3$ ; супермакеті –  $3,78 \times 10^2 \text{ м}^3$ , холодильній відкритій полиці супермаркету  $1,20 \times 10^3 \text{ м}^3$ ; холодильній камері агропродовольчого ринку  $2,5 \times 10^3 \text{ м}^3$ , холодильному приміщенні реалізації м'яса –  $8,24 \times 10^2 \text{ м}^3$ .

За проведення відбору повітря в холодильних камерах потужностей з виробництва та обігу м'яса забійних тварин використовували аспіраційний метод (метод Андерсена) за допомогою пробовідбірника повітря TRIO.BAS (Україна). Через прилад пропускали повітря впродовж 1,5–2 хв близько  $100 \text{ дм}^3$ . Струм повітря через отвори приладу зі швидкістю  $25 \text{ дм}^3/\text{хв}$  торкався поживного середовища на чашках Петрі, використовуючи п'ять стерильних чашок Петрі з агаром, для малих холодильних камер – три чашки Петрі. Для дослідження загальної кількості плісневих грибів, у тому числі й кладоспоріїв, використовували агар Сабура. Чашки Петрі з відібраними пробами закривали кришками і поміщали в термостат для культивування: для визначення загального мікробного обміненія – за температури  $30 \pm 1$  °С упродовж  $72 \pm 3$  годин; для визначення обміненія пліснявою за температури  $(24-25) \pm 1$  °С упродовж 5 діб. Перший підрахунок плісняви проводили через 3 доби і для остаточного визначення виду плісняви посіви в чашках проглядали на 5 добу. Підрахунок кількості колоній плісневих грибів, в тому числі кладоспоріїв (*Cladosporium herbarum*) в  $1 \text{ м}^3$  повітря, проводили за загальноприйнятим методом.

Відбір проб з об'єктів потужностей з виробництва та обігу (столів/прилавків, стін, підлоги, ножів, рук працівників) здійснювали стерильними ватно-марлевими тампонами, змоченими стерильним нейтралізуючим розчином. Ділянки  $10 \times 10 \text{ см}^2$  ретельно протирали тампоном та вміщували їх до пробірок. За наявності на об'єкті щільних забруднень їх знімали за допомогою стерильного скальпеля та переносили в цю ж пробірку. Для визначення бактеріальної забрудненості об'єктів використовували живильне середовище Сабура за інкубування посівів у термостаті за температури  $22...24$  °С упродовж 5...10 діб. Після цього підраховували колонії плісневих грибів у розрахунку на  $1 \text{ см}^2$  дослідної площі за загальноприйнятим методом відповідно до 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  $25$  °С”.

Визначали також на об'єктах потужностей з виробництва та обігу санітарно-показові мікроорганізми (вміст МАФАНМ, колі-титр, бактерій роду *Echerichia*,

*Staphylococcus aureus*) та патогенних (бактерій роду *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*) за загальноприйнятими методиками згідно з національними стандартами (ДСТУ ISO 4833:2006 “Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахунку мікроорганізмів. Техніка підрахунку колоній за температури  $+30$  °С”; ДСТУ ISO 21528-1:2014 “Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення і підрахування ентеробактерій (*Enterobacteriaceae*). Частина 1. Виявлення та підрахування за методикою НІС з попереднім збагаченням”; ДСТУ ISO 6888-1:2003 “Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахування коагулазопозитивних стафілококів (*Staphylococcus aureus* та інших видів). Частина 1. Метод з використанням агарового середовища Беард Паркера”; ДСТУ ISO 6579:2006 “Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Методика виявлення *Salmonella* spp.”; ДСТУ ISO 11290-1:2003 “Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Горизонтальний метод виявлення та підрахування *Listeria monocytogenes*. Частина 1. Метод виявлення”) та Методичних вказівок щодо санітарно-мікробіологічного контролю об'єктів виробництва та реалізації, які підлягають ветеринарному нагляду (Garkavenko et al., 2014).

Відбір змивів з поверхні м'яса забійних тварин, що зберігались у холодильних камерах потужностей з виробництва та обігу, проводили стерильним тампоном згідно з вимогами національного стандарту ДСТУ ISO 17604:2014 “Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Відбирання проб із туш тварин для мікробіологічного аналізу”.

Визначення вмісту МАФАНМ на поверхні м'яса забійних тварин проводили шляхом змивів з поверхні м'язової тканини і приготування розведень 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1:1000000 відповідно вимог чинного ДСТУ ISO 6887-1:1999 “Мікробіологія харчових продуктів і кормів для тварин. Готування досліджуваних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного дослідження. Частина 1. Загальні правила готування вихідної суспензії та десятикратних суспензій”. У подальшому по  $1 \text{ см}^3$  із кожного розведення переносили у стерильні чашки Петрі та заливали розплавленим і охолодженим до  $55$  °С м'ясо-пептонним агаром з подальшою інкубацією посівів у термостаті за температури  $37$  °С упродовж 48 год.

Вірогідність проведених досліджень підтверджується використанням сертифікованого обладнання, сучасних методів випробувань при застосуванні статистичної обробки даних результатів.

## Результати та їх обговорення

З метою виявлення негативного впливу на безпечність м'яса забійних тварин за його зберігання та обігу нами були проведені дослідження для вивчення бактеріального забруднення холодильних камер за вмістом МАФАНМ плісневими грибами, у т. ч. кладоспоріями. Нашими дослідженнями були встановле-

ні показники санітарно-мікробіологічного контролю повітря холодильних камер на потужностях з виробництва та обігу м'яса забійних тварин за різних температур (від  $4 \pm 2$  °C до  $-12$  °C), відносної вологості повітря (80, 88, 90 та 95 %), що була в межах норми та

різного терміну зберігання м'яса забійних тварин (2 доби; 16, 20 діб, 3, 6 та 8 місяців).

У таблиці 1 наведені результати санітарно-мікробіологічного контролю забруднення повітря холодильних камер на потужностях з виробництва та обігу м'яса забійних тварин.

**Таблиця 1**

Показники санітарно-мікробіологічного контролю повітря в холодильних камерах на потужностях з виробництва та обігу м'яса забійних тварин, КУО/м<sup>3</sup>,  $M \pm m$ ,  $n = 58$

Кількість досліджуваних проб повітря	Кількість чашок Петрі із середовищем Сабуро	Санітарно-мікробіологічні показники під час завантаження і зберігання м'яса забійних тварин		
		Вміст МАФАНМ, КУО/м <sup>3</sup>	середня кількість плісневих грибів КУО/м <sup>3</sup>	у тому числі <i>Cladosporium herbarum</i>
12	60	$(0,39 \pm 0,04) \times 10^2$	$5 \pm 2$	–
		Холодильна камера на потужності з виробництва м'яса забійних тварин за температури $-2 \dots -3$ °C та відносної вологості 90 %		
10	50	$(0,52 \pm 0,05) \times 10^{2*}$	$8 \pm 2$	1
		Холодильна камера на оптовій базі при зберіганні м'яса забійних тварин за температури $-12$ °C та відносної вологості 95 %		
12	60	$(0,41 \pm 0,04) \times 10^2$	$7 \pm 2$	–
		Холодильна камера на оптовій базі при зберіганні м'яса забійних тварин за температури $-2 \dots -3$ °C та відносної вологості 90 %		
10	50	$(1,19 \pm 0,09) \times 10^{2***}$	$8 \pm 1$	1
		Холодильна камера у супермаркеті при реалізації м'яса забійних тварин за температури $-6 \dots -8$ °C та відносної вологості 85 %		
8	24	$(0,61 \pm 0,06) \times 10^2$	$32,00 \pm 0,74***$	$2 \pm 1$
		Холодильна відкрита вітрина у супермаркеті при реалізації м'яса забійних тварин за температури $4 \pm 2$ °C та відносної вологості 82 %		
8	24	$(1,72 \pm 0,08) \times 10^{2***}$	$65,00 \pm 1,04$	$2 \pm 1$
		Приміщення з реалізації м'яса забійних тварин на агропродовольчих ринках за температури $0 \dots 6$ °C та відносної вологості 88 %		
7	21	$(2,19 \pm 0,11) \times 10^2$	$103,00 \pm 2,24$	$5 \pm 1$
		Камера охолодження при реалізації м'яса забійних тварин на агропродовольчих ринках за температури $0 \dots -1$ °C та відносної вологості 85 %		
7	21	$(1,89 \pm 0,09) \times 10^{2*}$	$85,00 \pm 1,13***$	$2 \pm 1^*$

Примітка: \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\*\* –  $P \leq 0,001$

Найбільший вміст МАФАНМ у повітрі був у холодильній камері супермаркету за температури  $4 \pm 2$  °C –  $(1,72 \pm 0,08) \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup> на 2 добу та у камері охолодження при реалізації м'яса забійних тварин на агропродовольчому ринку за температури  $0 \dots -1$  °C на 16 добу –  $(1,89 \pm 0,09) \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup>. А перевищення нормативів вмісту МАФАНМ в повітрі (понад 200 КУО/м<sup>3</sup>) було встановлено в приміщенні реалізації м'яса забійних тварин на агропродовольчому ринку –  $2,19 \times 10^2$  КУО/м<sup>3</sup> за температури  $0 \dots 6$  °C. Високої вірогідності були встановлені показники вмісту МАФАНМ у повітрі холодильної камери (полиці) за температури  $4 \pm 2$  °C на 2 добу в супермаркеті у 2,82 разу більше ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з показниками у холодильній камері за температури  $-6 \dots -8$  °C на 20 добу; у повітрі холодильної камери оптової бази при зберіганні м'яса забійних тварин за температури  $-2 \dots -3$  °C на 20 добу в 2,90 разу ( $P \leq 0,001$ ) більше порівняно з показниками у холодильних камерах за температури від  $-12$  °C.

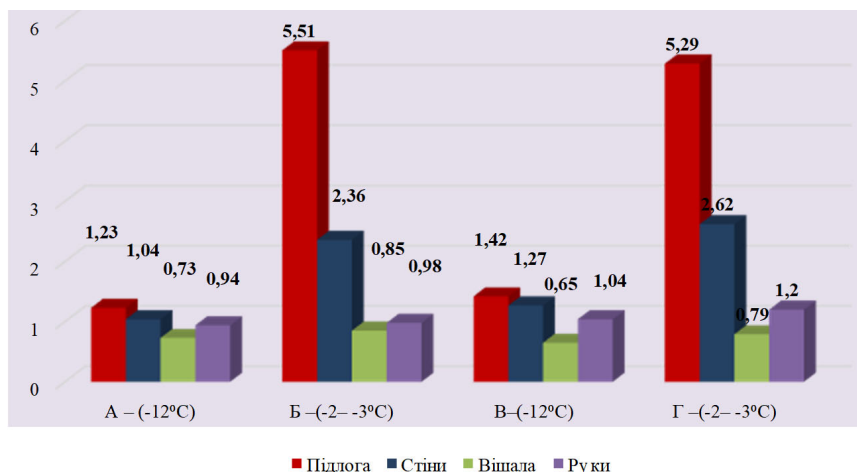
Аналізуючи таблицю 1, можна зробити висновок, що завдяки використанню температури  $-12$  °C у холодильній камері потужності з виробництва м'яса забій-

них тварин та оптовій базі досягнуто поліпшення санітарного стану холодильних камер за умови збереження показників якості м'яса забійних тварин. А за використання температури  $0 \dots -1$  °C,  $-6 \dots -8$  °C холодильних камер у супермаркеті, а також за температури  $0 \dots -1$  °C холодильної камери агропродовольчого ринку спостерігався задовільний санітарний стан. За використання температури  $0 \dots 6$  °C у холодильній камері агропродовольчого ринку – незадовільний санітарний стан, оскільки вміст плісневих грибів перевищував нормативи і складав –  $103,00 \pm 2,24$  КУО/м<sup>3</sup>, в тому числі  $5 \pm 1$  *Cladosporium herbarum*.

Інспекторам ветеринарної медицини необхідно здійснювати контроль технологічного процесу охолодження м'яса забійних тварин на наявність у повітрі мікроскопічних плісневих грибів, особливо кладоспоріїв. Інспекційні перевірки необхідно здійснювати на підставі оцінки ризиків, вони мають запобігти перехресному забрудненню в забійному цеху і холодильних камерах, а також якість інспекції м'яса необхідно поліпшувати шляхом запровадження суворих гігієнічних вимог на рівні ферми (Buchanan et al., 1998). Кладоспорії здатні проявляти свої токсикогенні

властивості якраз за низьких температурних режимів охолодженого м'яса, що може призвести до отруєння споживачів під час його споживання, реалізації або подальшого зберігання, тому що таке м'ясо контаміноване кладоспоріями через повітря за тимчасового зберігання у камері для охолодження (Dwinger et al., 2008).

На рис. 1 – санітарно-мікробіологічні показники змивів з об'єктів холодильних камер та рук працівників потужностей з виробництва та зберігання м'яса забійних тварин за різної температури та відносної вологості.



**Рис. 1.** Санітарно-мікробіологічні показники змивів з об'єктів холодильних камер та рук працівників потужностей з виробництва та зберігання м'яса забійних тварин за вмістом МАФАНМ  $\times 10^1$

(А – холодильна камера потужності з виробництва м'яса забійних тварин за температури -12 °С; Б – холодильна камера потужності з виробництва м'яса забійних тварин за температури -2...-3 °С; В – холодильна камера оптової бази за температури -12 °С; Г – холодильна камера оптової бази за температури -2...-3 °С)

Необхідно зазначити, що за температури -2...-3 °С у холодильній камері потужності з виробництва м'яса забійних тварин найвищий вміст МАФАНМ високої ступені вірогідності виявляли у змивах із підлоги – у 4,48 разу більше ( $P \leq 0,001$ ), стін – у 2,27 разу ( $P \leq 0,001$ ) та вішал – у 1,16 разу більше ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з показниками у холодильній камері за температури -12 °С. Не встановлено було вірогідної різниці вмісту МАФАНМ у змивах із рук працівників. Також за температури -2...-3 °С у холодильній камері оптової бази при зберіганні м'яса забійних тварин найвищий вміст МАФАНМ високого ступеня вірогідності виявляли у змивах із підлоги – у 3,73 разу ( $P \leq 0,001$ ) більше, стін – у 2,06 разу ( $P \leq 0,001$ ) та вішал – у 1,22 разу більше ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з показниками із змивів об'єктів у холодильній камері за температури -12 °С. Не встановлено було вірогідної різниці вмісту МАФАНМ у змивах із рук працівників, але спостерігалась тенденція до збільшення у 1,04 та 1,15 разу порівняно з показниками вмісту МАФАНМ зі змивів рук працівників холодильної камери за температури -12 °С.

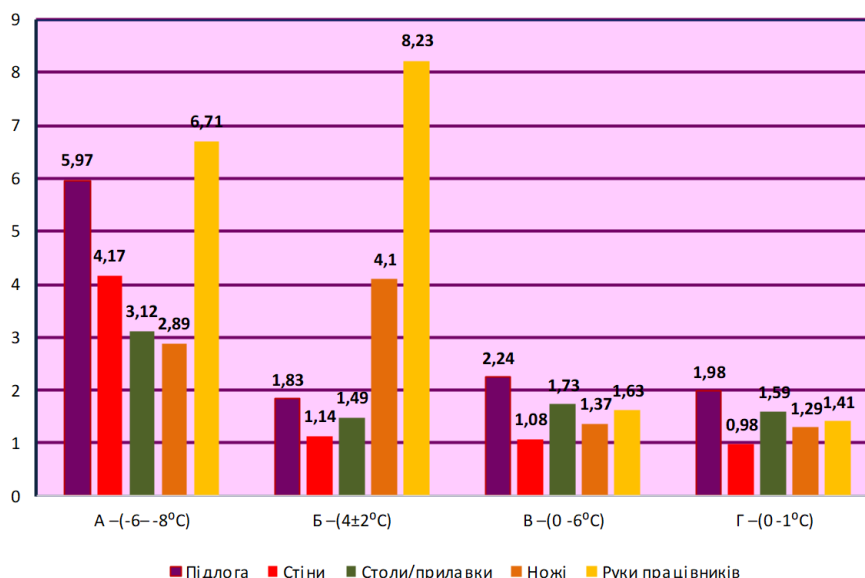
За температури -12 °С у холодильній камері з об'єктів і рук працівників на потужностях з виробництва та зберігання м'яса забійних величина колі-титру в змивній рідині становила більше ніж 1 (добрий санітарний стан), а за температури -2...-3 °С дорівнювала 1 (задовільний санітарний стан).

На рис. 2 – санітарно-мікробіологічні показники змивів з об'єктів холодильних камер, ножів та рук працівників ( $n = 24$ ) потужностей з реалізації м'яса забійних тварин за різної температури та відносної вологості.

За використання температури  $4 \pm 2$  °С у холодильній камері супермаркету найбільший вміст МАФАНМ високого ступеня вірогідності встановили зі змивів об'єктів, а саме: зі змивів із підлоги –  $(1,83 \pm 0,06) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup>, що у 3,07 разу більше ( $P \leq 0,001$ ), стін –  $(1,14 \pm 0,07) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup> у 2,73 разу ( $P \leq 0,001$ ), столів –  $(1,49 \pm 0,05) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup>, що у 4,78 разу ( $P \leq 0,001$ ), ножів –  $(4,10 \pm 0,12) \times 10^1$  КУО/см<sup>2</sup>, що у 1,42 разу ( $P \leq 0,001$ ) та із рук працівників –  $(8,23 \pm 0,11) \times 10^1$  КУО/см<sup>2</sup>, що у 1,23 разу більше порівняно з показниками вмісту МАФАНМ із об'єктів холодильної камери за температури -6...-8 °С.

За температури 0...6 °С у холодильній камері агропродовольчого ринку також нашими дослідженнями була встановлена тенденція до підвищення вмісту МАФАНМ із змивів об'єктів, проте різниця була не вірогідною, а саме: із змивів з підлоги –  $(2,24 \pm 0,14) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup>, що у 1,13 рази більше ( $P \leq 0,001$ ), стін –  $(1,08 \pm 0,07) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup> у 1,10 разу ( $P \leq 0,001$ ), столів –  $(1,73 \pm 0,10) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup>, що у 1,09 разу ( $P \leq 0,001$ ), ножів –  $(1,37 \pm 0,10) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup>, що у 1,06 рази ( $P \leq 0,001$ ) та із рук працівників –  $(1,63 \pm 0,13) \times 10^2$  КУО/см<sup>2</sup>, що в 1,16 разу більше порівняно з показниками вмісту МАФАНМ із об'єктів холодильної камери за температури 0...-1 °С.

За температури -6...-8 °С у холодильній камері з об'єктів ножів і рук працівників у супермаркетах за реалізації м'яса забійних тварин величина колі-титру в змивній рідині становила 1 (задовільний санітарний стан), а за температури  $4 \pm 2$  °С – менше ніж 1 (незадовільний санітарний стан).



**Рис. 2.** Санітарно-мікробіологічні показники змивів з об'єктів холодильних камер, ножів та рук працівників потужностей з реалізації м'яса забійних тварин за вмістом МАФАНМ

(А – холодильна камера супермаркету за температури -6...-8 °С (вміст МАФАНМ × 10<sup>1</sup>); Б – холодильна камера (полиця) супермаркету за температури 4 ± 2 °С (вміст МАФАНМ × 10<sup>2</sup>) – для підлоги, стін, прилавків; вміст МАФАНМ × 10<sup>1</sup> – для ножів, рук працівників); В – холодильна камера (приміщення) на агропродовольчому ринку за температури 0...6 °С (вміст МАФАНМ × 10<sup>2</sup>); Г – камера охолодження на агропродовольчому ринку за температури 0...-1 °С (вміст МАФАНМ × 10<sup>2</sup>)

**Таблиця 2**

Частота виділених тест-культур зі змивів об'єктів на потужностях з виробництва та обігу м'яса забійних тварин, n = 24

Тест-культури бактерій роду	Частота виділених тест-культур, кількість проб/ %				
	підлога	стіни	вішала/столи/прилавки	ножі	руки працівників
Холодильна камера на потужності з виробництва м'яса забійних тварин за температури -12 °С та відносної вологості 95 %					
<i>Echerichia</i>	3/12,5	1/4,2	1/4,2	–	2/8,3
<i>Salmonella</i>	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–
Холодильна камера на потужності з виробництва м'яса забійних тварин за температури -2...-3 °С та відносної вологості 90 %					
<i>Echerichia</i>	4/16,7	2/8,3	1/4,2	–	2/8,3
<i>Salmonella</i>	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	2/8,3	3/12,5	–	–	–
Холодильна камера на оптовій базі при зберіганні м'яса забійних тварин за температури -12 °С та відносної вологості 95 %					
<i>Echerichia</i>	2/8,3	3/12,5	2/8,3	–	3/12,5
<i>Salmonella</i>	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	1/4,2	1/4,2	–	–	–
Холодильна камера на оптовій базі при зберіганні м'яса забійних тварин за температури -2...-3 °С та відносної вологості 90 %					
<i>Echerichia</i>	5/20,8	2/8,3	–	–	4/16,7
<i>Salmonella</i>	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	2/8,3	1/4,2	–	–	–
Холодильна камера у супермаркеті при реалізації м'яса забійних тварин за температури -6...-8 °С та відносної вологості 85 %					
<i>Echerichia</i>	4/16,7	2/8,3	3/12,5	2/8,3	3/12,5
<i>Salmonella</i>	3/12,5	–	–	–	2/8,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	2/8,3	–	–	–	1/4,2
Холодильна камера (полиця) у супермаркеті при реалізації м'яса забійних тварин за температури 4 ± 2 °С та відносної вологості 82 %					
<i>Echerichia</i>	12/50,0	5/20,8	9/37,5	3/12,5	6/25,0
<i>Salmonella</i>	3/12,5	2/8,3	4/16,7	–	3/12,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	5/20,8	1/4,2	–	–	2/8,3
Приміщення з реалізації м'яса забійних тварин на агропродовольчому ринку за температури 0...6 °С та відносної вологості 88 %					
<i>Echerichia</i>	8/33,3	5/20,8	10/41,7	4/16,7	3/12,5
<i>Salmonella</i>	3/12,5	2/8,3	2/8,3	2/8,3	4/16,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	4/16,7	3/12,5	8/33,3	3/12,5	3/12,5
Камера охолодження при реалізації м'яса забійних тварин на агропродовольчому ринку за температури 0...-1 °С та відносної вологості 85 %					
<i>Echerichia</i>	5/20,8	6/25,0	11/45,8	2/8,3	12/50,0
<i>Salmonella</i>	2/8,3	2/8,3	3/12,5	1/4,2	3/12,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/12,5	2/8,3	7/29,7	1/4,2	5/20,8

Також за температури 0...6 °С та 0...-1 °С у холодильних камерах із об'єктів ножів і рук працівників на агропродовольчому ринку величина коли-титру в змивній рідині становила менше ніж 1 (задовільний санітарний стан).

Було встановлено частоту виділених тест-культур зі змивів об'єктів потужностей з виробництва та обігу м'яса забійних тварин, ножів та рук працівників за кількістю проб і перерахунку у відсоток від загальної кількості досліджуваних проб.

Отримані результати (табл. 2) свідчать, що за температури 0...6 °С та 0...-1 °С у холодильних камерах на об'єктах, ножах та руках працівників на агропродовольчому ринку було встановлено високу частоту виділених тест-культур бактерій роду *Echerichia*, *Salmonella* та *Staphylococcus aureus*. Так, за температури 0...6 °С у холодильній камері зі змивів об'єктів, ножів і рук працівників були виділені бактерії групи *Echerichia* до 41,7 %, бактерій роду *Salmonella* до 16,7 %, бактерій роду *Staphylococcus aureus* до 33,3 %, а за температури 0...-1 °С у холодильній камері зі змивів об'єктів, а також ножів і рук працівників – бактерії групи *Echerichia* до 50,0 %, бактерій роду *Salmonella* до 12,5 %, бактерій роду *Staphylococcus aureus* до 29,7 %.

За температури від -6...-8 °С у холодильній камері супермаркету зі змивів об'єктів, ножів і рук працівників були виділені бактерії роду *Echerichia* до 16,7 %, бактерії роду *Salmonella* до 12,5 %, бактерії роду *Staphylococcus aureus* до 8,3 %, а за температури 4 ± 2 °С у холодильній камері зі змивів об'єктів, а також ножів і рук працівників – бактерії роду *Echerichia* до 50,0 %, бактерій роду *Salmonella* до 16,7 %, бактерії роду *Staphylococcus aureus* до 20,8 %.

За температури від -12 °С у холодильній камері на оптовій базі зі змивів об'єктів та рук працівників були виділені бактерії роду *Echerichia* до 12,5 %, бактерії роду *Staphylococcus aureus* до 4,2 %, а за температури -2...-3 °С у холодильній камері зі змивів об'єктів та рук працівників – бактерії роду *Echerichia* до 20,8 %, бактерії роду *Staphylococcus aureus* до 8,3 % (із підлоги і стін). Бактерій роду *Salmonella* не було виявлено.

За температури від -12 °С у холодильній камері на потужності з виробництва м'яса забійних тварин із змивів об'єктів та рук працівників були виділені бактерії роду *Echerichia* до 12,5 %, бактерій роду *Salmonella* та *Staphylococcus aureus* не було виявлено; за температури -2...-3 °С у холодильній камері зі змивів об'єктів та рук працівників – бактерії роду *Echerichia* до 16,7 %, бактерії роду *Staphylococcus aureus* до 12,5 % (із підлоги і стін). Бактерій роду *Salmonella* не було виявлено.

Бактерії роду *Listeria monocytogenes* зі змивів об'єктів у холодильних камер потужностей з виробництва та обігу м'яса забійних тварин, ножах і руках працівників не було виявлено.

За підтвердження даними показниками виділених тест-культур ненаалежного санітарно-гігієнічного стану холодильних камер та інших об'єктів агропродовольчого ринку, супермаркету необхідно здійснювати ретельне прибирання, а також вимушений і по-

вторний контроль якості дезінфекції інспекторами ветеринарної медицини. Тому що це може призвести до обмінення м'яса забійними бактеріями родів *Echerichia*, *Salmonella* та *Staphylococcus aureus*, яке зберігається в холодильних камерах. Автор (Ichakova, 2011) стверджує, що значна частота виділених тест-культур на м'ясопереробній потужності припадала на ешеріхії (30 % на тару, 25 % на підлогу, 16,75 % на інструменти, 15 % на нижню частину стіни), стафілококи (70 % на тарі, 66,7 % на підлозі, 50 % на інструментах).

Було встановлено бактеріальне забруднення м'яса забійних тварин в його кінцевий нормативний термін зберігання на потужностях з виробництва та обігу під час зберігання та реалізації в холодильних камерах за різних температур та відносної вологості повітря. Результати наведені у таблиці 3.

За температури -2...-3 °С у холодильній камері за відносної вологості 90 % на потужності з виробництва м'яса на 20 добу зберігання вміст МАФАНМ на поверхні м'яса забійних тварин був вірогідно вищим: у свинині – у 1,29 разу більше ( $P \leq 0,001$ ), у баранині – у 1,36 разу ( $P \leq 0,001$ ), у козлятині – у 1,46 разу більше ( $P \leq 0,001$ ), а в яловичині спостерігалася низька вірогідність – у 1,21 разу більше ( $P \leq 0,05$ ) порівняно з показниками у м'ясі забійних тварин, що зберігалася в холодильній камері за температури -12 °С та відносної вологості 95 % (яловичини – на 8 міс., свинини – на 3 міс., баранини і козлятини – на 6 міс.).

За температури -2...-3 °С у холодильній камері за відносної вологості 90 % на оптовій базі на 20 добу зберігання м'яса забійних тварин вміст МАФАНМ також був дещо вищим порівняно з показниками у м'ясі при зберіганні в холодильній камері за температури -12 °С та відносної вологості 95 %: у яловичині на 8 місяць – у 1,05 разу більше, у свинині на 3 місяць – у 1,26 разу ( $P \leq 0,05$ ), у баранині на 6 місяць – у 1,32 разу ( $P \leq 0,01$ ), у козлятині на 6 місяць – у 1,29 разу більше.

За температури 4 ± 2 °С у холодильній камері за відносної вологості 82 % у супермаркеті на 2 добу реалізації вміст МАФАНМ на поверхні м'яса забійних тварин був значно підвищеним: у яловичині – у 1,39 разу більше, у свинині – у 1,78 разу ( $P \leq 0,01$ ), у баранині – у 1,68 разу ( $P \leq 0,05$ ) та у козлятині – у 1,20 разу більше порівняно з показниками у м'ясі при реалізації в супермаркеті з холодильної камери за температури -6...-8 °С та відносної вологості 85 % на 20 добу.

За температури 0...-6 °С у холодильній камері / приміщенні за відносної вологості 88 % на агропродовольчому ринку на 2 добу реалізації м'яса забійних тварин вміст МАФАНМ був вищим і різниця була вірогідною: у яловичині – у 1,85 разу більше ( $P \leq 0,001$ ), у свинині – у 1,98 разу ( $P \leq 0,001$ ), у баранині – у 1,82 разу ( $P \leq 0,01$ ) та у козлятині – у 1,82 разу більше ( $P \leq 0,001$ ) порівняно з показниками у м'ясі за реалізації на агропродовольчому ринку із холодильної камери за температури 0...-1 °С та відносної вологості 85 % на 16 добу.

**Таблиця 3**

Вміст МАФАНМ на поверхні м'яса забійних тварин, що зберігалися у холодильних камерах потужностей різних типів, КУО/см<sup>2</sup>, М ± m, n = 9

Вид м'яса забійних тварин	Вміст МАФАНМ, КУО/г за зберігання м'яса забійних тварин на різних типах потужностях	
	Холодильні камери на потужностях з виробництва м'яса забійних тварин	
Температура і відносна вологість	за температури -12 °С та відносної вологості 95 %	температури -2...-3 °С та відносної вологості 90 % на 20 добу
Яловичина <sup>1</sup>	$(2,56 \pm 0,18) \times 10^2$	$(3,11 \pm 0,20) \times 10^{2*}$
Свинина <sup>2</sup>	$(2,69 \pm 0,14) \times 10^2$	$(3,48 \pm 0,12) \times 10^{2***}$
Баранина <sup>3</sup>	$(1,85 \pm 0,17) \times 10^2$	$(2,51 \pm 0,19) \times 10^{2**}$
Козлятина <sup>3</sup>	$(1,77 \pm 0,16) \times 10^2$	$(2,63 \pm 0,17) \times 10^{2***}$
	Холодильні камери на оптових базах за зберігання м'яса забійних тварин	
Температура і відносна вологість	за температури -12 °С та відносної вологості 95 %	температури -2...-3 °С та відносної вологості 90 %
Яловичина <sup>1</sup>	$(2,73 \pm 0,23) \times 10^2$	$(2,86 \pm 0,13) \times 10^2$
Свинина <sup>2</sup>	$(2,44 \pm 0,21) \times 10^2$	$(3,07 \pm 0,17) \times 10^{2**}$
Баранина <sup>3</sup>	$(2,51 \pm 0,18) \times 10^2$	$(3,31 \pm 0,19) \times 10^{2**}$
Козлятина <sup>3</sup>	$(2,13 \pm 0,12) \times 10^2$	$(2,75 \pm 0,16) \times 10^2$
	Холодильні камери у супермаркетах за реалізації м'яса забійних тварин	
Температура і відносна вологість	за температури -6...-8 °С та відносної вологості 85 % на 20 добу	за температури 4 ± 2 °С та відносної вологості 82 % на 2 добу
Яловичина	$(0,83 \pm 0,14) \times 10^3$	$(1,15 \pm 0,22) \times 10^3$
Свинина	$(0,74 \pm 0,11) \times 10^3$	$(1,32 \pm 0,18) \times 10^{3**}$
Баранина	$(0,65 \pm 0,09) \times 10^3$	$(1,09 \pm 0,20) \times 10^{3*}$
Козлятина	$(0,98 \pm 0,15) \times 10^3$	$(1,18 \pm 0,12) \times 10^3$
	Холодильні камери/приміщення на агропродовольчих ринках за реалізації м'яса забійних тварин	
Температура і відносна вологість	за температури 0...-1 °С та відносної вологості 85 % на 16 добу	за температури 0...6 °С та відносної вологості 88 % на 2 добу
Яловичина	$(1,22 \pm 0,23) \times 10^3$	$(2,26 \pm 0,21) \times 10^{3***}$
Свинина	$(1,42 \pm 0,18) \times 10^3$	$(2,81 \pm 0,19) \times 10^{3***}$
Баранина	$(1,19 \pm 0,20) \times 10^3$	$(2,18 \pm 0,22) \times 10^{3**}$
Козлятина	$(1,08 \pm 0,18) \times 10^3$	$(1,97 \pm 0,17) \times 10^{3***}$

*Примітка:* Зберігання м'яса за температури -12 °С: <sup>1</sup> – яловичини на 8 місяць; <sup>2</sup> – свинини на 3 місяць; <sup>3</sup> – баранини, козлятини на 6 місяць; \* – P ≤ 0,05; \*\* – P ≤ 0,01; \*\*\* – P ≤ 0,001

Автори стверджують, що санітарно-гігієнічний стан повітря в холодильних камерах на потужностях з виробництва і переробки м'яса за зберігання має безпосередній вплив на терміни зберігання м'яса забійних тварин, його безпечність при подальшій реалізації, а також виготовлення з нього харчових продуктів (Márcia de Barros et al., 2007). Автором (Salata, 2018) було встановлено, що при зберіганні яловичини за температури -12 °С інтенсивність загибелі психротрофної мікрофлори нижча порівняно з температурою зберігання -20...-25 °С, а також відмічено, що з яловичини зі значним мікробним обсіанням виділяли БГКП і плісєневі гриби.

Варто зазначити, що безпечність та якість м'яса забійних тварин значною мірою залежить від умов зберігання, тобто санітарно-гігієнічного стану холодильних камер і об'єктів потужностей з їх виробництва та обігу (зберігання і реалізації). Одним із етіологічних факторів мікробного псування харчових продуктів при холодильному зберіганні є плісєневі гриби, особливо за температури в холодильниках від 5 °С до -9 °С. Ріст плісєяви призупиняється або сповільнюється за температури від -4 до -9 °С, але окремі види

плісєневих грибів, наприклад кладоспоріум та тамнідіум, можуть розвиватися за цих температур, при цьому викликаючи зниження якості та псування харчової продукції (Godwin et al., 2007).

Проте необхідно зазначити, що санітарно-мікробіологічна якість дезінфекції холодильних камер потужностей виробництва та обігу вважається задовільною за умов: якщо проби змивів та відбитків з об'єктів площею не менше 20 м<sup>2</sup> (столів, стін, полицок, інструментів тощо) за санітарно-показовими показниками (МАФАНМ, колі-титр) мають позитивні результати не більше ніж 10 % від усіх досліджених проб за умови відсутності умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів в усіх дослідних пробах; при вимушеному та повторному контролі якості дезінфекції – повне стовідсоткове дотримання максимально допустимих рівнів мікроорганізмів.

Керуючись Регламентом ЄС № 2073/2005 (Regulation (EC) №2073/2004), було встановлено гігієнічні критерії технологічного процесу на стадії туш після обробки перед закладанням на заморожування на потужностях з виробництва м'яса забійних тварин у холодильні камери (табл. 4).



**Таблиця 4**

Гігієнічні критерії технологічного процесу для м'яса забійних тварин перед закладкою на холодильне зберігання/реалізацію КУО/см<sup>2</sup>, М ± m, n = 9

М'ясо забійних тварин	Кількість колоній аеробних мікроорганізмів		<i>Enterobacteriaceae</i>		<i>Salmonella</i>	
	Денний середній логарифм, КУО/см <sup>2</sup>					
	m	M	m	M	m	M
Холодильні камери на потужностях з виробництва м'яса забійних тварин за температури -12 °С та за температури -2...-3 °С						
Яловичина	2,6	4,6	1,1	1,9	-	-
Свинина	3,1	2,5	1,6	2,9	-	-
Баранина	2,4	4,1	1,2	2,0	-	-
Козлятина	2,5	3,9	1,3	1,8	-	-
Холодильні камери на оптових базах з виробництва м'яса забійних тварин за температури -12 °С та за температури -2...-3 °С						
Яловичина	2,7	4,2	1,2	2,0	-	-
Свинина	2,8	4,4	1,7	2,7	-	-
Баранина	3,2	3,4	1,1	1,3	-	-
Козлятина	3,1	4,2	1,4	1,4	-	-
Холодильні камери у супермаркетах при реалізації м'яса забійних тварин за температури -6...-8 °С та за температури 4 ± 2 °С						
Яловичина	2,8/3,7	4,1/5,2	1,0/1,6	2,5/2,7	-	-
Свинина	3,1/3,9	2,5/5,4	1,6/1,9	2,6/3,4	-	-
Баранина	2,4/3,6	4,1/5,5	1,2/1,7	2,7/2,8	-	-
Козлятина	2,5/3,7	3,9/5,1	1,3/2,0	2,7/2,5	-	-
Холодильні камери/приміщення на агропродовольчих ринках при реалізації м'яса забійних тварин за температури 0...-1 °С/ за температури 0...6 °С						
Яловичина	3,2/4,4	5,0/5,4	1,1/1,5	2,8/3,5	-	-
Свинина	4,0/4,1	4,9/5,1	1,6/2,3	2,5/3,7	-	-
Баранина	2,4/3,7	4,7/5,3	1,2/1,7	2,5/3,3	-	-
Козлятина	2,5/3,8	4,9/5,2	1,3/1,8	2,6/3,6	-	-

Варто зазначити, що денний логарифм по кількості колоній аеробних мікроорганізмів та *Enterobacteriaceae* у тушах яловичини, свинини баранини, козлятини при реалізації у супермаркетах за температури 4 ± 2 °С та на агропродовольчих ринках за температури 0...6 °С перевищував встановлені в Регламенті ЄС № 2073 нормативи, а саме відповідно: за кількістю колоній аеробних мікроорганізмів у м'ясі забійних тварин від m = 3,6 log КУО/см<sup>2</sup> до m = 3,9 log КУО/см<sup>2</sup> та від M = 5,1 КУО/см<sup>2</sup> до M = 5,5 КУО/см<sup>2</sup> (у супермаркетах) та від m = 3,7 log КУО/см<sup>2</sup> до m = 4,4 log КУО/см<sup>2</sup> та від M = 5,1 КУО/см<sup>2</sup> до M = 5,4 КУО/см<sup>2</sup> (на агропродовольчих ринках); *Enterobacteriaceae* у м'ясі забійних тварин від m = 1,6 log КУО/см<sup>2</sup> до m = 2,0 log КУО/см<sup>2</sup> та від M = 2,5 КУО/см<sup>2</sup> до M = 3,4 КУО/см<sup>2</sup> (у супермаркетах) та від m = 1,5 log КУО/см<sup>2</sup> до m = 2,3 log КУО/см<sup>2</sup> та від M = 3,3 КУО/см<sup>2</sup> до M = 3,7 КУО/см<sup>2</sup> (на агропродовольчих ринках). Гігієнічні критерії технологічного процесу за *Salmonella* у всіх видів м'яса були відсутні в місцях відбору проби для кожної туші.

*Перспективи подальших досліджень* в даному напрямі полягають у розробці комплексної системи ризик-орієнтованого контролю санітарно-гігієнічного стану холодильних камер потужностей з виробництва та обігу м'яса забійних тварин.

### Висновки

За температури -12 °С та -2...-3 °С із об'єктів холодильних камер на потужності з виробництва м'яса забійних тварин та оптовій базі були виділені тест-

культури відповідно: *Echerichia* до 12,5 % та до 16,7 %, а бактерії роду *Staphylococcus aureus* до 12,5 % (із підлоги і стін) були тільки виділені за температури -2...-3 °С. За температури 0...6 °С та 0...-1 °С у холодильних камерах із об'єктів на агропродовольчому ринку, ножів та рук працівників найбільша частота виділених культур була встановлена відповідно: бактерій роду *Echerichia* – до 41,7 % та до 50,0 %; *Salmonella* – до 16,7 % та до 12,5 %; *Staphylococcus aureus* – до 33,3 % та до 29,7 %; за температури -6...-8 °С та 4 ± 2 °С у холодильних камерах супермаркету відповідно: бактерій роду *Echerichia* – до 16,7 % та до 50,0 %; *Salmonella* – до 12,5 % та до 16,7 %; *Staphylococcus aureus* – до 8,3 % та до 20,8 %;

За температури 4 ± 2 °С у холодильній камері супермаркету та за температури 0...6 °С у холодильній камері на агропродовольчому ринку на 2 добу реалізації виявляли прямо пропорційне збільшення обсягів поверхні м'яса забійних тварин МАФАНМ відповідно: в яловичині – (1,15 ± 0,22) × 10<sup>3</sup> та (2,26 ± 0,21) × 10<sup>3</sup> КУО/см<sup>2</sup>; свинині – (1,32 ± 0,18) × 10<sup>3</sup> та (2,81 ± 0,19) × 10<sup>3</sup> КУО/см<sup>2</sup>; баранині – (1,09 ± 0,20) × 10<sup>3</sup> та (2,18 ± 0,22) × 10<sup>3</sup> КУО/см<sup>2</sup>; козлятині – (1,18 ± 0,12) × 10<sup>3</sup> та (1,97 ± 0,17) × 10<sup>3</sup> КУО/см<sup>2</sup>.

За зберігання та реалізації яловичини, свинини, баранини і козлятини на потужностях з їх виробництва та обігу за показниками виділених тест-культур бактерій роду *Echerichia*, *Salmonella* й *Staphylococcus aureus* необхідно здійснювати ризик-орієнтований контроль за санітарно-гігієнічним станом об'єктів холодильних камер, ножів, рук працівників, щоб за-

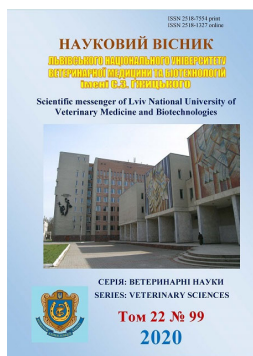
побігати мікробному обміненню м'яса, а також проводити вимушений і повторний контроль якості дезінфекції інспекторами ветеринарної медицини для забезпечення доброго санітарного стану підконтрольних об'єктів.

Гігієнічні критерії технологічного процесу в м'ясі забійних тварин становили за кількістю колоній аеробних мікроорганізмів у м'ясі забійних тварин від  $m = 3,6 \log \text{ КУО/см}^2$  до  $m = 3,9 \log \text{ КУО/см}^2$  та від  $M = 5,1 \text{ КУО/см}^2$  до  $M = 5,5 \text{ КУО/см}^2$  (у супермаркетах) та від  $m = 3,7 \log \text{ КУО/см}^2$  до  $m = 4,4 \log \text{ КУО/см}^2$  та від  $M = 5,1 \text{ КУО/см}^2$  до  $M = 5,4 \text{ КУО/см}^2$  (на агропродовольчих ринках); *Enterobacteriaceae* у м'ясі забійних тварин від  $m = 1,6 \log \text{ КУО/см}^2$  до  $m = 2,0 \log \text{ КУО/см}^2$  та від  $M = 2,5 \text{ КУО/см}^2$  до  $M = 3,4 \text{ КУО/см}^2$  (у супермаркетах) та від  $m = 1,5 \log \text{ КУО/см}^2$  до  $m = 2,3 \log \text{ КУО/см}^2$  та від  $M = 3,3 \text{ КУО/см}^2$  до  $M = 3,7 \text{ КУО/см}^2$  (на агропродовольчих ринках).

### References

- Bogatko, N. M., & Sakhniuk, N. I. (2013). The influence of microbial pollution indexes of the air surroundings and walls' sanitary condition of cooling and refrigerate cameras of meat enterprises on safety of slaughter houses' raw materials. *Bakteriologichnyi kontrol ob'ektiv m'iasopererobnoho pidpriemstva. Naukovyi visnyk LNU veterinarnoi medytsyny ta biotekhnologii imeni S. Z. Hzhyskoho*, 1, 106–109 (in Ukrainian).
- Buchanan, R., Coli, M., Lammerding, A. M., & Clarke, I. R. (1998). Potential Application of Risk Assessment Techniques to Microbiological Issues Related to International Trade in Food and Food Products. *Journal of food protection*, 61(8), 1075–1086. doi: 10.4315/0362-028x-61.8.1075.
- Dwinger, R. H., Golden, T. E., & Hatakka, M. (2008). Meat Safety and Regulatory Aspects in the European Union. *Meat Biotechnology*, 2008, 453–465. doi: 10.1007/978-0-387-79382-5\_20.
- Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P., & Villani, F. (2009). Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential in vitro and in beef. *Applied and environmental microbiology*, 75, 1990–2001. doi: 10.1128/AEM.02762-08.
- Esfarjani, F., Khaksar, R., Mohammadi Nasrabadi, F., Roustaei, R., Alikhanian, H., Khalaji, N., & Hosseini, H. (2016). A preventative approach to promote food safety. *British Food Journal*, 118(8), 2076–2091. doi: 10.1108/bfj-01-2016-0025.
- Garkavenko, T. O., Kaganets, O. O., Timchenko, O. V., & Cemenchukova, I. V. (2014). Guidelines for sanitary and microbiological control of production and sales facilities that are subject to veterinary supervision. *Kiev. DNDI LDVSE*.
- Godwin, S., Chen, F. C., Chambers, E., & Coppings, R. (2007). Comprehensive evaluation of temperatures within home refrigerators. *Food Protection Trends*, 27(3), 168–173. URL: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300785884>.
- Macias-Rodriguez, M. E., Navarro-Hidalgo, V., Linares-Morales, J. R., Olea-Rodriguez, M. A., & Villarruel-Lopez, A. (2013). Microbiological safety of domestic refrigerators and the dishcloths used to clean them in Guadalajara, Jalisco, Mexico. *Journal of food protection*, 76(6), 984–990. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-258.
- Márcia de Barros, A. F., Nero, L. A., Monteiro, A. A., & Beloti, V. (2007). Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. *Food Science and Technology*, 27(4), 856–862. doi: 10.1590/S0101-20612007000400028.
- Milios, K., Drosionos, E., & Zoiopoulos, P. (2012). Factors influencing HACCP implementation in the food industry. *Journal of Hellenic Veterinary Medical Society*, 63, 283–290. doi: 10.12681/jhvms.15442.
- Nagibina, V. V., Rebezov, M. B., & Anokhina, E. S., (2014). Sanitary and hygienic measures in the meat processing industry. *Scientific researches and their practical application. Modern state and ways of development. SWorld*, 1–12 October. URL: [www.sworld.com.ua](http://www.sworld.com.ua).
- Odeyade, J. O., Oyelami, L. O., & Fasogbon, A. O. (2018). Microbial analysis of processed foods stored in domestic refrigerators of selected in Ile-Ife, Osun State, Nigeria. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*, 6(3), 21–26. doi: 10.11648/J.bio.20180603.11.
- Paliy, A. P., Rodionova, K. O., Braginiec, M. V., Paliy, A. P., & Nalivayko, L. I. (2018). Sanitary-hygienic evaluation of meat processing enterprises productions and their sanitation. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(2), 81–88. doi: 10.15421/2018\_313.
- Regulation (EC) of the European Parliament and of the Council on 28.01.2002 №178/2002, laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32002R0178>.
- Regulation (EC) of the European Parliament and of the Council on 29.04.2004 №852/2004. On the hygiene of foodstuffs. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32004R0852>.
- Regulation (EC) of the European Parliament and of the Council on 15.11.2005 №2073/2004. Pro mikrobiologichni kryterii dlia kharchovykh produktiv. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32005R2073>.
- Rodionova, K., Steshenko, V., & Yatsenko, I. (2020). Approximating Ukraine's laws to those of the European Union concerning meat and meat products cold chain. *Journal of Advanced Research in Law and Economic*, 9(3), 978–992. doi: 10.14505/jarle.v11.3(49).34.
- Salata, V. Z. (2018). Dynamics of the genetic composition of psychrotrophic microflora of frozen beef in the process of storage. *Problemy zooinzhenernoi ta veterinarnoi medytsyny: zbirnyk naukovykh prats KhDZVA*, 3(2), 93–97 (in Ukrainian).
- Schillinger, U., & Lucke, F. (2003). Hygiene control of the meat fresh in reservoirs. *Food microbiology*, 4(2), 199–208.

- Velemets, N. (2020). Yaki vymohy vysuvaie BRC Food ta komu mozhe znadobytysia sertyfikatsiia za tsym mizhnarodnym standartom. Upravlinnia yakistiu, 6. URL: <https://techmedia.com.ua/node/2549> (in Ukrainian).
- Ichakova, O. I. (2011). Bakteriologichniy kontrol obektiv m'iasopererobnoho pidpriemstva. Naukovyi visnyk LNU veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Hzhyskoho, 14, 4(50), 239–242 (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9903

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 615.636.09

## Determination of the activity of fungicides against pathogens of dermatomycoses in domestic animals

I. M. Kushnir<sup>1</sup>, V. I. Kushnir<sup>1</sup>, B. V. Gutyj<sup>2</sup>, I. S. Semen<sup>1</sup>, S. D. Murska<sup>1</sup>, G. V. Kolodiy<sup>1</sup>, U. Z. Berbeka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

<sup>2</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

### Article info

Received 31.08.2020

Received in revised form

24.09.2020

Accepted 25.09.2020

State Scientific-Research Control  
Institute of Veterinary Medicinal  
Products and Feed Additives,  
Donetska Str., 11, Lviv,  
79019, Ukraine.  
Tel.: +38-096-367-31-37  
E-mail: igorku70@gmail.com

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.

**Kushnir, I. M., Kushnir, V. I., Gutyj, B. V., Semen, I. S., Murska, S. D., Kolodiy, G. V., & Berbeka, U. Z. (2020). Determination of the activity of fungicides against pathogens of dermatomycoses in domestic animals. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 20–23. doi: 10.32718/nvlvet9903**

The aim of the study was to identify and identify the causative agents of dermatomycosis in dogs and cats and to determine their sensitivity to solutions of ketonazole and chlorhexidine digluconate, which are part of the drug Skinhard. This is a spray for external use, manufactured by PJSC “Halychpharm”. For laboratory diagnosis of dermatomycoses, samples from the affected parts of the skin and fur of domestic animals were used. To isolate a pure culture of fungi were sown on selective media: wort agar, agar Saburo, Chapek. The optimal cultivation regime for pathogenic fungi was 20–25 °C. Isolated fungal cultures were identified by the appearance and shape of colonies, their consistency, color, ability to grow at 37 °C, microscopic structure, in particular - the nature of mycelial branching and the presence of septa, location of conidiophores, spores and other signs. A microbiological examination of the affected areas of the skin of dogs and cats was performed to detect microscopic fungi. The following fungi were isolated from dogs affected by mycoses: *Candida* spp., *Aspergillus niger*, *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp., *Mucor* spp., *Trichophyton* spp., *Mallassezia* spp., *Sporotrich* spp., *Candida albicans*, and from cats: *Microspor* *Candida* spp., *Spototrich* spp., *Rhizorus* spp., *Fusarium* spp. *Trichophyton* spp. Isolated microscopic fungi of the genus *Malassezia* spp. belong to superficial mycoses (keratomycoses) and affect the superficial layers of skin and hair. Epidermatophytes: *Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp. affect the epidermis, skin and coat. In addition, opportunistic fungi of the genus *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizorus* spp. and *Fusarium* spp. Chlorhexidine digluconate was found to be highly active against dermatophytes (*Trichophyton* spp., *Microsporum* spp.), Less active against fungi of the genus *Candida* and less active against *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizorus* spp., *Fusarium* spp. Ketonazole is highly active against dermatophytes (*Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp.), Yeast (*Malassezia* spp., *Candida* spp.) And opportunistic fungi (*Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizorus* spp.).

**Key words:** chlorhexidine digluconate, ketonazole, microscopic fungi, epidermatophytes, mycoses.

## Визначення активності фунгіцидних засобів до збудників дерматомікозів домашніх тварин

I. M. Кушнір<sup>1</sup>, В. І. Кушнір<sup>1</sup>, Б. В. Гутий<sup>2</sup>, І. С. Семен<sup>1</sup>, С. Д. Мурська<sup>1</sup>, Г. В. Колодій<sup>1</sup>, У. З. Бербека<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Метою дослідження було виділити та ідентифікувати збудники дерматомікозу собак та котів та визначити їх чутливість до розчинів кетоназолу та хлоргексидину диглюконату, які входять до складу препарату Скінгард. Це – спрей для зовнішнього

застосування, виробництва ПАТ “Галичфарм”. Для лабораторної діагностики дерматомікозів використовували зразки з уражених частин шкіри та шерсті домашніх тварин. Для виділення чистої культури грибів проводили посіви на селективні середовища: сусло-агар, агар Сабуро, Чапека. Оптимальний режим культивування для патогенних грибів становив 20–25 °С. Виділені культури грибів ідентифікували за зовнішнім виглядом і формою колоній, їх консистенцією, кольором, здатністю до росту за температури 37 °С, мікроскопічній будові, зокрема – характером розгалуження міцелію і наявністю у ньому септ, розташуванню конідієносців, спор та іншими ознаками. Проведено мікробіологічне дослідження уражених ділянок шкіри собак та котів на предмет виявлення мікроскопічних грибків. Від собак, уражених мікозами виділяли наступні грибки: *Candida spp.*, *Aspergillus niger*, *Epidermophyton spp.*, *Microsporium spp.*, *Mucor spp.*, *Trichophyton spp.*, *Mallasseria spp.*, *Sporotrix spp.*, *Candida albicans*, а від котів: *Microsporium spp.*, *Candida spp.*, *Spototrix spp.*, *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.* *Trichophyton spp.* Виділені мікроскопічні грибки роду *Malassezia spp.* належать до поверхневих мікозів (кератомікозів) і уражають поверхневі шари шкіри та шерсть. Епідерматофіти: *Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.*, *Microsporium spp.* уражають епідерміс, шкіру та шерстний покрив. Крім цього, у досліджуваних зразках виявлено опортуністичні гриби роду *Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.* та *Fusarium spp.* Встановлено, що хлоргексидину диглюконат високо активний до дерматофітів (*Trichophyton spp.*, *Microsporium spp.*), менше активний до грибків роду *Candida* та мало активний до *Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.* Кетоназол високо активний щодо дерматофітів (*Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.*, *Microsporium spp.*), дріжджів (*Malassezia spp.*, *Candida spp.*) та до опортуністичних грибів (*Aspergillus spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.*).

**Ключові слова:** хлоргексидину диглюконат, кетоназол, мікроскопічні грибки, епідерматофіти, мікози.

## Вступ

На сьогодні шкірні захворювання людей та тварин є надзвичайно гострою проблемою не тільки в Україні, але й багатьох країнах світу. Серед патологій дрібних домашніх тварин домінуючу роль займають дерматози, спричинені грибковою мікобіотою. Мікроскопічні грибки, які попадають на уражену шкіру розмножуються у її нижніх шарах, а продукти життєдіяльності викликають місцеве запалення (Nikitushkina, 2005; Martynyshyn et al., 2017).

Дуже часто дерматомікози виникають на тлі нераціонального використання антибіотиків, особливо широкого спектру дії та різноманітних хіміотерапевтичних засобів, які послаблюють природні захисні механізми макроорганізму (LaFleur et al., 2011; Iovenko & Koval, 2019; Kushnir et al., 2019; Borisenko et al., 2020). За високої мінливості патогенних грибків та їх здатності пристосовуватися до умов довкілля, патологічний процес значно поглиблюється, що сприяє поширенню інфекції (Koliadenko et al., 2010).

Встановлено, що дерматомікози характеризуються сезонністю прояву, природно-кліматичними факторами та чіткою видовою, віковою і породною структурою епізоотичного процесу (Bila et al., 2014). Проте, слід відзначити, що дерматомікози є поліетіологічним захворюванням, в патогенезі якого провідна роль належить таким біологічним факторам, як наявність ектопаразитів, умовно-патогенної мікрофлори та алергенів. Зокрема, умовно-патогенна мікрофлора, за умов ослаблення імунітету організму, здатна проявляти патогенні властивості та викликати різні запальні процеси (Kutsan et al., 2015).

При цьому, роль мікроскопічних грибків не зводиться лише до патологічного впливу на шкіру, але вони можуть бути причиною мікозів тварин та птиці. За дослідження, загиблої птиці на предмет виявлення мікозів, у 47 % випадків було виявлено мікроскопічні гриби. Зокрема, з легень та повітряноносних мішків загиблих курей виділяли різні види грибів: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Mucor ramosissimus*, *Mucor racemosus*, *Mucor pusillus*, *Rhizopus microsporus*, *Candida albicans*, *Penicillium notatum*, *Helminthosporium* (Aranchii et al., 2016).

Слід відзначити, що дерматомікози домашніх тварин є надзвичайно небезпечними, оскільки можуть бути джерелом інфекції для людини. Зоонози, потенційно можуть передаватися людині від домашніх тварин, а діти попадають у групу особливого ризику (Bondarenko, 2014).

Сьогодні для лікування дерматомікозів розроблено цілий ряд лікарських засобів, але не дивлячись на значну їх кількість, проблема шкірних захворювань домашніх тварин, особливо при змішаній грибково-бактеріальній інфекції, залишається актуальною. З огляду на це, удосконалення та розроблення нових ефективних та безпечних фунгіцидних препаратів є надзвичайно важливим завданням ветеринарної медицини України. Тому метою дослідження було виділити та ідентифікувати збудники дерматомікозу собак та котів та визначити їх чутливість до розчинів кетоназолу та хлоргексидину диглюконату, які входять до складу препарату Скінгард. Це – спрей для зовнішнього застосування, виробництва ПАТ “Галичфарм”.

## Матеріал і методи досліджень

Для лабораторної діагностики дерматомікозів використовували зразки з уражених частин шкіри та шерсті домашніх тварин. Для виділення чистої культури грибів проводили посіви на селективні середовища: сусло-агар, агар Сабуро, Чапека. Оптимальний режим культивування для патогенних грибів становив 20–25 °С. Виділені культури грибів ідентифікували за зовнішнім виглядом і формою колоній, їх консистенцією, кольором, здатністю до росту за температури 37 °С, мікроскопічній будові, зокрема – характером розгалуження міцелію і наявністю у ньому септ, розташуванню конідієносців, спор та іншими ознаками (Sarkisov, 1971).

Фунгіцидну активність хлоргексидину диглюконату і кетоназолу визначали методом дифузії в агар, який базується на дифузії досліджуваного розчину в товщу агарової пластини. Для цього готували 2 % розчин хлоргексидину диглюконату та 1 % розчин кетоназолу, що відповідає концентрації діючих речовин в препараті Скінгард, спрей для зовнішнього застосування. Верхній шар агаризованого середовища Сабуро засівали виділеними культурами грибів, кон-

центрацію яких визначали відповідно за стандартом каламутності на 0,5 одиниць за McFarland. У товщі агарової пластини робили лунок діаметром 8 мм, в які вносили по 0,05 см<sup>3</sup> досліджуваних розчинів. Чашки Петрі культивували за температури 25 °С упродовж 48 годин. Чутливість виділених ізолятів оцінювали за розмірами зон затримки росту грибів навколо лунок з розчинами хлоргексидину і кетоназолу.

### Результати та їх обговорення

Із патологічного матеріалу, отриманого від собак та котів, виділяли широкий спектр мікроскопічних грибків. Зокрема, від собак, уражених мікозами виділяли наступні грибки: *Candida* spp., *Aspergillus niger*, *Epidermophyton* spp., *Microsporium* spp., *Mucor* spp., *Trichophyton* spp., *Mallasseria* spp., *Sporotrix* spp., *Candida albicans*, а від котів: *Microsporium* spp., *Candida* spp., *Spototrix* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp., *Trichophyton* spp.

У подальшому вивчали чутливість виділених грибків до 2 % розчину хлоргексидину та 1 % розчину кетоназолу. Результати визначення чутливості грибкової мікрофлори, виділеної з уражених ділянок шкіри собак до хлоргексидину і кетоназолу наведені в таблиці 1.

**Таблиця 1**

Чутливість грибкової мікрофлори, виділеної з уражених ділянок шкіри собак (M ± m, n = 3)

№ з/п	Виділені мікроскопічні грибки	Кетоназол Діаметр зон затримки росту, мм	Хлоргексидин
1	<i>Candida</i> spp.	32,6 ± 0,6	16,3 ± 0,3
2	<i>Aspergillus niger</i>	31,6 ± 0,8	13,3 ± 0,6
3	<i>Epidermophyton</i> spp.	29,0 ± 0,5	17,6 ± 0,3
4	<i>Microsporium</i> spp.	29,3 ± 0,6	20,6 ± 0,6
5	<i>Mucor</i> spp.	25 ± 0,5	13,6 ± 0,3
6	<i>Trichophyton</i> spp.	37,3 ± 0,6	21,3 ± 0,3
7	<i>Mallasseria</i> spp.	29,3 ± 0,6	15,3 ± 0,3
8	<i>Sporotrix</i> spp.	25,3 ± 0,6	20,6 ± 0,3
9	<i>Trichophyton</i> spp.	41,6 ± 0,3	23,3 ± 0,6
10	<i>Candida albicans</i>	37,3 ± 0,6	21,3 ± 0,3
11	<i>Sporotrix</i> spp.	29,6 ± 0,3	22,6 ± 0,3
12	<i>Trichophyton</i> spp.	32,6 ± 0,3	21,3 ± 0,6
13	<i>Candida</i> spp.	30,6 ± 0,3	18,0 ± 0,5
14	<i>Mucor</i> spp.	28,0 ± 0,5	14,6 ± 0,3

У результаті проведених досліджень встановили, що чутливість грибків, виділених з уражених ділянок шкіри собак до 1 % розчину кетоназолу та 2 % розчину хлоргексидину є різною. Зокрема, 1 % розчин кетоназолу проявляв значно вищу активність у порівнянні з 2 % розчином хлоргексидину. Так, при визначенні фунгіцидної дії кетоназолу, зони затримки рос-

ту різних ізолятів дерматофітів *Trichophyton* spp. складала від 32,6 до 41,6 мм, а при визначенні фунгіцидної дії 2 % розчину хлоргексидину – від 21,3 до 23,3 мм. До грибів роду *Candida* кетоназол проявляв вираженішу фунгіцидну дію – зони затримки росту складала від 30,6 до 37,3 мм, у порівнянні з хлоргексидином – 16,3 до 21,3 мм.

Результати визначення чутливості грибкової мікрофлори, виділеної з уражених ділянок шкіри котів, до хлоргексидину і кетоназолу наведені в таблиці 2.

**Таблиця 2**

Чутливість грибкової мікрофлори, виділеної з уражених ділянок шкіри котів (M ± m, n = 3)

№ з/п	Виділені мікроскопічні грибки	Кетоназол Діаметр зон затримки росту, мм	Хлоргексидин
1	<i>Microsporium</i> spp.	25,3 ± 0,3	22,3 ± 0,8
2	<i>Candida</i> spp.	18,3 ± 0,6	14,6 ± 0,3
3	<i>Spototrix</i> spp.	23,6 ± 0,3	17,3 ± 0,6
4	<i>Rhizopus</i> spp.	25,6 ± 0,3	15,6 ± 0,3
5	<i>Candida</i> spp.	28,6 ± 0,6	16,6 ± 0,6
6	<i>Microsporium</i> spp.	24,3 ± 0,6	21,6 ± 0,3
7	<i>Trichophyton</i> spp.	32,6 ± 0,6	22,3 ± 0,6
8	<i>Fusarium</i> spp.	18,3 ± 0,3	12,6 ± 0,6
9	<i>Microsporium</i> spp.	22,3 ± 0,6	20,6 ± 0,3
10	<i>Trichophyton</i> spp.	28,6 ± 0,3	20,6 ± 0,3

Як видно з результатів, наведених у таблиці 2, чутливість грибків, виділених з уражених ділянок шкіри котів до 1 % розчину кетоназолу є вищою, ніж до 2 % розчину хлоргексидину. Зокрема, при визначенні фунгіцидної дії кетоназолу, зони затримки росту двох ізолятів дерматофітів роду *Trichophyton* spp. складала від 28,6 до 32,2 мм, а при визначенні фунгіцидної дії хлоргексидину – від 20,6 до 22,3 мм. Однак, фунгіцидна дія кетоназолу та хлоргексидину щодо ізолятів *Microsporium* spp. суттєво не відрізнялася. Зокрема, навколо лунок з кетоназолом зони затримки росту грибів складала від 22,3 до 25,3 мм, тоді як навколо лунок з хлоргексидином – від 20,6 до 22,3 мм.

Отже, згідно проведених досліджень встановлено, що хлоргексидину диглюконат високо активний до дерматофітів (*Trichophyton* spp., *Microsporium* spp.), менше активний до грибків роду *Candida* та мало активний щодо *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp. Кетоназол високо активний відносно дерматофітів (*Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporium* spp.), дріжджів (*Malassezia* spp., *Candida* spp.) та до опортуністичних грибів (*Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp.).

### Висновки

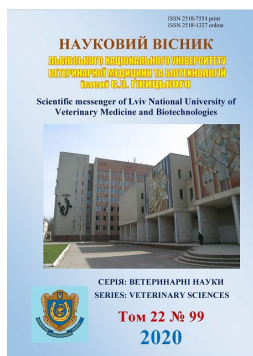
Із уражених ділянок шкіри собак та котів виділяли різні мікроскопічні грибки, зокрема епідерматофіти

роду *Trichophyton* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp., які уражали епідерміс, шкіру та шерстний покрив; гриби роду *Malassezia* spp. – уражали поверхневі шари шкіри та шерсть, а також опортуністичні гриби роду *Aspergillus* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Fusarium* spp.

Виділені мікроскопічні гриби з уражених ділянок шкіри собак та котів проявлять високу чутливість до 1 % розчину кетоназолу та 2 % розчину хлоргексидину диглюконату, причому кетоназол проявляв вираженішу фунгіцидну дію.

## References

- Aranchii, S. V., Zon, H. A., & Kinash, O. V. (2016). Epizootologichna sytuatsiia shchodo vistseralnykh mikrokoziv tvaryn v umovakh tsentralnoho rehionu Ukrainy. *Visnyk ahranoi nauky Prychornomia*, 2(1), 11–17. URL: <https://visnyk.mnau.edu.ua/n89v2r2016aranchiy> (in Ukrainian).
- Bila, N. V., Hlebeniuk, V. V., Zubkov, V. V., & Voronov, T. V. (2014). Epizootologichni osoblyvosti dermatomikoziv u misti Dnipropetrovsk. *Naukovotekhnichniy biuleten NDTs biobezpeky ta ekolohichnoho kontroliu resursiv APK*, 2(3), 63–67. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/ndbnndc\\_2014\\_2\\_3\\_12](http://nbuv.gov.ua/UJRN/ndbnndc_2014_2_3_12) (in Ukrainian).
- Bondarenko, A. V. (2014). Infektsii, shcho peredaiutsia liudyni vid domashnikh tvaryn (lektsiia). *Semeinaia medytsyna*, 1, 51–57. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/simmed\\_2014\\_1\\_14](http://nbuv.gov.ua/UJRN/simmed_2014_1_14) (in Ukrainian).
- Borisenko, N. N., Bushueva, I. V., Parchenko, V. V., Gubenko, I. Ya., Mykhailiuk, Y. O., Riznyk, O. I., Aleksieiev, O. G., Gutyj, B. V., Lysianska, H. P., & Kurinnyi, A. V. (2019). Anti-Inflammatory, Antiviral Veterinary Medicine with Immuno-Modulating Activity. *Research J. Pharm. and Tech.*, 12(11), 5455–5459. doi: 10.5958/0974-360X.2019.00909.0.
- Iovenko, A., & Koval, G. (2019). Monitoring of contagious skin diseases of dogs and cats in Odessa. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(93), 160–163. doi: 10.32718/nvlvet9328.
- Koliadenko, V. H., Stepanenko, V. I., & Kravchenko, A. V. (2010). Systemna terapiia mikrokoziv z urakhuvanniam osoblyvostei zhyttiediialnosti patohennykh hrybiv. *Hazeta “Novyny medytsyny ta farmatsii” Dermatologiya*, 319 (Tematycheskyi nomer). URL: <http://www.mif-ua.com/archive/issue-12119/article-12140/> (in Ukrainian).
- Kushnir, I. M., Kushnir, V. I., Gufriy, D. F., Gutyj, B. V., Vishchur, V. Ya., Bushueva, I. V., Kulish, S. M., Shcherbyna, R. O., Samura, T. A., & Stoyanovskyy, V. G. (2019). Subacute toxicity of the preparation “Biovir-P”. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 10(2), 674–680. URL: [https://www.rjpbcs.com/pdf/2019\\_10\(2\)/\[92\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2019_10(2)/[92].pdf).
- Kutsan, O. T., Yaroshenko, M. O., & Keleberda, M. I. (2015). Osoblyvosti perebihu dermatomikoziv dribnykh domashnikh tvaryn, sprychynenykh *Alternaria alternata*. *Veterynarna medytsyna*, 100, 98–102. URL: [http://jvm.kharkov.ua/sbornik/100/4\\_26.pdf](http://jvm.kharkov.ua/sbornik/100/4_26.pdf) (in Ukrainian).
- LaFleur, M. D., Lucumi, E., Napper, A. D., Diamond, S. L., & Lewis, K. (2011). Novel high-throughput screen against *Candida albicans* identifies antifungal potentiators and agents effective against biofilms. *J Antimicrob Chemother*, 66(4), 820–826. doi: 10.1093/jac/dkq530.
- Martynyshyn, V., Gunchak, V., Gutyj, B., & Hlukh, O. (2017). To the method of preparation of the liniment on the basis of thiopropyl triazole and his assessment of physical properties and performance on individual microorganisms and fungi. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(82), 36–40. doi: 10.15421/nvlvet8208.
- Nikitushkina, N. A. (2005). Vidovoj sostav gribkovej mikroflory, persistirujushhej na kozhe zhivotnyh s priznakami dermatomikoza. XII Mezhdunarodnyj moskovskij kongress po boleznyam melkih domashnih zhivotnyh. URL: <http://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/pages/2005/s048.htm> (in Russian).
- Sarkisov, A. H. (1971). Diagnostika gribnyh boleznej mikrokozov i mikotoksikozov zhivotnyh. M. “Kolos” (in Russian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9904

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 616.022.085.33

## Study of the toxic effect of the drug “Incombivit”

T. M. Kaliuzhna, H. A. Fotina

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

### Article info

Received 01.09.2020

Received in revised form  
30.09.2020

Accepted 01.10.2020

Sumy National  
Agrarian University,  
G. Kondratieva Str., 160,  
Sumy, 40000, Ukraine.  
Tel.: +38-066-862-04-31  
E-mail: ktana0081@gmail.com

**Kaliuzhna, T. M., & Fotina, H. A. (2020). Study of the toxic effect of the drug “Incombivit”. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 24–28. doi: 10.32718/nvlvet9904**

Modern veterinary medicine has made great strides in the prevention and treatment of various diseases, largely through the availability of highly effective drugs. One of the major challenges to development of effective, safe, competitive drugs in Ukraine is the creation of an effective system of pre-clinical trials that meet international standards. The toxicity study is a mandatory phase trials of new drugs. The drug “Incombivit” accommodates only available endogenous biologically active substances, which are natural feed ingredients for animals and are naturally present in animal tissues. All active pharmaceutical ingredients used in drug “Incombivit”, by the EU regulation No. 37/2010 related to non-hazardous for animals and people compounds. The  $LD_{50}$  of most active pharmaceutical ingredients included in the drug “Incombivit” for mice when administered orally ranges from 5000 to 10000 mg/kg body weight, except for some active pharmaceutical ingredients when they are contained in milligram amounts in 1 liter of the drug, for which  $LD_{50}$  less than 1000 mg/kg body weight of animals. Incombivit is a combination drug that contains fat- and water-soluble vitamins, trace elements and amino acids that normalize metabolism, increase overall resistance, improve productivity, safety and reproductive functions of animals. Acute toxicity of the drug was studied on 50 white mice weighing 19–21 g and on 20 white rats weighing 250–295 g. The animals were kept in accordance with sanitary norms and rules on a standard diet (compound feed) adopted in the vivarium. The acute  $LD_{50}$  of Incombivit for a single oral administration is  $7500 \pm 229.95$  mg/kg body weight for mice and  $6250 \pm 375.50$  mg/kg body weight for rats. Incombivit can be classified as hazard class 4 according to the International Standard GOST 12.1.007-76 and to category 5 according to the International Global Harmonized System (GHS) classification, as its  $LD_{50}$  for mice and rats with a single oral administration exceeds 5000 mg/kg body weight.

**Key words:** preclinical studies of drugs, vitamins, trace elements, amino acids, immune resistance, metabolism, toxicity, drug “Incombivit”.

## Вивчення токсичної дії препарату “Інкомбівіт”

T. M. Калюжна, Г. А. Фотіна

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Сучасна ветеринарна медицина досягла великих успіхів у профілактиці та лікуванні різних захворювань багато в чому завдяки наявності високоєфективних лікарських препаратів. Одним з найважливіших завдань на шляху розробки ефективних, безпечних конкурентоспроможних ліків в Україні є створення ефективної системи доклінічних випробувань, які відповідають міжнародним стандартам. Вивчення токсичності є обов'язковим етапом дослідження нових лікарських засобів. Препарат “Інкомбівіт” вміщує лише ендогенно доступні біологічно активні речовини, які є природними компонентом кормів для тварин та природно присутні в тканинах тварин. Всі активні фармацевтичні інгредієнти, що входять до препарату “Інкомбівіт”, регламентом Європейського Союзу № 37/2010 зараховані до нешкідливих для організму тварин та людей сполук, для яких немає потреби встановлення максимально допустимих рівнів у продуктах тваринництва та проводити моніторинг їх залишків.  $LD_{50}$  більшості активних фармацевтичних інгредієнтів, що входять до препарату “Інкомбівіт”, для мишей при пероральному введенні коливаються від 5000 до 10000 мг/кг маси тіла, за винятком окремих активно фармацевтичних інгредієнтів при їх вмісті в міліграмових кількостях у 1 л препарату, для яких  $LD_{50}$  менші ніж 1000 мг/кг маси тіла тварин. “Інкомбівіт” – комбінований препарат, який містить жири- та



*водорозчинні вітаміни, мікроелементи та амінокислоти, що нормалізують обмін речовин, підвищують загальну резистентність, покращують продуктивність, збереженість та репродуктивні функції тварин. Гостру токсичність препарату вивчали на 50 білих мишах масою тіла 19–21 г. та на 20 білих білих щурах масою 250–295 г. Тварин утримували згідно з санітарними нормами і правилами на стандартному раціоні, (комбікормі), прийнятому у віварії. LD<sub>50</sub> препарату “Інкомбівіт” при одноразовому пероральному введенні становить 7500 ± 229,95 мг/кг маси тіла для мишей та 6250 ± 375,50 мг/кг маси тіла для щурів. Препарат “Інкомбівіт” можна зачислити до 4 класу небезпеки згідно з Міжнародним стандартом ГОСТ 12.1.007-76 та до категорії 5 за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS), оскільки його LD<sub>50</sub> для мишей та щурів при одноразовому пероральному введенні перевищує 5000 мг/кг маси тіла.*

**Ключові слова:** доклінічні дослідження ліків, вітаміни, мікроелементи, амінокислоти, імунна резистентність, обмін речовин, токсичність, препарат “Інкомбівіт”.

## Вступ

Птахівництво в Україні є однією з найбільш інтенсивних і динамічних галузей сільськогосподарського виробництва, яке має усі можливості в короткі строки збільшити виробництво дієтичних висококалорійних продуктів – яєць і м'яса птиці для забезпечення потреб населення України. Однією з основних причин, що зумовила спад виробництва продукції птахівництва, є недостатня збалансованість раціонів як за основними елементами живлення, так і за біологічно активними речовинами. Дані причини у поєднанні з іншими факторами створюють дисбаланс між організмом птиці і навколишнім середовищем, знижують імунно-біологічну реактивність і негативно позначаються на продуктивності та відтворювальних функціях (Bushujeva, 2015).

Ринок ветеринарних препаратів України активно поповнюється ветеринарними лікарськими засобами та кормовими добавками як іноземного, так і вітчизняного виробництва, дія яких спрямована на поліпшення функціонування імунної системи, корекцію імунного статусу організму. Впровадження цих препаратів у практику ветеринарної медицини вимагає ретельної експертизи, відтворення методів контролю, комплексного методичного підходу з використанням основних і допоміжних тестів, котрі ґрунтуються на засадах ветеринарної фармакології, токсикології, експериментальної імунології, імунохімії, гематології, біохімії (Zhyla et al., 2013).

Сучасна ветеринарна медицина досягла великих успіхів у профілактиці та лікуванні різних захворювань багато в чому завдяки наявності високоефективних лікарських препаратів. Одним з найважливіших завдань на шляху розробки ефективних, безпечних конкурентоспроможних ліків в Україні є створення ефективної системи доклінічних випробувань, які відповідають міжнародним стандартам.

Більшість наявних лікарських засобів впливають на імунну систему, зазвичай вони стимулюють або пригнічують імунну реакцію. Виходячи з цього, варто розділити всі лікарські засоби на ті, що безпосередньо впливають на імунологічні механізми і призначені саме для цього, і на ті препарати, вплив яких на імунну систему має побічний або опосередкований характер (Kosenko et al., 2004; Zhyla et al., 2013).

Часто для підвищення резистентності організму застосовуються кормові добавки, що містять макро- та мікроелементи, біологічно активні речовини. Відомо, що раціони з дефіцитом Цинку викликають у тварин пригнічення гуморального і значне зниження

реакцій клітинного імунітету. Препарати Міді, Марганцю, Заліза стимулюють фактори природної резистентності. Однак надлишок макро- і мікроелементів не менш шкідливий, ніж їхня недостатність (Kosenko et al., 2004).

Препарат “Інкомбівіт” вміщує лише ендогенно доступні біологічно активні речовини, які є природними компонентом кормів для тварин та природно присутні в тканинах тварин. Всі активні фармацевтичні інгредієнти, що входять до препарату “Інкомбівіт”, регламентом Європейського Союзу № 37/2010 зачислені до нешкідливих для організму тварин та людей сполук, для яких немає потреби встановлення максимально допустимих рівнів у продуктах тваринництва та проводити моніторинг їхніх залишків. LD<sub>50</sub> більшості активних фармацевтичних інгредієнтів, що входять до препарату “Інкомбівіт”, для мишей при пероральному введенні коливаються від 5000 до 10000 мг/кг маси тіла, за винятком окремих активно фармацевтичних інгредієнтів при їх вмісті у міліграмових кількостях в 1 л препарату, для яких LD<sub>50</sub> менші ніж 1000 мг/кг маси тіла тварин.

Токсичність залежить від дози, як стверджував Парацельс понад 500 років тому. Однак короточасний токсичний ефект визначається з використанням середньої смертельної дози (LD<sub>50</sub>), вперше введеної Треваном в 1927 році.

Метою доклінічних досліджень ліків є одержання науковими методами оцінок та доказів їхньої ефективності та безпеки.

Препарат “Інкомбівіт” у своєму складі містить три жиророзчинні вітаміни (А, D<sub>3</sub> та Е), дев'ять водорозчинних вітамінів (вітамін В<sub>1</sub>, вітамін В<sub>2</sub>, вітамін В<sub>6</sub>, вітамін В<sub>12</sub>, Д-пантенол, нікотинамід, фолієва кислота, біотин, холіну хлорид), дві незамінні (лізин та метіонін) та три есенціальні мікроелементи (Мідь, Цинк та Манган) (Kaliuzhna, 2018; Brovafarma, 2019).

Вітамін А бере участь в окисно-відновних реакціях, регулює активність інсуліну, вуглеводний і жировий обмін, активізує метаболізм Кальцію і Магнію, засвоєння кисню в біохімічних процесах, взаємодію білків із ліпідами у клітинних мембранах, стримує утворення кератиногіалінових зерен у ліпідному шарі клітинних мембран, підтримує еластичність оболонки клітин, функціонування органів зору, шкіри, дихальних шляхів, ШКТ, матки, стимулює репродуктивні функції – спермато- та оогенез, ріст ембріонів, настання статевої зрілості, синтез статевих гормонів (Lavryshyn et al., 2016).

Вітамін D<sub>3</sub> бере участь в обміні Кальцію і Фосфору, впливає на розвиток кісток, регулює вміст Каль-

цію і Фосфору у крові та кістковій тканині, забезпечує їхнє фізіологічне співвідношення в організмі, впливає на тканинне дихання і окиснення вуглеводів. При зниженні вмісту Кальцію у крові тварин забезпечує його перехід з кісткової тканини (Martysuk et al., 2019; 2020; Ostapyuk & Gutyj, 2020).

Вітамін Е – антиоксидант, регулює окиснення під час біосинтезу білка, забезпечує метаболізм АТФ, захищає еритроцити від гемолізу та окиснення, запобігає окисненню жирних кислот, забезпечує стійкість і активність епітелію слизових оболонок репродуктивної системи, ШКТ і кон'юнктиви, регулює сперматогенез та зменшує кількість патологічно змінених сперматозоїдів, запобігає переродженню епітелію сім'яних каналців у самців, поліпшує запліднення і ембріональний розвиток плоду у самок.

Вітаміни групи В входять до складу різних ферментів, які беруть участь в обміні вуглеводів, ліпідів, білків, амінокислот, забезпеченні тварин енергією, еритроцитопоезі, синтезі гемоглобіну, процесах тканинного дихання, функціонуванні ЦНС, підтримці структури шкіри та зору, попередженні жирової інфільтрації печінки.

Мідь та Манган – мікроелементи, що беруть участь у гемопоєзі, стимулюють синтез гемо- і міоглобіну, еритроцитопоез, входять до складу ферментів тканинного дихання і системи антиоксидантного захисту, необхідні для формування кісткової тканини.

Цинк бере участь в обміні нуклеїнових кислот і синтезі білків, впливає на основні життєві процеси – кровотворення, розмноження, розвитку організму тварин, вуглеводного та енергетичного обміну (Boiko et al., 2020).

Лізин та метіонін – незамінні амінокислоти, що входять до складу майже всіх білків, беруть участь у синтезі біологічно активних речовин, гормонів, ферментів, карнітину, холіну, фосфоліпідів, формуванні колагену (Brovafarma, 2019).

Препарат застосовують для лікування та профілактики порушень обміну речовин, гіповітамінозів, рахіту, остеодистрофії, перед- і післяродового залежування, післяродової гіпокальціємії та гіпофосфатемії, артрозу, захворювань ШКТ та дихальних шляхів, інфекційних та паразитарних захворювань, підтримання відтворної функції, стимуляції продуктивності, росту і розвитку тварин, підвищення неспецифічної резистентності, яйцєносності, покращення стану шкіри та оперення, у періоди підвищеної потреби в поживних речовинах (стресові ситуації, транспортування, проведення ветеринарних заходів, зміна складу корму, високі температури), під час вагітності (друга половина) і лактації, у період вакцинації (Kaliuzhna, 2018).

*Мета і завдання дослідження:* вивчення токсичної дії препарату “Інкомбівіт” на організм мишей при одноразовому та багаторазовому підшкірному введенні.

## Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження був препарат “Інкомбівіт”, виготовлений ТОВ “БРОВАФАРМА”. Токсичність препарату “Інкомбівіт” визначали згідно з “Методичними вказівками з визначення токсичних властивостей препаратів, які застосовуються у ветеринарії та тваринництві” та “Доклінічними дослідженнями ветеринарних лікарських засобів” (Kotsiumbas et al., 2006).

Дослідження проводились в умовах атестованого віварію Регіонального центру РЦ “ЕКОМЕДХІМ” Сумського державного університету та Сумського національного аграрного університету (Свідоцтво про атестацію № РУ – 1396/15).

В досліді використовували препарат “Інкомбівіт” експериментальної серії 04, виготовленої ТОВ “БРОВАФАРМА” 08.2018 року.

Це комбінований препарат, який містить жиророзчинні вітаміни, мікроелементи та амінокислоти, що нормалізують обмін речовин, підвищують загальну резистентність, поліпшують продуктивність, збереженість та репродуктивні функції тварин.

Гостру токсичність препарату вивчали на 50 білих мишах масою тіла 19–21 г. та на 20 білих щурах масою 250–295 г. Тварин утримували згідно з санітарними нормами і правилами на стандартному раціоні, (комбікормі), прийнятому у віварії. Воду тварини отримували без обмежень. Перед проведенням досліджень тварин зважували. Препарат “Інкомбівіт” перед пероральним введенням тваринам інтенсивно змішували порівну з дистильованою водою. Після змішування препарат швидко вводили тваринам вранці на голодний шлунок перорально одноразово через зонд з канюлею в дозах 2500, 5000, 7500, 10000 та 12500 мг/кг маси тіла. Годівлю тварин розпочинали через дві години після введення препарату. За мишами вели спостереження впродовж 14 діб після введення препарату. В ході досліджень спостерігали за клінічним станом тварин, враховували їхню активність, та кількість тварин, що загинули. Результати вивчення токсичної дії препарату “Інкомбівіт” вносили в таблицю 1 та проводили розрахунок LD<sub>50</sub> гострої препарату для мишей при пероральному введенні за Кербером. Дослідження виконувались з дотриманням правил Практичного керівництва ВООЗ з біологічної безпеки в лабораторних умовах.

## Результати та їх обговорення

Результати вивчення гострої токсичної дії препарату “Інкомбівіт” при пероральному введенні мишам та розрахунок LD<sub>50</sub> гострої препарату для мишей при оральному введенні за Кербером становили 7500 ± 229,95 мг/кг маси тіла (табл. 1).

**Таблиця 1**

Результати вивчення гострої токсичної дії препарату “Інкомбівіт” при пероральному введенні мишам та розрахунок LD<sub>50</sub> препарату для мишей при оральному введенні за Кербером

Дози, мг/кг маси тіла	2500	5000	7500	10000	12500
Вижило мишей	10	7	6	5	0
Загинуло мишей	0	3	4	8	10
Z	0	1,5	3,5	6,0	9,0
D	2500	2500	2500	2500	2500
Z x D	0	3750	8750	15000	22500

Дозу LD<sub>50</sub> препарату розраховували за формулою:  
 $LD_{50} = LD_{100} - (\Sigma (Z \times D) : n)$  де :

LD<sub>100</sub> – доза препарату, яка спричиняє падіж всіх тварин в групі;

D – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

Z – середнє арифметичне з числа тварин, які загинули;

n – число тварин у групах.

$LD_{50} = 12500 - ((3750 + 8750 + 15000 + 22500) : 10)$   
 $= 12500 - 5000 = 7500$  мг/кг маси тіла.

При аналізі графіка “доза-ефективність” визначали показники LD<sub>16</sub> та LD<sub>84</sub>, які становили 3750 та 11250 мг/кг маси тіла.

За формулою Гаддама визначали стандартну похибку LD<sub>50</sub> гострої токсичності препарату “Інкомбівіт” для щурів при пероральному введенні:

$S = \sqrt{(K \times E \times D)}$ ; n, де:

K = 0,564;

E = (LD<sub>84</sub> – LD<sub>16</sub>) : 2;

D – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

n – число тварин у групах.

$S = \sqrt{[0,564 \times [(11250-3750) : 2] \times 2500]} : 10 = \sqrt{(0,564 \times 3750 \times 2500)} : 10 = 229,95$  мг/кг.

Таким чином, LD<sub>50</sub> препарату “Інкомбівіт” для мишей при одноразовому пероральному введенні

становить 7500 ± 229,95 мг/кг маси тіла. Вивчення гострої токсичності препарату “Інкомбівіт” при одноразовому пероральному введенні білих щурам. Гостру токсичність препарату “Інкомбівіт” вивчали на 20 білих білих щурах масою 250–295 г. Тварин утримували згідно з санітарними нормами і правилами та на стандартному раціоні, прийнятим у віварії Центру (комбікормі). Воду тварини отримували без обмежень. Перед проведенням досліджень тварин зважували. Препарат “Інкомбівіт” перед пероральним введенням тваринам інтенсивно змішували порівну з дистильованою водою. Після змішування препарат швидко вводили тваринам уранці на голодний шлунок перорально одноразово через зонд з канюлею в дозах 2500, 5000, 7500 та 10000 мг/кг маси тіла. Годівлю тварин розпочинали через дві години після введення препарату. За щурами вели спостереження впродовж 14 діб після введення препарату. В ході досліджень спостерігали за клінічним станом тварин, враховували їхню активність та кількість тварин, що загинули. Результати вивчення токсичної дії препарату “Інкомбівіт” вносили в таблицю 2 та проводили розрахунок LD<sub>50</sub> гострої токсичності препарату для білих щурів при пероральному введенні за Кербером.

**Таблиця 2**

Результати вивчення гострої токсичної дії препарату “Інкомбівіт” при пероральному введенні щурам та розрахунок LD<sub>50</sub> гострої препарату для щурів при оральному введенні за Кербером

Дози, мг/кг маси тіла	2500	5000	7500	10000
Вижило щурів	5	4	1	0
Загинуло щурів	0	1	4	5
Z	0	0,5	2,5	4,5
D	2500	2500	2500	2500
Z x D	0	1250	6250	11250

Дозу LD<sub>50</sub> препарату розраховували за формулою:  
 $LD_{50} = LD_{100} - (\Sigma (Z \times D) : n)$ , де:

LD<sub>100</sub> – доза препарату, яка спричиняє загибель всіх тварин в групі;

D – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

Z – середнє арифметичне з числа тварин, які загинули;

n – число дослідних тварин у групах.

$LD_{50} = 10000 - ((1250 + 6250 + 11250) : 5) = 10000 - 3750 = 6250$  мг/кг маси тіла.

При аналізі графіка “доза-ефективність” визначали показники LD<sub>16</sub> та LD<sub>84</sub>, які становили 3750 та 8750 мг/кг маси тіла.

За формулою Гаддама визначали стандартну похибку LD<sub>50</sub> гострої препарату “Інкомбівіт” для щурів при пероральному введенні:

$S = \sqrt{(K \times E \times D)}$ ; n, де

K = 0,564;

E = (LD<sub>84</sub> – LD<sub>16</sub>) : 2;

D – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

n – число тварин у групах.

$$S = \sqrt{[0,564 \times [(8750 - 3750) : 2] \times 2500] : 5} = \sqrt{(0,564 \times 2500 \times 2500) : 5} = 375,50 \text{ мг/кг.}$$

Таким чином, LD<sub>50</sub> гостра препарату “Інкомбівіт” для щурів при пероральному введенні становить 6250 ± 375,50 мг/кг маси тіла.

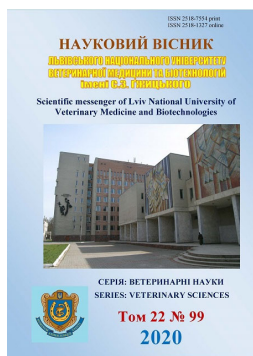
### Висновки

1. LD<sub>50</sub> гострої токсичності препарату “Інкомбівіт” при одноразовому пероральному введенні становить 7500 ± 229,95 мг/кг маси тіла для мишей та 6250 ± 375,50 мг/кг маси тіла для щурів.

2. На підставі отриманих результатів досліджень препарат “Інкомбівіт” необхідно віднести до 4 класу небезпеки згідно з Міжнародним стандартом ГОСТ 12.1.007-76 та до категорії 5 за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS), оскільки його LD<sub>50</sub> для мишей та щурів при одноразовому пероральному введенні перевищує 5000 мг/кг маси тіла.

### References

- Boiko, O. V., Honchar, O. F., Lesyk, Y. V., Kovalchuk, I. I., & Gutyj, B. V. (2020). Effect of zinc nanoaquaculture on the biochemical and productive parameters of the organism of rabbits. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11(2), 243–248. doi:10.15421/022036.
- Brovafarma (2019). Inkombivit. URL: <http://brovafarma.com.ua/uk/incombivit.html> (in Ukrainian).
- Bushujeva, I. V. (2015). Organizacijno-ekonomichni ta farmakoekonomichni doslidzhennja rivnja farmaceutychnogo zabezpechennja preparatamy dlja ptahivnyctva. *ScienceRise*, 1(3), 57–61. doi: 10.15587/2313-8416.2015.36024 (in Ukrainian).
- Kaliuzhna, T. M. (2018). Vychennja toksychnoi dii preparatu “Inkombivit” pry bagatorazovomu vvedenni. *Materialy XVII Vseukrainskoi naukovo-praktychnoi konferencii molodyh uchenyh*. Lviv. NAAN Ukrainy, Instytut biologii tvaryn, 20(4), 106 (in Ukrainian).
- Kosenko, M. V., Kocjumbas, I. Ja., Kosenko, Ju. M., ta in. (2004). Kontrol vplyvu veterynarnyh likarskyh zasobiv na stan imunitetu tvaryn. *Veterynarna medycyna Ukrainy*, 1, 43–44 (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. H., & Patereha, I. P. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnyh likarskykh zasobiv*. Za red. I.Ya. Kotsiumbasa Lviv. Triada plus (in Ukrainian).
- Lavryshyn, Y. Y., Varkholyak, I. S., Martyshuk, T. V., Guta, Z. A., Ivankiv, L. B., Paladischuk, O. R., Murska, S. D., Gutyj, B. V., & Gufriy, D. F. (2016). The biological significance of the antioxidant defense system of animals body. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S. Z. Gzhytskyj*, 18, 2(66), 100–111. doi: 10.15421/nvlvet6622.
- Martysuk, T. V., Gutyj, B. V., Vishchur, O. I., & Todoruk, V. B. (2019). Biochemical indices of piglets blood under the action of feed additive “Butaselmavit-plus”. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2(2), 27–30. doi: 10.32718/ujvas2-2.06.
- Martysuk, T. V., Gutyj, B. V., Zhelavskiy, M. M., Midyk, S. V., Fedorchenko, A. M., Todoruk, V. B., Nahirniak, T. B., Kiser, Ya. V., Sus, H. V., Chemerys, V. A., Levkivska, N. D., Iglitskej, I. I. (2020). Effect of Butaselmavit-Plus on the immune system of piglets during and after weaning. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 347–352. doi: 10.15421/2020\_106.
- Ostapuyuk, A. Y., & Gutyj, B. V. (2020). Influence of milk thistle, methifene and sylimevit on the morphological parameters of laying hens in experimental chronic cadmium toxicosis. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 3(1), 42–46. doi: 10.32718/ujvas3-1.08.
- Zakon Ukrainy (2020). “Pro zahyst tvaryn vid zhorstokogo povodzhennja”. №3447-VI vid 13.02.2020 r. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15> (in Ukrainian).
- Zhyla, M. I., Kocjumbas, I. Ja., & Stronskyj, Ju. S. (2013). Osnovni pidhody do vychennja efektyvnosti veterynarnyh preparativ imunomoduljujuchoi dii. *Lviv. Naukovyj visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Gdzhyckogo*, 15, 1(55), 53–59. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2013\\_15\\_1%281%29\\_\\_12](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2013_15_1%281%29__12) (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9905

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616-001.5/073:612.12:636.7

## Evaluation of usage of silicon-doped hydroxyapatite ceramics for treatment of fragmented bone fractures in dogs

M. V. Rublenko<sup>1</sup>, V. A. Chemerovskiy<sup>1</sup>, V. G. Andriets<sup>1</sup>, N. V. Ulyanchich<sup>2</sup>, V. V. Kolomiets<sup>2</sup>, A. S. Koryak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

<sup>2</sup>Institute for Problems in Material Science NASU, Kyiv, Ukraine

### Article info

Received 02.09.2020

Received in revised form

30.09.2020

Accepted 01.10.2020

Bila Tserkva National Agrarian  
University, pl. 8/1 Soborna,  
Bila Tserkva, 09117, Ukraine.  
Tel.: +38-097-034-01-15  
E-mail: valerii.chemerovskiy@btsau.  
edu.ua

Institute for Problems  
in Material Science NASU,  
Krzhizhanovsky Str., 3, Kyiv,  
03142, Ukraine.

**Rublenko, M. V., Chemerovskiy, V. A., Andriets, V. G., Ulyanchich, N. V., Kolomiets, V. V., & Koryak, A. S. (2020). Evaluation of usage of silicon-doped hydroxyapatite ceramics for treatment of fragmented bone fractures in dogs. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 29–37. doi: 10.32718/nvlvet9905**

None of the methods of osteosynthesis provides the consolidation of bone fragments which have lost contact with soft tissues. It makes extremely difficult treating of this type fractures. Bone defect between the fragments and absence of a primary biological matrix complicates revascularization, causes long-term life of the connective tissue and cells of cartilaginous phenotype in the fracture zone. It is leads to a long-term consolidation of the fracture. Composites of hydroxyapatite and calcium phosphates are considered as bioactive and therefore the most promising for bone defects replacing. The aim of this investigation was clinical, radiological and hematological evaluation using of silicon-doped ceramics for fragmented bone fractures in dogs. For study was chosen dogs with accidental fragmented fractures of tubular bones which treated by extracortical osteosynthesis method. Animal was divided into two groups. A bone defects were filled with ceramics (GTIKg-3) for experimental animal group ( $n = 7$ ), while no filling of bone defects in control animal group ( $n = 7$ ) was performed. Protocol of anesthesia included medetomidine, butorphanol tartrate and epidural anesthesia with 2 % lidocaine solution. Animals of the control group began to lean on the injured limb from the 12–15th day after surgery, while the animal of research group from the 8–9th day. Complete limb repair in dogs of the control group occurred on the 38–42th day, but such period for experimental group animals was shorter – 25–27th day after the osteosynthesis. X-ray investigation (60th day) of experimental group dogs showed new formed bone tissue with osteosclerotic zones without a periosteal reaction, bone tissue, with a normal view of the epiphyseal areas and the bone marrow cavity. This is evidence of localized reparative osteogenesis (within bone trauma only), and completed fracture consolidation. At the same time in cases of the control group we found lower X-ray density of new bone, periosteum was thickened with excessive proliferation of the endosteum, especially below the site of bone injury. Thus, in case the absence of hydroxyapatite matrix in bone defects there were compensatory increasing proliferation of periosteum and endosteum. Fragmented fractures of tubular bones in dogs have occurred by erythrocytopenia, that quickly disappear due to the reparative osteogenesis in dog of experimental group. These animals have had leukocytosis increasing due to the first three days after osteosynthesis as a reaction to the implantation of a calcium-phosphorus composite material. Dogs of control group have had second wave of leukocytosis increasing on forty-second day associated with elongated remodeling process. Areparative osteogenesis can be accelerated in 1.5 times in case of replacement of bone defects with silicon doped hydroxyapatite ceramics. It is possibility realized thru moderate reduction of active phase of inflammation and acceleration of proliferative phase, mainly from endosteum side with early mineralization of bone regenerate. The dynamics of hematology parameters is a typical for the tubular bone consolidation that indicates about moderate inflammation and demonstrate biological tolerance of silicon-doped hydroxyapatite ceramics.

**Key words:** silicon-doped hydroxyapatite, ceramic, composite materials, osteosynthesis, bone fracture, erythrocytes, leukocytes, platelets, hemoglobin, dog.

## Клініко-рентгенологічна і гематологічна оцінка застосування кераміки, легованої кремнієм, за осколкових переломів кісток у собак

М. В. Рубленко<sup>1</sup>, В. О. Чемеровський<sup>1</sup>, В. Г. Андрієць<sup>1</sup>, Н. В. Ульянич<sup>2</sup>, В. В. Коломієць<sup>2</sup>, О. С. Коряк<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Інститут проблем матеріалознавства ім. І. Н. Францевича, м. Київ, Україна

Ні один зі способів остеосинтезу не забезпечує консолідації осколкових фрагментів кістки, які втратили зв'язок з м'якими тканинами, що надзвичайно ускладнює лікування переломів такого типу. Внаслідок кісткового дефекту між уламками відсутність первинної біологічної матриці ускладнює ревазуляризацію, зумовлює тривале функціонування в зоні перелому сполучотканинного і хрящового фенотипу клітин, що призводить до тривалої в часі консолідації перелому. Композити гідроксиапатиту і фосфатів кальцію, вважаються біоактивними, а тому найбільш перспективними для заміщення кісткових дефектів. Мета дослідження – клініко-рентгенологічна і гематологічна оцінка застосування кераміки, легованої кремнієм, за осколкових переломів кісток у собак. Сформували дослідну ( $n = 7$ ) і контрольну ( $n = 7$ ) групи собак із випадковими осколковими переломами довгих трубчастих кісток, у яких виконували екстракортикальний остеосинтез, а в дослідній кістковій дефекти заповнювали керамікою (ГТЛКг-3). Анестезіологічне забезпечення включало внутрішньом'язове введення медетомідину, буторфанолу тартрат та епідуральну анестезію 2 % розчином лідокаїну. Тварини контрольної групи починали опиратись на травмовану кінцівку із 12–15-ї доби, а дослідної – вже з 8–9-ї доби. Повне відновлення функції кінцівки в контрольній групі відбувалося на 38–42-у, а в дослідній – на 25–27-у добу після проведення остеосинтезу. На 60-ту добу в собак дослідної групи рентгенологічно досить чітко в ділянці кісткової травми візуалізувалася кісткова тканина з остеосклеротичними зонами без періостальної реакції з нормальною рентгенологічною картиною епіфізарних ділянок і кістковомозкової порожнини. Це було свідченням повної консолідації перелому та перебігом репаративного остеогенезу в межах лише кісткової травми. Натомість у контрольній групі на 60-у добу кістковий регенерат мав м'яку рентгенологічну щільність, періост був потовщеним з надмірною проліферацією ендостоу, особливо нижче ділянки кісткової травми. Тобто за відсутності заміщення кісткових дефектів композитними імплантатами відбувається компенсаторне посилення проліферації пері-та ендостоу. За осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак має місце помірна еритроцитопенія, яка досить швидко усувається в динаміці репаративного остеогенезу за використання в якості імплантів у кістковий дефект гідроксиапатитної кераміки, легованої кремнієм. У дослідних тварин в перші три доби після остеосинтезу лейкоцитоз посилюється як реакція на імплантацію кальцій-фосфорного композитного матеріалу, а в контрольних його посилення на 42-у добу пов'язане з процесами ремоделювання. У випадку заміщення кісткових дефектів за осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак керамікою на основі гідроксиапатиту і  $\beta$ -трикальційфосфату, легованої кремнієм, репаративний остеогенез прискорюється в 1,5 разу за рахунок скорочення його запально-резорбтивної стадії та прискорення проліферативної, головним чином з боку ендостоу з ранньою мінералізацією кісткового регенерату. Динаміка гематологічних показників є типовою для консолідації довгих трубчастих кісток у собак, що свідчить про відсутність вираженої реакції організму на імплантацію гідроксиапатитної кераміки, легованої кремнієм.

**Ключові слова:** гідроксиапатит, легований кремній, кераміка, композитні матеріали, остеосинтез, перелом кісток, еритроцити, лейкоцити, тромбозити, гемоглобін, собаки.

### Вступ

Оптимізація репаративного остеогенезу, особливо за складних переломів кісток, є ключовою проблемою та завданням ветеринарної травматології і ортопедії. Зокрема, частка серед них осколкових переломів у дрібних домашніх тварин як за даними зарубіжних, так і вітчизняних дослідників, може складати 25–60 % від загальної кількості травм апарату руху (Nojiria et al., 2015; Rublenko et al., 2012). При цьому значна кількість переломів виникає внаслідок травм нанесених автотранспортом – 56–80 %, менша частка – 19–21,5 % випадкових чи побутових травм і 3,7 % – з причин недостатньо верифікованих власниками.

Під дією травмуючого чинника за осколкових переломів здебільшого відбувається порушення цілісності кісткового мозку, періосту, ендостоу та близьколежачих м'язових тканин із порушенням живлення пошкодженої ділянки за рахунок розриву чи розміщення судинної сітки (Huminskiy & Korenkov, 2009). Все це є пусковим механізмом для розвитку гострої запальної реакції. Своєю чергою фаза запалення запускає як локальні, так і системні механізми забезпечення репаративної регенерації кісткової тканини (Dovhalevych, 2016). В перші хвилини після перелому активізуються фактори згортання крові, внаслідок

чого у місці перелому тромбуються пошкоджені судини з подальшим формуванням фібринового згустка, який є біологічною матрицею для подальших процесів проліферації кісткової тканини. Проте наявність кісткових дефектів за осколкових переломів суттєво ускладнює ці процеси у зв'язку з відсутністю кооперації їх уламків (Popsuishapka et al., 2015). Водночас ні один зі способів остеосинтезу не забезпечує консолідації осколкових фрагментів кістки, які втратили зв'язок з м'якими тканинами, що надзвичайно ускладнює лікування переломів такого типу.

Репаративна регенерація кісткової тканини – це складний молекулярно-біологічний і клітинний процес, за якого одночасно відбуваються процеси резорбції за рахунок остеокластів та синтезу і ремоделювання нової кісткової тканини за дії остеобластів з подальшою її осифікацією та біологічною імплантацією в кістковий матрикс остеокитів (Bumeister et al., 2008; Nutyny, 2015). За раціонального остеосинтезу травмована ділянка кістки відновлюється до ідентичної тканини, яка була до травми (Oryan et al., 2015; Hololobov, 2019). Наявність кісткових дефектів призводить до порушень спільного ендостального і періостального живлення (Yurova et al., 2020) та відповідно до втрати регенеративного потенціалу кісткової тканини і, як наслідок, до незрошення, розвитку псев-

досуглобів чи виникнення остеомієліту (Laurent et al., 2019; Nagi et al., 2020). Здебільшого у вітчизняній ветеринарній ортопедії застосовують методи інтрамедулярного, одно- чи двостороннього позавогнищевого остеосинтезу або ж комбінують інтрамедулярний з позавогнищевим (Rublenko et al., 2015). Проте за інтрамедулярного остеосинтезу осколкових переломів нерідко мають місце міграція штифтів, ротаційні рухи кісткових уламків, недостатня поздовжня підтримка, внаслідок чого виникає укорочення кінцівки, незрощення чи деформація кістки, періостити та ектопічна мінералізація м'яких тканин близько ділянки травми, а також остеомієліти (Priyanka et al., 2019). За використання апаратів зовнішньої фіксації можливе інфікування місць імплантації шпиль, надмірна реакція м'яких тканин з утворенням спайок, остеомієліту, а також необхідний постійний антисептичний догляд за елементами конструкції (Luis et al., 2018). У будь-якому разі внаслідок кісткового дефекту між уламками відсутність первинної біологічної матриці ускладнює реваскуляризацію, зумовлює тривале функціонування в зоні перелому сполучнотканинного і хрящового фенотипу клітин, що призводить до тривалої в часі консолідації перелому з низкою перерахованих ускладнень.

У зв'язку з вищезазначеним ключовим завданням в оптимізації репаративного остеогенезу за осколкових переломів є остеопластика для заміщення і відновлення структурної цілісності та підвищення регенеративного потенціалу кісткової тканини. В регенеративній хірургії дефектів кісткової тканини виділяються (Shastov et al., 2019) такі основні напрями: вільна пластика, що передбачає застосування кісткових ауто-чи аллоімплантів, заміщення дефектів композитними матеріалами з різними остеотропними властивостями, невелику остеопластику на основі компресійно-дистракційного остеосинтезу та їх комбінації.

Хоча використання аутоімплантів для заміщення кісткових дефектів все ще залишається “золотим стандартом”, проте вони мають низку суттєвих недоліків, таких як біоетичні проблеми, додаткова травма, достатньо високий ризик інфікування, складності в проведенні процедур одержання і зберігання, вікові аспекти тощо.

Композитні матеріали, які застосовуються під час лікування переломів з кістковими дефектами, повинні володіти остеокондуктивними, остеоіндуктивними, остеointegraційними та остеогенними властивостями (Reznik et al., 2018). Найбільшою мірою цим вимогам відповідають такі групи матеріалів: 1) біоорганічні – демінералізований кістковий матрикс, колаген, фібринові композити; 2) керамічні матеріали – оксиди алюмінію та цирконію, гідроксиапатитні композити; 3) синтетичні полімери – поліметилметакрилат, поліліколід, полідіаксанон; 4) багатокомпонентні різних типів.

Оскільки основними неорганічними елементами кісткової тканини є гідроксиапатит і фосфати кальцію, то вони та їх композити вважаються біоактивними і найперспективнішими для заміщення кісткових дефектів (Talal et al., 2020). Наразі на ринку представ-

лені зарубіжні та вітчизняні імплантаційні матеріали на основі гідроксиапатиту,  $\beta$ -трикальційфосфату чи  $\alpha$ -трикальційфосфату (Talashova et al., 2012; Huryn et al., 2012; Shumilovaa et al., 2014; Rahmati et al., 2018), які, однак, потребують суттєвого клініко-експериментального обґрунтування.

Зокрема, нами (Rublenko et al., 2018; Chemerovskiy, 2020) на модельних переломах у кролів було вивчено остеointegraційні властивості низки зразків гідроксиапатитної кераміки з різними фізико-хімічними характеристиками та визначено перспективність для клінічної апробації кераміки типу (ГТЛКг-700, що являє собою відмиті двофазні гранули, леговані кремнієм, які складаються з 70 % гідроксиапатиту і 30 %  $\beta$ -трикальційфосфату, витримані при температурі 850°C з розміром гранул 700 мкм).

*Мета дослідження* – клініко-рентгенологічна і гематологічна оцінка застосування кераміки, легованої кремнієм, за осколкових переломів кісток у собак.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження виконували на собаках ( $n = 14$ ) із випадковими осколковими переломами довгих трубчастих кісток, які надходили протягом 2018–2019 року до клініки дрібних домашніх тварин факультету ветеринарної медицини Білоцерківського НАУ. Найбільша частка цих переломів виникала внаслідок травм, нанесених автомобільним транспортом – 64 % ( $n = 9$ ), меншу частку становили переломи, зумовлені травмуванням іншими тваринами – 22 % ( $n = 3$ ) і 14 % ( $n = 2$ ) – з причин, недостатньо верифікованих власниками собак.

Дослідження проводились за згоди власників тварин та відповідно до Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” від 28.03.2006 р № 27, ст. 230 і правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 18.03.1986 р. № 994\_137. та Наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. “Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах”. Проект цих досліджень був схвалений Етичним комітетом Білоцерківського НАУ з питань поводження з тваринами у наукових дослідженнях та освітньому процесі (висновок № 2 від 31.05.18 р., протокол № 1).

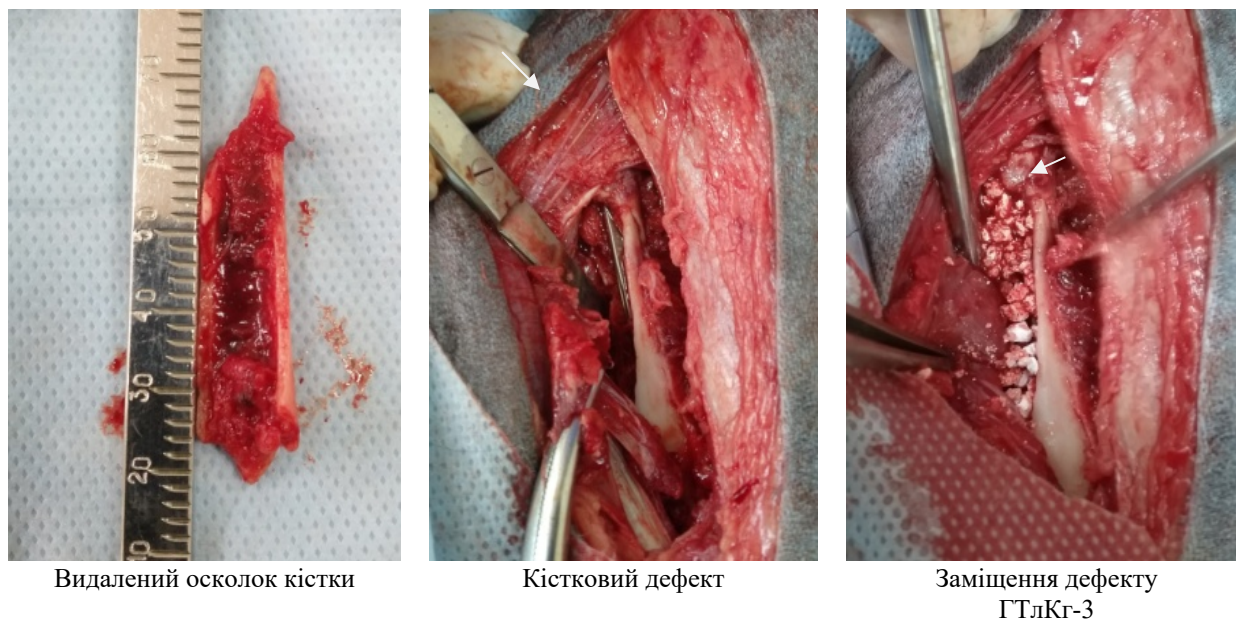
Травмованих тварин розділили на контрольну ( $n = 7$ ) та дослідну ( $n = 7$ ) групи. Діагноз на перелом встановлювали за клінічними ознаками та на підставі рентгенологічних досліджень, проведених на рентгенапараті РУМ-20. Отримані рентгензнімки відцифрували на електронний носій (AGFA. Healthcare N. V. CR 10-X, Німеччина).

За виконання остеосинтезу анестезіологічне забезпечення включало внутрішньом'язове введення медіомідину (20 мг/кг, медісон, Бровафарма), буторфанолу тартрат (0,1 мг/кг), бутолар 300) та епідуральну анестезію 2 % розчином лідокаїну (3 мг/кг). Для підтримання анестезії внутрішньовенно вводили розчин тіопенталу натрію (7 мг/кг, тіопенат, Бровафарма).

Після проведення оперативного доступу до ділянки перелому видаляли осколки (рис. 1) і гравіметрично визначали об'єм кісткового дефекту шляхом заповнення його порожнини пластичною масою альгінату натрію, (порошок альгінату змішували із стерильним 0,9 % розчином NaCl у співвідношенні 1 : 2 за температури 23 °C). Після затвердіння його маси вилучали з дефекту та поміщали у мірний циліндр з водою. За об'ємом витісненої води встановлювали об'єм дефекту, який у тварин обох груп коливався у межах  $1,9 \pm 0,05 \text{ см}^3$ .

У контрольній і дослідній групах виконували екстракортикальний остеосинтез опорною пластиною із

нелегованого титанового сплаву. У контрольній групі кісткові дефекти залишали загоюватись під кров'яним згустком, а у дослідній заміщували керамікою на основі гідроксиапатиту з 30 %  $\beta$ -трикальційфосфату, легovanого кремнієм (ГТлКг-3), виготовленого в Інституті матеріалознавства ім. І. Н. Францевича (м. Київ). Рани після встановлення дренажу із поліпропіленової трубки ушивали вузлуватим швом, а тваринам у післяопераційний період призначали курс антибіотикотерапії (цефтріаксон 10 мг/кг двічі на добу протягом 7 діб).



**Рис. 1.** Макроморфологічна картина етапів остеосинтезу і заміщення кісткового дефекту керамікою у дослідній групі

Проби крові відбирали після травми не пізніше 48-ї доби, та на 3-, 12-, 21-, 42- та 60-у добу після остеосинтезу. Для підвищення об'єктивності гематологічного аналізу додатково сформували контрольну групу із клінічно здорових собак, які надходили в клініку дрібних домашніх тварин Білоцерківського НАУ для проведення планової вакцинації ( $n = 10$ ). В післяопераційний період клінічні дослідження проводили за критеріями загального стану тварин, терміном зникнення набряку і болючості, початку опирання та повного відновлення функцій травмованої кінцівки. Рентгенологічну оцінку репаративного остеосинтезу виконували на 42- та 60-у добу, гематологічне дослідження виконували загальноприйнятими методами, із визначенням у крові еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів та гемоглобіну – після травми та на 3-, 12-, 21-, 42- та 60-у добу. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою програми (StatPOLRoms).

### Результати дослідження

**Клінічні дослідження.** Після остеосинтезу в тварин обох груп дія загальних анестетиків поступово

припинялась через 30–40 хв. Через 4–7 годин тварини приймали природне положення тіла у просторі, проте не опиралися на травмовану кінцівку. На 1-у добу після операції в усіх тварин у ділянці операційної травми проявлялась помірна запальна реакція, яка супроводжувалася набряком тканин і місцевим підвищенням температури, виділенням серозного ексудату із нижньої частини дренажу. На 3-ю добу підвищення температури в ділянці травми не виявляли, через дренаж дещо просочувався серозний ексудат. На 4-у добу після оперативного втручання виділень серозного ексудату не спостерігали, після чого дренаж знімали.

На 7–9-у добу після операційного періоду набряк та болючість були відсутні, краї ран утримувалися сполучнотканинною спайкою в стані епітелізації, що є підставою для зняття швів. Тварини контрольної групи починали опиратись на травмовану кінцівку із 12–15-ї доби, а дослідної – вже з 8–9-ї доби. Повне відновлення функції кінцівки у контрольній групі відбулося на 38–42-у, а в дослідній – на 25–27-у добу після проведення остеосинтезу.

**Рентгенологічні дослідження.** На рентгенограмах після проведеного екстракортикального остеосинтезу

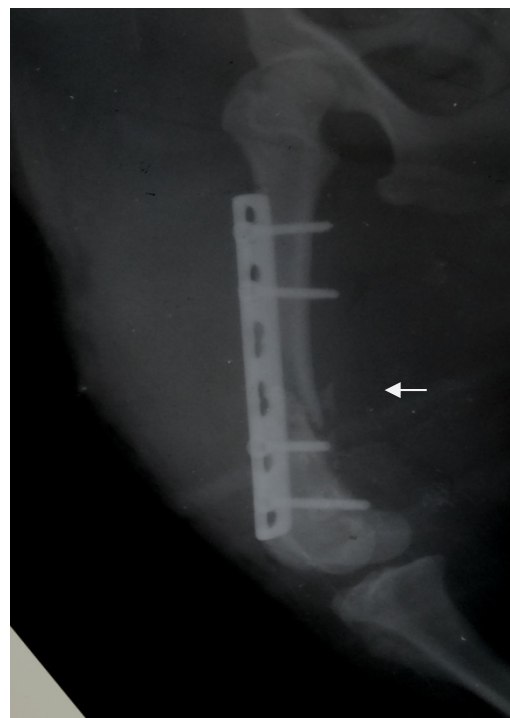


і заміщення у дослідній групі кісткового дефекту керамікою констатували анатомічно точну репозицію проксимальних і дистальних ділянок стегнової кістки

із максимально кооптованими краями перелому один до одного (рис. 2). В дослідній групі у місці дефекту виявляли наявність гранул керамічного композиту.



А) дослідна

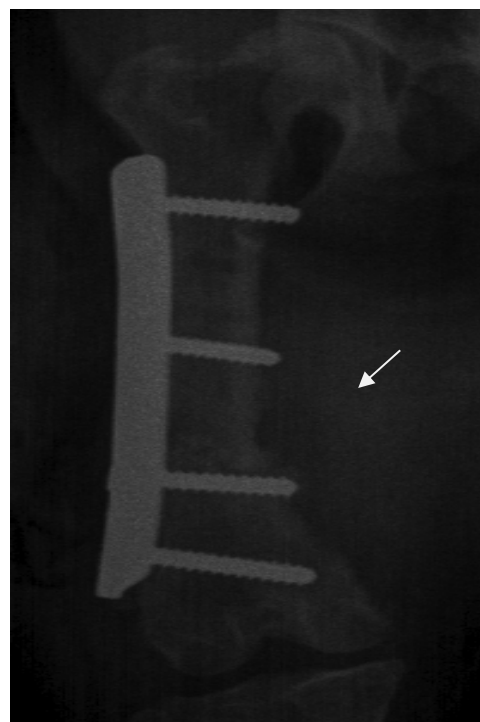


Б) контрольна

**Рис. 2.** Рентгенограми стегнової кістки собаки після остеосинтезу: А – дослідна; Б – контрольна групи



А) дослідна



Б) контрольна

**Рис. 3.** Рентгенограми стегнової кістки собаки на 42-у добу після остеосинтезу: А – дослідна; Б – контрольна групи

Рентгенологічно на 42-у добу (рис. 3) після остеосинтезу в дослідній групі кістковий дефект був виповнений кістковим регенератом досить високої щіль-

ності з помірною періостальною реакцією в межах кісткової травми.

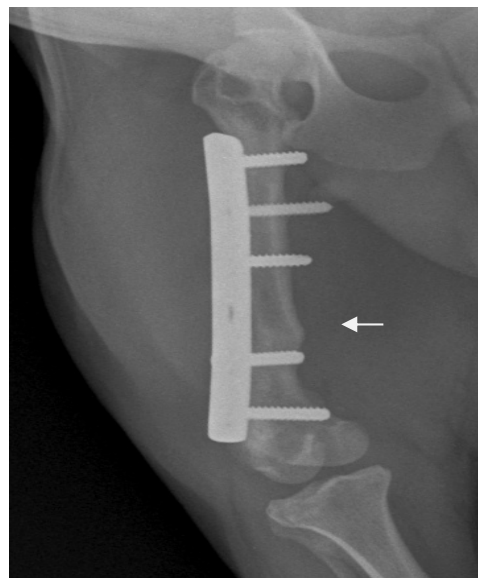
Водночас у контрольній групі в цей період кістковий регенерат мав вигляд неоднорідного, різної щільності утворення, проксимально і дистально від якого кісткова тканина характеризувалась явищами плямистого остеопорозу з яскраво вираженою грубо структурованою періостальною реакцією, особливо дистально від місця перелому. Тобто в цей період досліджень у собак контрольної групи мали місце досить виражені запально-резорбтивні процеси.

На 60-у добу (рис. 4) в собак дослідної групи рентгенологічно досить чітко в ділянці кісткової травми візуалізувалися кісткова тканина з остеосклеротични-

ми зонами без періостальної реакції, з нормальною рентгенологічною картиною епіфізарних ділянок і кістковомозкової порожнини. Це було свідченням повної консолідації перелому та перебігом репаративного остеогенезу в межах лише кісткової травми. Натомість у контрольній групі на 60-у добу кістковий регенерат мав меншу рентгенологічну щільність, періост був потовщеним з надмірною проліферацією ендостоу, особливо нижче ділянки кісткової травми. Тобто за відсутності заміщення кісткових дефектів композитними імплантатами відбувається компенсаторне посилення проліферація пері-та ендостоу.



А) дослідна



Б) контрольна

**Рис. 4.** Рентгенограми стегнової кістки собаки на 60-у добу після остеосинтезу: А – дослідна; Б – контрольна група

**Гематологічні дослідження.** У собак із осколковими переломами довгих трубчастих кісток у перші 48 годин після виникнення перелому виявляли (табл. 1) зменшення в 1,2 разу ( $P < 0,001$ ) кількості еритроцитів після травми порівняно із показником клінічно здорових тварин. Дещо в меншій мірі – в 1,1 разу ( $P < 0,05$ ) виявилась зниженою кількість гемоглобіну. При цьому вміст у крові тромбоцитів зменшився не вірогідно, а кількість лейкоцитів збільшилась в 1,3 разу ( $P < 0,01$ ) порівняно з клінічно здоровими тваринами. Такі гематологічні зміни насамперед пов'язані з крововиливом у ділянці перелому, який у випадку травм довгих трубчастих кісток досить великий за об'ємом. Також виникає гостра запальна реакція, про що свідчить збільшення кількості лейкоцитів.

За аналізу кількості еритроцитів у крові собак в динаміці репаративного остеогенезу виявили такі зміни: в дослідній групі на 3-ю добу вона залишилася на попередньому рівні, а у контрольній спостерігали суттєву тенденцію до її зниження. У контрольних тварин низькі показники кількості еритроцитів утримувалася аж до 42-ї доби, тимчасом як у дослідних їх відновлення до меж фізіологічної норми відбулося вже на 12-у добу.

Дещо подібною виявилась і динаміка вмісту в крові гемоглобіну, проте всі його зміни відбувалися у межах фізіологічної норми. При цьому в період 3-ої та 42-ої доби його рівень у тварин дослідної групи вірогідно був вищим – у 1,1 разу ( $P < 0,05-0,01$ ). Тобто за осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак має місце помірна еритроцитопенія, яка досить швидко усувається в динаміці репаративного остеогенезу за використання в якості імплантів у кістковий дефект гідроксиапатитної кераміки, легованої кремнієм.

Хоча в цілому лейкоцитарна реакція в процесах консолідації переломів відбувалася в межах показників фізіологічної норми, проте перші три доби вона все ж таки мала ознаки помірного патофізіологічного лейкоцитозу, більш тривалого, із двома піками, у контрольних тварин. Зокрема, після травмування кісток кількість лейкоцитів у крові собак збільшувалась в 1,3 разу ( $P < 0,01$ ). На 3-ю добу після остеосинтезу в дослідних тварин вона досягала рівня  $13,4 \pm 0,6$  Г/л, що було більше в 1,3 разу ( $P < 0,01$ ), ніж у контрольних. Надалі цей показник у перших динамічно зменшився і коливався в межах фізіологічної норми, а у других – мав ще один пік лейкоцитарної реакції на 42-у добу –  $11,5 \pm 0,5$  Г/л. Тобто в до-

слідних тварин у перші три доби після остеосинтезу лейкоцитоз посилюється як реакція на імплантацію кальцій-фосфорного композитного матеріалу, а в контрольних свідчить про його посилення у зв'язку з процесами ремоделювання.

Тромбоцитарна реакція також мала фізіологічний характер, а більша кількість тромбоцитів в 1,2 разу ( $P < 0,05$ ) в дослідних тварин у період 12-ої доби спонукає до думки про дещо ефективнішу реалізацію у них тромбоцитарних факторів росту в репаративному остеогенезі.

**Таблиця 1**

Динаміка гематологічних показників за репаративного остеогенезу у собак

Терміни дослідження, доба	Показники	Еритроцити, Т/л	Гемоглобін, г/л	Лейкоцити, Г/л	Тромбоцити, Г/л
		(5–8,5)	(110–170)	(8,5–10,5)	(250–550)
	Клінічно здорові (n = 10)	5,7 ± 0,08	136,4 ± 1,3	8,5 ± 0,21	298 ± 15,8
	Після травми (n = 14)	4,7 ± 0,16	126,4 ± 4,0	11,4 ± 0,76	287,3 ± 15,3
3-я	I	4,5 ± 0,3	126,9 ± 3,3*	13,4 ± 0,6**	317,2 ± 20,3
	II	4,2 ± 0,19	112,5 ± 4,8	10,5 ± 0,6	277,4 ± 20,8
12-а	I	5,1 ± 0,1**	132,7 ± 6,0	11,4 ± 0,7	271,2 ± 9,1*
	II	4,3 ± 0,2	124,2 ± 5,1	11,6 ± 0,4	231,2 ± 9,6
21-а	I	4,7 ± 0,1	128,6 ± 2,8	10,1 ± 0,6	268 ± 5,5
	II	4,6 ± 0,1	123,5 ± 1,2	10,2 ± 0,4	272,4 ± 14,7
42-а	I	5,2 ± 0,08**	153,2 ± 3,9**	9,7 ± 0,2**	293,8 ± 5,4
	II	4,7 ± 0,1	136,5 ± 1,9	11,5 ± 0,5*	291,5 ± 16,6
60-а	I	5,5 ± 0,1***	136,4 ± 7,5	10,1 ± 0,4*	260,7 ± 5,5
	II	4,9 ± 0,08	144,5 ± 4,0	9,4 ± 0,2	259,7 ± 9,4

Примітки: 1) I – дослідна (n = 7), II – контрольна (n = 7) групи; 2) значення P: \* – < 0,05; \*\* – < 0,01; \*\*\* – < 0,001

### Обговорення

Репаративний остеогенез у разі складних осколкових переломів із дефектами кісткової тканини після того чи іншого методу остеосинтезу відбувається за вторинним типом загоєння. Проте навіть за незначних дефектів його стадії подовжуються залежно від ступеня порушення ендоостального чи періостального живлення, а відповідно і втрати репаративного потенціалу кісткової тканини. У зв'язку з цим насамперед переломи такого типу, крім використання раціональних біомеханічно обґрунтованих способів і засобів остеосинтезу, потребують застосування лікувальних принципів регенеративної медицини.

Незважаючи на здатність низки біологічних матеріалів (ембріональна кісткова тканина, мезенхімальні стовбурові клітини, тромбоцитарні концентрати і кісткові морфогенетичні білки) відновлювати регенеративний потенціал кісткової тканини (Bulatov et al., 2005; Yongseok et al., 2018; Blazhenko et al., 2019), вони потребують наявності матриці – носія з остеокондуктивними властивостями і оптимальними біомеханічними характеристиками. Своєю чергою композитні матеріали, які імплантують у місці кісткового дефекту, також повинні мати властивості індукувати процеси ангиогенезу, що сприяло б утворенню судинної сітки у місці перелому і відновленню живлення.

Кераміка на основі гідроксиапатиту і β-трикальційфосфату, яка попередньо була апробована нами (Rublenko et al., 2015) в серії експериментів і на клінічному матеріалі, володіє вираженими остеокондуктивними та остеointegraційними властивостями, але не остеоіндуктивними. Останніх можна досягти за рахунок легування композиту такими мікроелементами, як Магній, Цинк, Мідь, Кремній, Германій (Neill et al., 2018). Серед них перспективним вважається

Кремній, оскільки він фізіологічно пришвидшує процеси остеогенезу за рахунок його участі в індукції активного росту остеобластів, в синтезі кісткового колагену, незалежного від вітаміну D, та кристалізації гідроксиапатиту (Kartel et al., 2015).

При цьому клініко-рентгенологічні дослідження верифікують динамічність процесів консолідації переломів кісток з дефектами, що виражається у скороченні запально-резорбтивної стадії репаративного остеогенезу із залученням в нього меншого об'єму кісткової тканини за межами травми, переважному формуванню кісткового регенерату за рахунок ендоостального остеогенезу та ранньої його мінералізації. При цьому, зважаючи на результати попередніх досліджень (Smurna, 2009) щодо імплантації гідроксиапатитної кераміки за осколкових переломів у собак, можна констатувати, що включення до неї іонів Кремнію, надає їй остеоіндуктивних властивостей. Поряд з цим апробований керамічний композит не зумовлює реактивних змін в організмі, про що свідчать результати гематологічних досліджень, а наявні зміни картини крові є типовими для травм кісток і процесу їх консолідації у собак, що узгоджується з даними попередніх дослідників (Pustovit, 2008; Rublenko et al., 2013).

### Висновки

1. У випадку заміщення кісткових дефектів за осколкових переломів трубчастих кісток у собак керамікою на основі гідроксиапатиту і β-трикальційфосфату, легованої кремнієм, репаративний остеогенез прискорюється в 1,5 разу за рахунок скорочення його запально-резорбтивної стадії та прискорення проліферативної, головним чином з боку

ендоосту з ранньою мінералізацією кісткового регенерату.

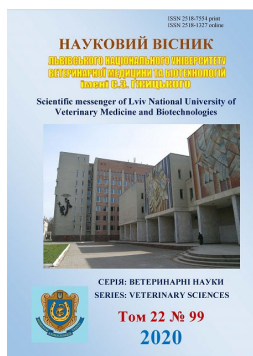
2. Динаміка гематологічних показників є типовою для консолідації довгих трубчастих кісток у собак, що свідчить про відсутність вираженої реакції організму на імплантацію гідроксиапатитної кераміки, легованої кремнієм.

3. Кераміка ГТлКг-3 є перспективним композитним матеріалом за лікування складних осколкових переломів у собак з можливістю більш широкого використання після молекулярно-біологічного і гістоморфологічного обґрунтування.

## References

- Nojiria, A., Nishidoa, T., Horinakaa, O., Akiyoshib, H., Ohashib, F., & Yamaguchia, T. (2015). Initial Clinical Application and Results of the Advanced Locking Plate System (ALPS) in Small Animal Orthopedics: Two Hundred Eighty Two Procedures. *Intern J Appl Res Vet Med*, 13(1), 64–79. URL: <https://www.jarvm.com/articles/Vol14Iss1/Vol14%20Iss1Nojiri.pdf>.
- Rublenko, S. V., & Yeroshenko O. V. (2012). Monitoryng veterynarnoi dopomohy i struktura khirurhichnoi patolohii sered dribnykh domashnikh tvaryn v umovakh miskoi kliniky. *Visnyk Sumskoho NAU*, 1(30), 150–154 (in Ukrainian).
- Huminskyi, Yu. I., & Korenkov, O. V. (2009). Suchasni aspekty ekomorfolohii reparatyvnoho osteoheneza. *Visnyk Sumskoho derzhavnoho universytetu*, 2(1), 17–23 (in Russian).
- Dovhalevych, Y. Y. (2016). Narushenye reparatyvnoho osteoheneza pry unfytsyrovannykh defektakh trubchatsykh kostei. *Repozytoryi BHMU*, 4, 76–80 (in Russian).
- Popsuishapka, O. K., Litvishko, O. V., & Ashukina, N. O. (2015). Kliniko-morfolohichni stadii protsesu zroshchennia vidlamkiv kistky. *Ortopediya, travmatolohiya y protezyrovanye*, 1, 12–20. doi: 10.15674/0030-59872015112-20 (in Russian).
- Bumeister, V. I., & Pohorielov, M. V. (2008). Suchasnyi pohliad na reparatyvnyi osteohenez. *Svit medytsyny ta biolohii*, 4, 104–110. (in Ukrainian).
- Nutyny, A. (2015). Teoretycheskaia model perestroiky kostnoi tkany. *Rosyyskyi zhurnal byomekhaniky*, 19(4), 385–397. doi: 10.15593/RZhBiomeh/2015.4.05 (in Russian).
- Oryan, A., Monazzah, S., & Bigham-Sadegh, A. (2015). Bone Injury and Fracture Healing Biology. *Biomed Environ Sci*, 28(1), 57–71. doi: 10.3967/bes2015.006.
- Hololobov, V. H. (2019). Reheneratsionnyj endoossalnyj osteohistohenez kak sostavliaiushchyi protsess posttravmatycheskoi osteoreparatsyi. *Hystohenez y reheneratsiya tkanei*, 3, 105–107 (in Russian).
- Yurova, K. A., Khazyakhmatova, O. H., Malashchenko, V. V., Norkyn, Y. K., Yvanov, P. A. ta in. (2020). Cellular-molecular aspects of inflammation, angiogenesis and osteogenesis. A short review. *Tsytolohiya*, 62(5), 305–315. doi: 10.31857/S0041377120050090 (in Russian).
- Nagi, A. M., Hassan, E. A., Al-Mokaddem, A. K., Azeem, A. E., & Hamid1, A. A. (2020). Osteogenic Potential of 3-D printed Multilayered Poly L-lactic Acid (PLLA) Scaffold on the Healing of Critical-sized Bone Defect in Dogs. *Int J Vet Sci*, 1, 20–26. doi: 10.37422/IJVS/039.
- Laurent, P. G., Reunan, P. G., & Loic M. D. (2019). Minimally invasive percutaneous medial plate rod osteosynthesis for treatment of bicondylar humeral fractures in dogs: Surgical technique and case rep ort. *Veterinary Surgery*, 48, O34–O40. doi: 10.1111/vsu.13196.
- Priyanka, T. S., Mohindroo, J., Pallavi, V., Udheiya, R., & Umeshwori, N. (2019). Evaluation of intramedullary pinning technique for management of tibia fractures in dogs. *The Pharma Innovation Journal*, 8(2), 291–297. URL: <http://www.thepharmajournal.com/archives/2019/vol8issue2/PartE/8-2-24-179.pdf>.
- Luis, G. G. G. D., João, G. P. F., Maria, E. B. A. M. C., Fernanda, G. G. D., & Virginia, T. B. (2018). Description and post-operative evaluation of tie-in technique in tibial osteosynthesis in dogs. *Pesq. Vet. Bras*, 38(7), 1376–1381. doi: 10.1590/1678-5150-PVB-5543.
- Shastov, A. L., Kononovych, N. A., & Horbach, E. N. (2018). Problema zameshhenija posttravmaticheskikh defektov dlinnykh kostej v otechestvennoj travmatologo-ortopedicheskoy praktike (obzor literatury). *Genij Ortopedii*, 24(2), 252–257. doi: 10.18019/1028-4427-2018-24-2-252-257 (in Russian).
- Reznik, L. B., Erofeev, S. A., Stasenko, I. V., & Borzunov, D. Yu. (2019). Morphological assessment of osteointegration of various implants for management of long bone defects (experimental study). *Genij Ortopedii*, 25(3), 318–323. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-318-323.
- Talal, A., Hamid, S. K., Khan, M., Khan, A. S., Dentistry, C. et al. (2020). Structure of biological apatite: bone and tooth.1 *Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites*, 1, 1–20. doi: 10.1016/B978-0-08-102834-6.00001-X.
- Rahmati, M., Pennisi, C. P., Budd, E., Mobasheri, A., & Mozafari, M. (2018). Biomaterials for Regenerative Medicine: Historical Perspectives and Current. *Adv Exp Med Biol – Cell Biology and Translational Medicine*, 4, 1–19. doi: 10.1007/5584\_2018\_278.
- Talashova, Y. A., Sylanteva, T. A., Kononovych, N. A., & Luneva, S. N. (2012). Otsenka byosovmestymosty implantatsionnykh kaltsij-fosfatnykh materialov v zavisimosti ot ikh mineralnogo sostava. *Biulleten sibirskoi medytsyny*, 3, 62–69 (in Russian).
- Shumilovaa, A. A., & Shishatskayaa, E. I. (2014). Materials for Restoration of Bone Tissue. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 7, 209–221. URL: <http://elib.sfu-kras.ru/handle/2311/13407>.
- Hurn, A. N., Komlev, V. S., Fadeeva, Y. V., Petrakova, N. V., & Varda, N. S. (2012). Sravnitelnoje issledovanije zameshchenija defektov kostnoj tkani osteoplasticheskimi materialami na osnove  $\alpha$ - y  $\beta$ -trykaltsiyfosfata. *Stomatolohija*, 6, 16–21 (in Russian).
- Chemerovskiy, V. O. (2020). Renthenohrafichna, makromorfolohichna i hematolohichna otsinka hidrokisyapatytnoi keramiky z riznymy fizyko-

- khimichnymy vlastyvyostyamy. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny*, 1, 140–152. doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-140-152 (in Ukrainian).
- Rublenko, M. V., Chemerovskyi, V. O., Vlasenko, V. M., & Ulianchych, N. V. (2018). Otsinka osteointehratsiinykh i osteoinduktyvnykh vlastyvyostei keramiky, lehovanoi kremniem, za modelnykh perelomiv stehnovoi kistky u kroliv. *Naukovyi visnyk BNAU*, 2, 37–46. doi: 10.33245/2310-4902-2018-144-2-37-46 (in Ukrainian).
- Blazhenko, A. N., Rodyn, Y. A., Ponkina, O. N., Mukhanov, M. L., & Samoilova, A. S. (2019). Vlijanie A-PRP terapii na reparativnye regenerativnoy kostnoj tkani pri svezhih perelomah kostej konechnostej. *Innovacionnaja medicina Kubani. Innovatsionnaya meditsina Kubani*, 15, 32–38. doi: 10.35401/2500-0268-2019-15-3-32-38 (in Russian).
- Yongseok, Y., Imdad, U. K., Kyeong, U. C., Taeseong, J., Kwangrae, J., et al. (2018). Different Bone Healing Effects of Undifferentiated and Osteogenic Differentiated Mesenchymal Stromal Cell Sheets in Canine Radial Fracture Model. *Tissue Eng Regen Med*, 15(1), 115–124. doi: 10.1007/s13770-017-0092-8.
- Bulatov, A. A., Saveleva, Y. V., & Kalynyn, A. V. (2005). Primenenie kostnyh morfogeneticheskikh belkov v jeksperymente i klinike. *Travmatologija i ortopedija rossii*, 1(34), 46–54 (in Russian).
- Rublenko, M. V., Dudka, V. B., & Semeniak, S. A. (2015). Morfo-rentgenologichna i biokhimichna kharakterystyky reparatyvnoho osteohenezu za zamishchennia kistkovykh defektiv biominom HT u tvaryn. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny*, 1, 98–106 (in Ukrainian).
- Neill, O. E., Awale, G., Daneshmandi, L., Obum, U., & Kevin, L. (2018). The roles of ions on bone regeneration. *Drug Discovery Today*, 23(4), 279–290. doi: 10.1016/j.drudis.2018.01.049.
- Kartel, M., Zhukovtseva, O., Malanchuk, V., Kiselov, V., Aleksyeyeva, T., & Wang, B. (2015). Nanocomposite based on SiC/Si: a new biomorphic material for maxillofacial surgery (experimental studiens), *Poverhnost'*, 7(22), 311–316. URL: <http://dspace.nbu.gov.ua/handle/123456789/148501>.
- Rublenko, M. V., Andriiets, V. H., Semeniak, S. A., Ulianchych, N. V. ta in. (2015). Vykorystannia kompozytnykh materialiv za perelomiv trubchastykh kistok u tvaryn. *Bila Tserkva* (in Ukrainian).
- Smurna, O. V. (2009). Zastosuvannia ekstrakortykalnogo osteosyntezy ta hidroksylapatytu “kerhap” pry perelomakh klubovoi kistky u sobak: avtoref. dys. na zdobuttia nauk. stupenia kand. vet. nauk: spets. 16.00.05 “Veterynarna khirurgiia”. *Bila Tserkva* (in Ukrainian).
- Rublenko, M. V., Yeroshenko, O. V. (2013). Hematologichni ta biokhimichni aspekty farmakologichnoi optymizatsii reparatyvnoho osteohenezu traneksamovoiu kyslotoiu ta atselizynom. *Veterynarna medytsyna*, 97, 346–349 (in Ukrainian).
- Pustovit, R. V. (2008). Hemostaz ta yoho korektsiia pry perelomakh trubchastykh kistok u sobak: avtoref. dys. na zdobuttia nauk. stupenia kand. vet. nauk: spets. 16.00.05 “Veterynarna khirurgiia” *Bila Tserkva* (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9906

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:636.7:616.993.192.6:616-06:615.225.1-3:615.035.1

## Plasma replacement solutions in the intensive care unit of shock for acute spontaneous canine babesiosis

O. A. Dubova, D. V. Feshchenko, I. Yu. Goralska, A. A. Duboviy, O. A. Zghozinska, I. V. Chala

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

### Article info

Received 02.09.2020

Received in revised form

30.09.2020

Accepted 01.10.2020

Polissia National University,  
Korolyova Str., 39, Zhytomyr,  
10025, Ukraine.  
Tel.: +38-098-788-55-95  
E-mail: [oxdubova@gmail.com](mailto:oxdubova@gmail.com)

*Dubova, O. A., Feshchenko, D. V., Goralska, I. Yu., Duboviy, A. A., Zghozinska, O. A., & Chala, I. V. (2020). Plasma replacement solutions in the intensive care unit of shock for acute spontaneous canine babesiosis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 38–44. doi: 10.32718/nvlvet9906*

The article presents the results of studies on the study of secondary processes that develop during acute spontaneous babesiosis in dogs, as well as on the use of infusion therapy with plasma substitutes for the development of shock as a complication of the underlying disease. It is shown that acute blood parasitic disease is accompanied by the development of moderate subcompensated shock, which determines the state of unstable equilibrium and the tendency to avalanche-like disorders due to the transition of the process to the decompensated phase. The basis for the diagnosis of the shock state was the establishment of the following hemodynamic and hemorheological changes: hypovolemia with a decrease of all blood components (shaped elements and plasma components) in the circulation, a significant decrease in the specific volume of circulating blood, hematocrit value, a significant increase in spontaneous aggregation of shaped blood elements (platelets and red blood cells), hypotension, an increase in the Alghöver shock index by almost 2 times. There was a significant deficit in the volume of circulating blood (the degree of blood loss), which was about 30 %. It is shown that the presence of a state of shock in the subcompensation stage poses a threat to the life of the animal in the event of transition to the terminal stage. In order to stop the development of shock, infusion therapy was used with the most common plasma-substituting solutions – Rheopolyglucin and Rheosorbilact at a dose of 5 ml/kg of body weight intravenously drip per day for 3 days. A comparative assessment of the effect of drugs on the correction of major hemodynamic and hemorheological shifts was carried out. It was found that Rheopolyglucin as a colloidal plasma substitute has a better effect on the normalization of hemodynamic disorders – hypovolemia and hypotension, and Rheosorbilact as a crystalloid plasma substitute turned out to be the best disaggregant and reducing agent of hemorheological disorders. Both drugs provided a complete recovery of hemodynamic and hemorheological parameters in 72 hours. As a result, it is recommended to use a combination of drugs with the priority of Rheopolyglucin in the first hours of treatment and combine it with an infusion of Rheosorbilact in subsequent days.

**Key words:** acute spontaneous canine babesiosis, shock, plasma-substitute, Rheopolyglucinum, Rheosorbilact, colloidal solution, crystalloidal solution.

## Плазмозамінні розчини у інтенсивній терапії шоку за гострого спонтанного бабезіозу собак

О. А. Дубова, Д. В. Фещенко, І. Ю. Горальська, А. А. Дубовий, О. А. Згозінська, І. В. Чала

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

У статті наведені результати досліджень з вивчення вторинних процесів, що розвиваються за перебігу гострого спонтанного бабезіозу собак, а також з використання інфузійної терапії плазмозамінниками за розвитку шоку як ускладнення основного захворювання. Показано, що кровопаразитарне захворювання у гострій формі супроводжується розвитком субкомпенсованого шоку середнього ступеня, який визначає стан нестійкої рівноваги і тенденцію до лавиноподібних порушень внаслідок переходу

процесу у декомпенсовану фазу. Підставою для діагностики шокового стану було встановлення наступних гемодинамічних та гемореологічних змін: гіповолемія зі зниженням у циркуляції усіх компонентів крові (формених елементів та плазмових компонентів), достовірне зниження питомого об'єму циркулюючої крові, гематокритної величини, достовірне зростання спонтанної агрегації формених елементів крові (тромбоцитів та еритроцитів), гіпотензія, збільшення майже у 2 рази шокового індексу Альговера. Встановлено значний дефіцит об'єму циркулюючої крові (ступінь крововтрати), яка становила близько 30 %. Показано, що наявність шокового стану у стадії субкомпенсації становить загрозу життю тварини у разі переходу у термінальну стадію. З метою зупинки розвитку шоку було застосовано інфузійну терапію найбільш поширеними плазмозамінними розчинами – Реополіглоїном та Реосорбілактом у дозі 5 мл/кг маси тіла внутрішньовенно крапельно на добу впродовж 3-х діб. Проведено порівняльну оцінку впливу препаратів на корекцію основних гемодинамічних та гемореологічних зрушень. Було встановлено, що Реополіглоїн як колоїдний плазмозамінник має кращий вплив на нормалізацію гемодинамічних розладів – гіповолемії та гіпотензії, а Реосорбілакт як кристалоїдний плазмозамінник виявився кращим дезагрегантом і відновлювачем гемореологічних розладів. Обидва препарати забезпечили повне відновлення показників гемодинаміки та гемореології за 72 години. В результаті рекомендовано застосування комбінації препаратів з пріоритетом Реополіглоїну у перші години лікування та поєднання його з інфузією Реосорбілакту в подальші дні.

**Ключові слова:** гострий спонтанний бабезіоз собак, шок, плазмозамінник, Реополіглоїн, Реосорбілакт, колоїдний розчин, кристалоїдний розчин.

## Вступ

Бабезіоз – найбільш розповсюджена кровопрозоюзна хвороба собак в зоні Центрального Полісся України. Під час сезонних спалахів вона перебігає у гострій формі. Симптомокомплекс гострого спонтанного бабезіозу характеризує розвиток поліорганної недостатності внаслідок впливу патогенних чинників. Основний етіологічний стимул – це руйнівний вплив збудника на еритроцити (Solano-Gallego & Baneth, G., 2011; Köster et al., 2015; Holovakha et al., 2018).

У наших попередніх роботах показано (Dubova, 2016; Dubova et al., 2020), що головним ускладнюючим процесом за бабезіозу, що спричиняє низку поліорганних патологічних проявів, є синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ). Дана гемостазіопатія створює “хибне коло” шоку і є пусковим шоковим фактором (Vincent & De Backer, D., 2013; Levi, 2018).

Відомо (Vincent & De Backer, 2013; Dubova, 2016), що шок – це не діагноз, а лише “біологічний стан найвищої важкості, ...тривалий патологічний прояв системного масштабу”.

Кінцевим результатом є невідповідна перфузія тканин, що визначає порушення їх метаболізму. У відділах мікроциркуляції завдяки шоку та синдрому ДВЗ відбувається вихід елементів циркулюючої крові в оточуючі тканини (Vincent & De Backer, 2013; Levi, 2018; Dubova et al., 2020). Насамперед, це елементи плазми (Vincent & De Backer, 2013). Результатом такого явища є зниження об'єму циркулюючої крові (ОЦК) з відповідними метаболічними наслідками, падіння артеріального тиску, що й визначає важкість шоку та його тенденцію до незворотності з фатальними наслідками для організму тварини (Vincent & De Backer, 2013; Leone et al., 2015; Nathan et al., 2016).

Враховуючи величезну небезпеку шоку для життя, потрібно терміново надавати невідкладну допомогу тварині. Насамперед, необхідно забезпечити відновлення гемореологічних та гемодинамічних параметрів для припинення шокового процесу. Для досягнення цієї мети використовують інфузійну терапію – внутрішньовенне введення плазмозамінних розчинів, основне завдання яких – забезпечення гемодинамічного гомеостазу, детоксикація, корекція хімічного складу

крові тощо (Annane et al., 2013; Langer et al., 2014; Hahn, 2017; Lewis et al., 2018).

**Мета роботи** – клініко-фізіологічне обґрунтування застосування інфузійних розчинів плазмозамінників різних фармакологічних груп та їх порівняльна оцінка.

Для досягнення мети поставлені наступні завдання:

- вивчити розвиток ускладнень під час перебігу гострого спонтанного бабезіозу собак, встановити їх стадію та ступінь важкості;
- провести оцінку основних зрушень гемодинамічних та гемореологічних показників;
- вивчити вплив інфузійної терапії ускладнень плазмозамінниками різних фармакологічних груп (колоїдні та кристалоїдні) та провести порівняльну оцінку терапевтичного ефекту препаратів.

## Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для досліджень були 30 собак – пацієнтів навчально-науково-виробничої клініки ветеринарної медицини Поліського національного університету, м. Житомир, хворих на гострий спонтанний бабезіоз з ускладненнями (дослідна група 0).

Застосовували специфічні засоби (Піро-стоп™ виробництва фірми Ari-San, Російська Федерація, у рекомендованих дозах і кратності). Проводили патогенетичну терапію за однаковою протоколою.

Хворі тварини дослідної групи 0 поділені на дві дослідні групи залежно від застосованого плазмозамінного розчину, по 15 тварин в кожній. Розчини застосовували внутрішньовенно у дозі 5 мл/кг маси тіла 1 раз на добу:

дослідна група I – Реополіглоїн;

дослідна група II – Реосорбілакт.

Контрольна група – клінічно здорові тварини у кількості 30 собак.

Оцінку показників гемодинаміки та гемореології проводили до початку лікування, через 24, 48 та 72 години.

Визначали гемодинамічні параметри – об'єм циркулюючої крові та її компонентів (метод розведення барвника Т-1824 синього Еванса) (Soroka et al., 2005), а також питомий об'єм циркулюючої крові шляхом

розрахунку на 1 кг маси тіла тварини. Дефіцит об'єму крові розраховували за формулою Moore (1):

$$\text{ДОЦК} = \text{ОЦК}_{\text{норм}} \times \frac{(\text{Ht}_{\text{норм}} - \text{Ht}_{\text{досл}})}{\text{Ht}_{\text{норм}}} \quad (1),$$

де: ДОЦК – дефіцит об'єму циркулюючої крові, мл;

ОЦК<sub>норм</sub> – об'єм циркулюючої крові нормальний, мл;

Ht<sub>норм</sub> – гематокритна величина в нормі, л/л;

Ht<sub>досл</sub> – гематокритна величина дослідна, л/л

Показники артеріального тиску та його індексів включали: систолічний, діастолічний тиск, частоту пульсу, які визначали з використанням ветеринарного тонометра PetMap graphic II (CardioCommand, USA). Розрахункові показники – середній артеріальний тиск (САТ) за формулою (2) та шоківий індекс Альгвера (ШІА) – за формулою (3) (Dubova et al., 2018).

$$\text{САТ} = \frac{(\text{Sys} - \text{Dia})}{3} + \text{Dia} \quad (2),$$

де: САТ – середній артеріальний тиск, мм/рт.ст.

Sys – систолічний артеріальний тиск, мм/рт.ст.

Dia – діастолічний артеріальний тиск, мм/рт.ст.

$$\text{ШІА} = \frac{P}{\text{Sys}} \quad (3),$$

де: ШІА – шоківий індекс Альгвера

P – частота пульсу, ударів/хв.

Sys – систолічний артеріальний тиск, мм/рт.ст.

Гемореологічні параметри – гематокритна величина (вимірювання на гематологічному аналізаторі Mindray BC-3600, Російська Федерація), спонтанна агрегація еритроцитів та тромбоцитів (метод струшування Н. І. Тарасової (Soroka & Dubova, 2005).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою ІТ-додатку Statistica 13.3. Здійснювали чисельні порівняння дисперсій з використанням розподілу Фішера. Достовірність отриманих даних оцінювали за F-критерієм Фішера на довірчому рівні P < 0,05.

**Таблиця 1**

Гемодинамічні показники хворих на гострий спонтанний бабезіоз собак

Показники	Дослідна група 0 n = 30	Контрольна група n = 30
Об'єм циркулюючої плазми (ОЦП), мл	2016,3 ± 282,2	3118 ± 127
Об'єм циркулюючих еритроцитів (ОЦЕ), мл	1354 ± 216 *	2420 ± 180
Об'єм циркулюючої крові (ОЦК), мл	3402 ± 582 *	5013 ± 136
Питомий об'єм циркулюючої крові (питОЦК), мл/кг	78,4 ± 7,4 ***	136 ± 8,8
% ОЦК від маси тіла	7,85 ± 0,6 *	13,6 ± 0,7

Примітка: \* – P < 0,05, \*\*\* – P < 0,001 відносно контрольної групи

**Таблиця 2**

Гемореологічні показники хворих на гострий спонтанний бабезіоз собак

Показники	Дослідна група 0 n = 30	Контрольна група n = 30
Гематокритна величина, л/л	0,27 ± 0,03 ***	0,44 ± 0,02
Спонтанна агрегаційна здатність тромбоцитів, %	54 ± 4,4 ***	16,2 ± 0,9
Спонтанна агрегаційна здатність еритроцитів, %	45,2 ± 3,8 ***	9,4 ± 1,1

Примітка: \*\*\* – P < 0,001 відносно контрольної групи

## Результати та їх обговорення

У патогенезі шокового стану вплив шокогенного стимулу супроводжується перерозподілом кровопостачання з його централізацією, тобто у першу чергу забезпечується живлення головного мозку та серця. Це реалізовується завдяки стійкому і потужному спазму мікроциркуляторного ложа (Vincent & De Backer, 2013; Levi, 2018). Згодом у відповідь виникає вазодилатація артеріальних капілярів на фоні тривалого спазму венозних. Формуються так звані “калюжі” (pooling) формених елементів крові та плазмових компонентів. Гідроелектроліти з мікроциркуляторного русла переходять у інтерстиційну тканину. Наслідком таких явищ є внутрішньосудинна гіповолемія і позасудинна затримка рідин у вигляді інтерстиційних набряків (Vincent & De Backer, 2013; Levi, 2018).

За гострого спонтанного бабезіозу у собак спостерігається розвиток субкомпенсованого циркуляторного шоку середньої важкості (Dubova, 2016; Dubova et al., 2020). Підставою для підтвердження стану є встановлені нами зміни у гемодинамічних та гемореологічних показниках хворих тварин (табл. 1–3).

Аналізуючи наведені дані, ми відмічаємо значні гемодинамічні розлади у хворих собак (табл. 1). ОЦК, ОЦЕ та питомий ОЦК достовірно знижені у 1,5 рази. Оскільки у хворих собак не виявляли зовнішньої кровотечі, очевидно, вихід крові відбувся у інтерстиційний простір. Внаслідок такого процесу патогенетично виникають внутрішні кровотечі, набрякають тканини органів (Schorn, 2010; Vincent & De Backer, 2013; Levi, 2018).

Втрата ОЦК становила близько 1500 мл, що становить 31 % і відповідає середньому рівню крововтрати (Dubova et al., 2020). За таким розміром крововтрати шок вважається середнім за інтенсивністю.



**Таблиця 3**

Показники артеріального тиску та його індексів у хворих на гострий спонтанний бабезіоз собак

Показники	Дослідна група 0 n = 30	Контрольна група n = 30
Sys, мм рт.ст.	82,6 ± 2,0***	125,4 ± 3,0
Dia, мм рт.ст.	62,7 ± 3,2**	82,2 ± 4,7
Пультс, уд./хв.	122 ± 6,1**	86 ± 4,6
Середній артеріальний тиск (САТ), мм рт.ст.	70,2 ± 4,0***	99,4 ± 4,8
Шоковий індекс Альгверса (ШІА)	1,43 ± 0,3 *	0,76 ± 0,2

Примітка: \*\*\*- P < 0,001, \*\*- P < 0,01, \*- P < 0,05 відносно контрольної групи

Гемореологічні розлади (табл. 2) характеризуються збільшеною агрегаційною здатністю еритроцитів та тромбоцитів (P < 0,001). Таким чином, у хворих собак виявлено яскравий тромбогенний стан як один з патогенетичних складових синдрому ДВЗ (Levi, 2018; Dubova et al., 2020).

Гематокритна величина знижена в 1,6 разів (P < 0,001) і корелює зі зниженням ОЦК, підтверджуючи розвиток гіповолемії.

Показники артеріального тиску та його індекси (табл. 3) у хворих собак значно змінені. Достовірне падіння САТ (P < 0,001) та тахікардія (P < 0,01) підтверджують значні гемодинамічні порушення, що зумовлені гіповолемією. ШІА збільшений у 1,75 рази (P < 0,05).

Таким чином, гіпотензія з тахікардією, величина шокowego індексу підтверджують середню інтенсивність шоку і визначають його II ступінь (субкомпенсований).

Знижений ОЦК зі зниженим артеріальним тиском є причиною зниження тканинної перфузії. Такий стан веде до системних метаболічних пошкоджень клітин і є еквівалентом шоку (Vincent & De Backer, 2013; Levi, 2018).

Субкомпенсований шок виявляє стан нестійкої рівноваги і загрозу розвитку лавиноподібних руйнівних процесів, що врешті рещт приводять до загибелі тварини (Vincent & De Backer, 2013; Dubova et al., 2020).

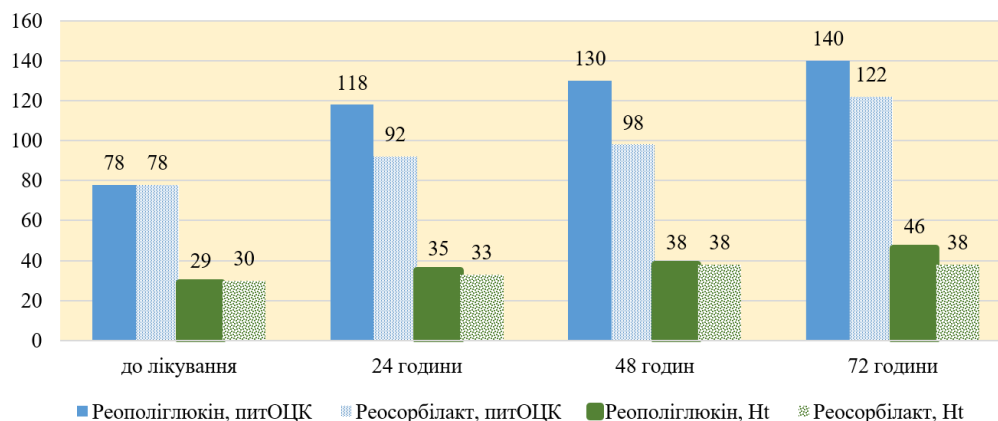
Заходи невідкладної терапії спрямовані на ліквідацію шокowych явищ і повинні забезпечувати відновлення волевмії і кровотоку шляхом вторинного наповнення кровоносного русла без урахування природи

рідини. Доведено (Strengers & Velthove, 2011; Vincent & De Backer, 2013), що важливо відновити кровоток в ділянці мікроциркуляції. Для цього використовують інфузії плазмозамінних розчинів. Такі препарати нездатні переносити кисень, тому вони не вважаються повними замінниками крові, а лише нормалізуючими факторами ОЦК (Strengers & Velthove, 2011; Annane et al., 2013; Lee & Kim, 2013; Hahn, 2017; Monteiro, 2017).

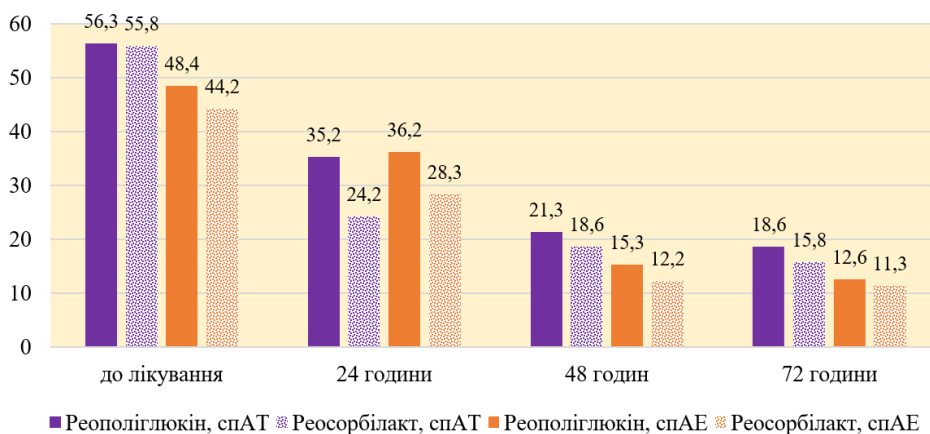
Для порівняльної оцінки гемодинамічної та гемореологічної корекції стану хворих на бабезіоз собак з діагностованим шоком було обрано найбільш розповсюджені фармакологічні препарати – Реополіглюкін та Реосорбілакт. Результати досліджень корегуючого впливу цих розчинів наведені на рис. 1–4.

Як видно з наших даних (рис. 1–4), вплив різних розчинів має відновлюючі властивості стосовно дослідних параметрів, але він неоднаковий. Так, за застосування Реополіглюкуну спостерігаються значно виражені покращення у корекції показників гемодинаміки та гематокритної величини. Вже за 24 години питомий ОЦК збільшується у 1,5 рази, а за 72 години повністю відновлюється. Гематокритна величина збільшується на 20 % і повністю відновлюється за 72 години.

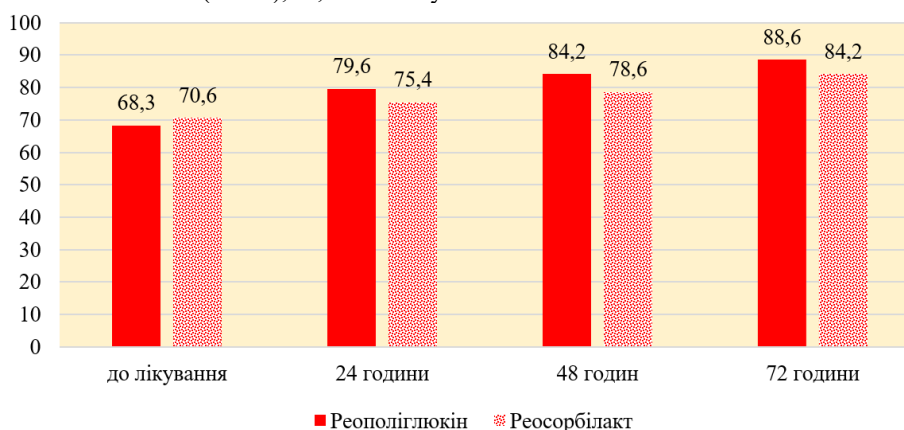
Реосорбілакт дещо гірше проявляє властивості відновлювати волевмічні параметри. Так, питомий ОЦК збільшується у 1,5 рази за 72 години і до завершення спостережень не відновлюється до фізіологічних параметрів. Гематокритна величина до завершення спостережень збільшується у 1,3 рази, хоча залишається нижчою за фізіологічну (P > 0,05).



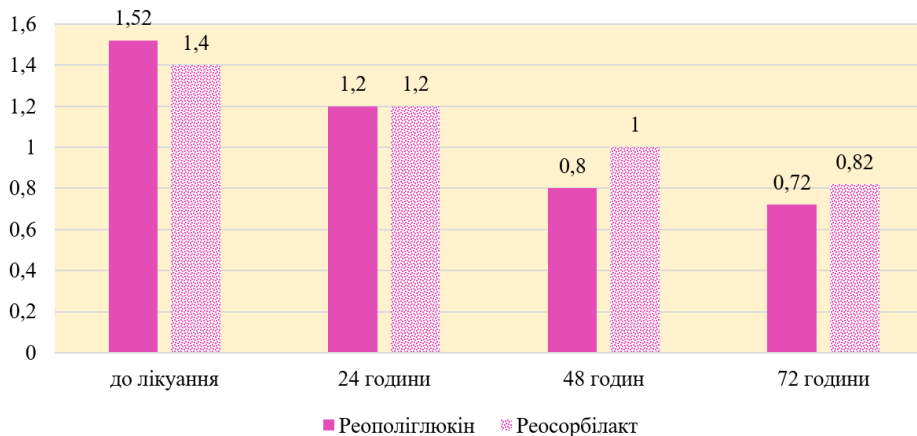
**Рис. 1.** Динаміка змін показників питомого об'єму циркулюючої крові (питОЦК), мл/кг маси тіла та гематокритної величини (Нт), %, за застосування плазмозамінників



**Рис. 2.** Динаміка змін показників спонтанної агрегації тромбоцитів (спАТ) та спонтанної агрегації еритроцитів (спАЕ), %, за застосування плазмозамінників



**Рис. 3.** Динаміка змін показників середнього артеріального тиску, мм рт.ст., за застосування плазмозамінників



**Рис. 4.** Динаміка змін показників шокowego індексу Альговера (ШІА) за застосування плазмозамінників

В динаміці змін показників спонтанної агрегації формених елементів крові кращий ефект був відмічений після застосування Реосорбілакту. Так, за 24 години зниження спонтанної агрегації тромбоцитів відбулося у 2,3 рази і повністю сягнуло фізіологічних меж за 72 години. Аналогічні зміни відмічені у показниках спонтанної агрегації еритроцитів: за 24 години вона зменшилася у 1,6 рази, за 48 годин – у 3,6 рази і за 72 години сягнула фізіологічних лімітів.

Реополіглюкін проявив гірші антиагрегаційні властивості. Зниження спонтанної агрегації тромбоцитів у 2,6 рази відбулося лише за 48 годин, а за 72 години вона була дещо вищою за фізіологічну. Спонтанна

агрегація еритроцитів за 48 годин знизилася у 3 рази, а за 72 години була на 25 % вищою за фізіологічну.

Корегуючі властивості плазмозамінників відносно показників та індексів артеріального тиску кращими виявилися при застосуванні Реополіглюкіну. Так, САТ за 24 години збільшився у 1,2 рази, за 48 годин – у 1,24 рази і за 72 години – у 1,3 рази, але залишався нижчим за фізіологічний. Шоківий індекс Альговера змінювався динамічно і за 72 години сягнув фізіологічних показників.

За застосування Реосорбілакту зміни САТ відбувалися повільніше, за 72 години він збільшився порів-

няно зі стартовим у 1, 24 рази, але був достовірно нижчим за фізіологічний.

Відомо (Strengers & Velthove, 2011; Lee & Kim, 2013; Monteiro, 2017), що обидва дослідних плазмозамінника належать до різних класів інфузійних розчинів. Так, Реополіглюкін є 10 % розчином частково гідролізованого декстрану з молекулярною масою 30000–40000 з додаванням ізотонічного розчину натрію хлориду. Він належить до колоїдних розчинів. Ряд дослідників (Annane et al., 2013; Lee & Kim, 2013) вважає, що плазмозамінна властивість колоїдних розчинів завжди вища, тому за таких умов їх призначення є більш пріоритетним для ліквідації важких гіповолемій за шоківих станів. Нашими дослідженнями підтверджено більш виражений вплив розчину Реополіглюкіну у відновленні гемодинамічних параметрів шоківаного організму.

У якості кращого дезагреганта проявив себе Реосорбілакт. Вже за 24 години зниження спонтанної агрегації формених елементів проявилось яскравіше, ніж за застосування Реополіглюкіну.

Реосорбілакт належить до кристалоїдних розчинів. Основними фармакологічно активними речовинами препарату є сорбітол та натрію лактат. Відомо (Monteiro, 2017), що ізотонічний розчин сорбітолу має дезагрегантний вплив і таким чином покращує мікроциркуляцію і перфузію тканин. У якості замітника плазми він має гірші якості, враховуючи свою хімічну структуру. Застосування кристалоїдних розчинів може мати на меті відновлення волемії, але воно є тимчасовим і може супроводжуватися гіперперфузією оточуючих тканин (Monteiro, 2017). Проте, з метою метаболічної корекції важких станів препарат має більш широкий спектр можливостей завдяки його складу, що містить електролітний набір.

Препарати обох фармакологічних груп мають як переваги, так і недоліки (Annane et al., 2013; Langer et al., 2014; Hahn, 2017; Lewis et al., 2018). Надання переваги тому чи іншому препарату не має наукового підґрунтя (Lewis et al., 2018).

Враховуючи отримані результати, можна зробити заключення, що жоден з представлених плазмозамінників не виконує завдання з повної корекції основних патогенних шоківих факторів. Отже, рекомендовано проводити комбінаторне застосування плазмозамінників різних фармакологічних груп. Враховуючи першочерговість необхідності відновлення волемічних параметрів, у перші години після розвитку шоку потрібно використовувати розчин Реополіглюкіну у рекомендованих дозах. Після 24 годин можна використовувати комбінацію плазмозамінників з метою комплексної корекції як гемодинамічних, так і гемореологічних змін. Такий підхід дозволяє забезпечити максимальну ефективність відновлення організму тварини від шоківаного стану та співвідношення “ризик-користь”.

## Висновки

1. За гострого спонтанного бабезіозу у собак спостерігається розвиток субкомпенсованого цирку-

ляторного шоку середньої важкості. Підставою для встановлення діагнозу та класифікації є гіповолемія, гіпотензія, зростання шоківаного індексу Альговера ( $P < 0,05$ ).

2. Гемореологічні розлади у вигляді зростання спонтанної агрегації формених елементів крові визначають тромбогенний стан як один з складових елементів синдрому ДВЗ – безперечного супутника шоківаного стану.

3. Застосування інфузійної терапії плазмозамінними розчинами є необхідним компонентом для ліквідації шоківаного стану.

4. Реополіглюкін як колоїдний плазмозамінник має кращий ефект корекції гемодинаміки, в той час як дезагрегаційні властивості його недостатні.

5. Реосорбілакт як кристалоїдний розчин має яскраво виражені дезагрегаційні властивості на фоні недостатніх для корекції гемодинаміки.

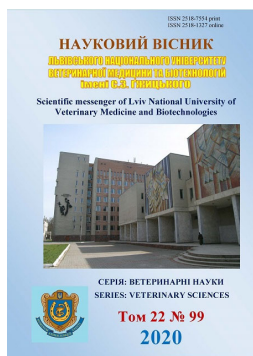
6. Проведення комбінованого введення плазмозамінників з пріоритетом колоїдних розчинів у перші години і комплексу з обох препаратів надалі забезпечить повне відновлення гемодинамічних та гемореологічних параметрів.

*Перспективи подальших досліджень* полягають у розробці протоколів та схем інфузійно-трансфузійної терапії шоківих станів різного ступеня важкості.

## References

- Annane, D., Siami, S., Jaber, S. et al. (2013). Effects of fluid resuscitation with colloids vs crystalloids on mortality in critically ill patients presenting with hypovolemic shock: the CRISTAL randomized trial. *JAMA*, 310(17), 1809–1817. doi: 10.1001/jama.2013.280502.
- Dubova, O. A. (2016). Shock and DIC–syndrome as a pathogenetic axis of dogs babesiosis. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18, 2(66), 70–73. doi: 10.15421/nvlvet6615 (in Ukrainian).
- Dubova, O. A., Feshchenko, D. V., Bakhur, T. I., Zghozinska, O. A., Antipov, A. A., Rublenko, S. V., Goncharenko, V. P., Shahanenko, R. V., & Shahanenko, V. S. (2020). Disseminated intravascular coagulation syndrome as a complication in acute spontaneous canine babesiosis. *Mac Vet Rev*, 43(2), 1–9. doi: 10.2478/macvetrev-2020-0027.
- Dubova, O., Dubovyi, A., & Feshchenko, D. (2018). Indirect evaluation method and parameters of blood pressure and its indexes in dogs. *Sci Mes LNU Vet Med Biotechnol. Series: Vet Sci.*, 20(88), 80–84. doi: 10.32718/nvlvet8814 (in Ukrainian).
- Hahn, R. G. (2017). Crystalloid and Colloid Fluid. *Essentials of Neuroanesthesia*, 2017, 827–832. doi: 10.1016/B978-0-12-805299-0.00050-6.
- Holovakha, V. I., Piddubnyak, O. V., Bakhur, T. I., Vovko-trub, N. V., Antipov, A. A., Anfiorova, M. V., Gutyj, B. V., Slivinska, L. G., Kurdeko, O. P., & Macynovich, A. O. (2018). Changes in erythropoiesis indices in dogs with babesiosis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(3), 379–383. doi: 10.15421/021856.

- Köster, L. S., Lobetti, R. G., & Kelly, P. (2015). Canine babesiosis: a perspective on clinical complications, biomarkers, and treatment. *Vet Med (Auckl)*, 6, 119–128. doi: 10.2147/VMRR.S60431.
- Langer, T., Ferrari, M., Zazzeron, L., Gattinoni, L., Caironi, P. (2014). Effects of intravenous solutions on acid-base equilibrium: from crystalloids to colloids and blood components. *Anaesthesiology intensive therapy*, 46(5), 350–360. doi: 10.5603/AIT.2014.0059.
- Lee, J. J., & Kim, J. H. (2013). Plasma volume expanders: Classification and characteristics of colloids. *Journal of the Korean Medical Association*, 56(10), 924–932. doi: 10.5124/jkma.2013.56.10.924.
- Leone, M., Asfar, P., Radumacher, P., Vincent, J. L., & Martin, C. (2015). Optimizing mean arterial pressure in septic shock: a critical reappraisal of the literature. *Crit Care*, 19(1), 191. doi: 10.1186/s13054-015-0794-z.
- Levi, M. (2018). Disseminated Intravascular Coagulation. *Hematology*, (7th Ed.), 2064–2075. doi: 10.1016/B978-0-323-35762-3.00139-6.
- Lewis, S. R., Pritchard, M. W., Evans, D. J. W., Butler, A. R., Alderson, P., Smith, A. F., & Roberts, I. (2018). Colloids versus crystalloids for fluid resuscitation in critically ill people. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 8, CD000567. doi: 10.1002/14651858.CD000567.pub7.
- Monteiro, J. N. (2017). Fluids and Electrolyte Management. *Essentials of Neuroanesthesia*, 2017, 815–825. doi: 10.1016/B978-0-12-805299-0.00049-X.
- Nathan, H. L., Cottan, K., Hezelgrave, N. L., Seed, P. T., Briley, A., Bewley, S., Chappell, L. C., & Shennan, A. H. (2016). Determination of normal ranges of shock index and other haemodynamic variables in immediate postpartum period: a cohort study. *PloS One*, 11(12), e0168535. doi: 10.1371/journal.pone.0168535.
- Schorn, M. N. (2010). Measurement of blood loss: review of the literature. *J Midwifery Womens Health*, 55(1), 20–27. doi: 10.1016/j.jmwh.2009.02.014.
- Solano-Gallego, L., & Baneth, G. (2011). Babesiosis in dogs and cats-expanding parasitological and clinical spectra. *Vet Parasitol*, 181(1), 48–60. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.04.023.
- Soroka, N. M., & Dubova, O. A. (2005). inventors; National Agrarian University, assignee. Method of life-long diagnosis of disseminated intravascular coagulation syndrome in dogs. Ukraine patent U 200503510. 2005 Sept 15 (in Ukrainian).
- Soroka, N. M., Dubova, O. A., & Iaremenko, D. O. (2005). inventors; National Agrarian University, assignee. A method of determining the volume of circulating blood in dogs. Ukraine patent U 2200505490. 2005 Jun 8 (in Ukrainian).
- Strengers, P. F. W., & Velthove, K. J. (2011). Blood, blood components, plasma, and plasma products. *Side Effects of Drugs Annual*, 33, 669–690. doi: 10.1016/B978-0-444-53741-6.00033-7.
- Vincent, J. L., & De Backer, D. (2013). Circulatory shock. *N Engl J Med*, 369, 1726. doi: 10.1056/NEJMra1208943.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9907

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.5–002:636.2

## Some aspects of the occurrence and development of chronic aseptic pododermatitis in highly pregnant cows

N. M. Khomyn, A. R. Mysak, S. V. Tsisinska, V. V. Pritsak, N. V. Nazaruk, Yu. M. Lenjo

*Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine*

### Article info

Received 03.09.2020

Received in revised form

01.10.2020

Accepted 02.10.2020

Stepan Gzhyskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-067-894-17-12  
E-mail: [nadiakhomyn@ukr.net](mailto:nadiakhomyn@ukr.net)

**Khomyn, N. M., Mysak, A. R., Tsisinska, S. V., Pritsak, V. V., Nazaruk, N. V., & Lenjo, Yu. M. (2020). Some aspects of the occurrence and development of chronic aseptic pododermatitis in highly pregnant cows. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 45–52. doi: 10.32718/nvlvet9907**

Pododermatitis in tall cows that occur on the background of secondary osteodystrophy can lead to significant economic losses, consisting of forced culling of animals, reduced milk yield, reproductive function and not enough receiving of calves. Therefore, the question of studying the peculiarities of origin and development, in particular chronic aseptic pododermatitis in these animals is quite actual. It is defined that with the same type of highly concentrated feeding, hypodynamics and insufficient insolation in the organism of highly pregnant cows, the process of assimilation of feed minerals is disrupted (develops, as is known, for dysfunction of the endocrine glands due to prolonged ketosis), which is appeared by resorption of the hoof bone, low rates of mass-volume extraction analysis of bone biopsy and testifies a systemic violation of mineral metabolism in animals and is confirmed by biochemical parameters, in particular, the concentration in the hoof horn of individual macro- and trace elements, as well as biophysical parameters of the epidermis of the hooves. Thus, the concentration of Calcium in the hoof horn is 16.8 % lower than in clinically healthy animals, Sulfur – by 20.3 %, Copper – by 16.2, Zinc – by 15.0, Cobalt – by 13.0 with increasing concentration of sulfhydryl groups by 34.3 % and moisture, respectively – by 5.5 %, which causes a decrease in the density and hardness of the epidermis of the hooves by 5.4 % and 19.0 %, respectively, and contributes to the deterioration of the quality of the hooves of highly pregnant cows. Such changes lead to deformation of the hooves, violation of the uniform load on their soles and the development of aseptic inflammation of the skin base of the hooves of a chronic nature, because the process of metabolic disorders occurs over a long period of time.

**Key words:** cows, hoof horn, pododermatitis, deformation, feeding, insolation, hypodynamia, hoof bone, resorption.

## Окремі аспекти виникнення і розвитку хронічного асептичного пододерматиту у високотільних корів

Н. М. Хомин, А. Р. Мисак, С. В. Цісінська, В. В. Пріцак, Н. В. Назарук, Ю. М. Леньо

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна*

Пододерматити у високотільних корів, які виникають на тлі вторинної остеодистрофії, можуть призводити до значних економічних втрат, що складаються з вимушеного вибракування тварин, зниження надою, репродуктивної функції і недоотримання телят. Тому вивчення особливостей виникнення та розвитку хронічного асептичного пододерматиту у цих тварин досить актуальне. Встановлено, що за однотипної висококонцентратної годівлі, гіподинамії та недостатньої інсоляції в організмі високотільних корів порушується процес засвоєння мінеральних речовин корму (розвивається, як відомо, за порушення функції залоз внутрішньої секреції внаслідок затяжного перебігу кетозу), що проявляється резорбцією копитцевої кістки, низькими показниками мас-об'ємного екстракційного аналізу кісткового біоптату і свідчить про системне порушення мінерального обміну в організмі.

мі тварин та підтверджується біохімічними показниками, зокрема концентрацією у копитцевому розі окремих макро- і мікроелементів, а також біофізичними параметрами епідермісу копитця. Так, концентрація Кальцію у копитцевому розі на 16,8 % нижча від показника клінічно здорових тварин, Сульфур – на 20,3 %, Купруму – на 16,2, Цинку – на 15,0, Кобальту – на 13,0 за підвищення концентрації сульфгідрильних груп на 34,3 % і вологи відповідно – на 5,5 %, що спричиняє зниження показників щільності та твердості епідермісу копитця відповідно на 5,4 % та 19,0 % і спричиняє погіршення якості копитцевого рога високотільних корів. Такі зміни призводять до деформації копитця, порушення рівномірного навантаження на їх подошву та розвитку асептичного запалення основи шкіри копитця хронічного характеру, оскільки процес порушення обміну речовин відбувається тривалий період.

**Ключові слова:** корови, копитцевий ріг, пододедерматит, деформація, годівля, інсоляція, гіподинамія, копитна кістка, резорбція.

## Вступ

У ветеринарній ортопедії значна увага приділяється копитцям, здебільшого великої рогатої худоби, що передусім обумовлено важливим значенням скотарства у тваринництві. Цьому питанню значної уваги надавали вітчизняні вчені (Panko et al., 1998; Panko, 2000; Kozij et al., 2002; Borisevich & Khomyn, 2002; Khomyn et al., 2017), згідно з твердженнями яких без належного догляду за копитцями та підтримання їх в оптимальному морфофункціональному стані неможливе підвищення молочної та м'ясної продуктивності, одержання високоякісної тваринницької продукції тощо. У сучасних умовах ведення скотарства копитця нерідко зазнають впливу різноманітних несприятливих факторів, передусім пов'язаних із відхиленнями від норм годівлі, утримання корів, проведення своєчасної професійної коректуючої розчистки тощо (Borisevich, 1996). Прослідковується взаємозв'язок між ортопедичними і акушерськими хворобами. Так, негативний вплив ортопедичної патології у корів на відтворну функцію протягом усіх етапів репродуктивного циклу вказує у своїх дослідженнях Власенко С. А. (Vlasenko, 2017). Зокрема, у вагітних корів з гнійно-некротичними процесами у ділянці копитця збільшується частота абортів, первинної слабкості перейм і потуг, затримання посліду та субінволюції, післяродового метриту, народження гіпотрофіків.

Однак на сьогодні нез'ясованими залишаються окремі питання щодо етіології та патогенезу хронічного асептичного пододедерматиту у високотільних корів за впливу, зокрема, однотипної висококонцентратної годівлі, гіподинамії та недостатньої інсоляції. Особливої уваги у цьому переліку заслуговують порушення годівлі, що, безперечно, позначається на обміні речовин, особливо у високотільних корів, і проявляється кетозом, який здебільшого спричиняє виникнення вторинної остеодистрофії, так званої остеодистрофії тільних корів, ускладненої ще й порушеннями утримання тварин.

Тому метою роботи було вивчення впливу особливостей годівлі й утримання високотільних корів на стан копитцевої кістки і епідермісу копитця за виникнення хронічного асептичного запалення основи шкіри копитця.

## Матеріал і методи досліджень

Були проведені дослідження у господарствах Львівської і Тернопільської областей на високотільних коровах чорно-рябої породи у зимово-стійловий період за прив'язного утримання тварин. Сформували

2 групи корів (контрольна і дослідна) по 5 тварин у кожній. Коровам контрольної групи (клінічно здорові) згодовували корми господарського раціону, збалансовані за поживними та мінеральними речовинами, забезпечували їм активний моціон та достатню інсоляцію. Годівля тварин дослідної групи (хворі на хронічний асептичний пододедерматит) була однотипною висококонцентратною. Порушення утримання полягало у гіподинамії та недостатній інсоляції. Згідно з результатами аналізу раціону, клінічних спостережень та даних лабораторних досліджень встановили у цих тварин вторинну остеодистрофію, яка виникла на тлі кетозу.

Були проведені клінічні, біохімічні та рентгенологічні дослідження. Стан кістяка, зміни якого відіграють важливу роль у виникненні патології копитця, оцінювали шляхом огляду, пальпації та багатофакторного мас-об'ємного аналізу трепанобіоптатів за В. Б. Борисевичем (Borysevych, 2000). Визначення концентрації SH-груп, вологи, Кальцію, Фосфору, Сульфур, Купруму, Цинку, Кобальту, а також щільності та твердості копитцевого рога проводили згідно із загальноприйнятими методиками.

Отримані числові дані обробляли за допомогою стандартного пакета статистичних програм Microsoft EXCEL.

## Результати та їх обговорення

Загальновідомо, що утримання молочної та м'ясної худоби вимагає знань основних і сприяючих факторів, які обумовлюють виникнення і розвиток захворювань дистального відділу кінцівок, особливо у високотільних корів, ранньої діагностики для своєчасного запобігання різноманітним хворобам копитця, зокрема пододедерматитів. Втрати, спричинені цими захворюваннями, складаються з вимушеного вибракування, зниження надою, репродуктивної функції і недоотримання телят. Особливої уваги заслуговують такі фактори, як однотипна висококонцентратна годівля, гіподинамія та недостатній моціон. За цих умов у високотільних корів розвивається вторинна остеодистрофія вагітних.

Особливості остеодистрофічних процесів і зумовлені ними вторинні ураження органів та систем тваринного організму часто кваліфікуються як зовсім окремі та незалежні від остеопатії патологічні процеси. Однак є цілий ряд досліджень, проведених зарубіжними і вітчизняними вченими, які доводять протилежне, тобто, що між ними існує причинно-наслідковий зв'язок (Sudakov et al., 1991; Ovcharov, 1998; Sudakov et al., 2002).

Як відомо, вторинна остеодистрофія – хронічна хвороба, яка характеризується системною кістковою дистрофією, порушенням обміну речовин, функцій щитоподібної, паращитоподібної залоз, печінки та інших органів внаслідок затяжного перебігу кетозу.

Так, за гіпофункції щитовидної залози знижується секреція кальцитоніну, пригнічується діяльність остеобластів і посилюється функція остеокластів, уповільнюється процес остеосинтезу та прискорюється остеолізис. Пригнічення функції остеобластів призводить до зниження активності лужної фосфатази, гальмування процесу гідролізу фосфорноорганічних сполук і синтезу гідроксиapatиту в кістковій тканині. Гіпофункція паращитоподібних залоз призводить до зниження секреції паратгормону, який разом з активною формою вітаміну D<sub>3</sub> регулює концентрацію Кальцію в крові, бере участь у процесах абсорбції мінеральних речовин у травному тракті. За дефіциту паратгормону знижується засвоюваність мінеральних речовин, зменшується концентрація Кальцію в крові, відбувається посилена його мобілізація з кісток. Схоже явище виявляють за порушення глюококортикоїдної функції кори надниркових залоз у хворих на кетоз корів. За кетозу гальмується процес окиснення ацетил-КоА в ЦТК, знижується синтез цитрату, який є транспортним засобом іонів Кальцію. Дефіцит цитрату ослаблює процес використання Кальцію в утворен-

ні гідроксиapatиту кісток. Поряд з цим спостерігаються ознаки гепатодистрофії, міокардіодистрофії, гіперпротеїнемії, гіперфосфатемії та позитивної печінкової проби. Крім того, дефіцит вітаміну D та його активних метаболітів спричиняє зниження утворення кальцієзв'язуючого білка і відповідно зменшення засвоєння Кальцію і Фосфору з кормів, порушення надходження їх у кісткову тканину та утворення гідроксиapatиту (Sudakov et al., 1991).

Ці процеси мають особливо важливе значення для високотільних корів, оскільки на тлі остеодистрофії можливі як акушерсько-гінекологічні ускладнення, так і ортопедичні, зокрема виникнення пододерматитів.

Як показали результати досліджень, серед різних форм пододерматитів у високотільних корів найбільший відсоток складають ексудативно-асептичні запалення основи шкіри підошви копитець, що становить 24,5 %, до яких належить і хронічний асептичний пододерматит; дещо рідше виявляють токсико-алергічні, а саме 20,6 %; неспецифічні гнійні запалення, здебільшого ускладнення асептичних, встановлено у 19,2 % тварин, вогнищево-проліферативні та специфічні гнійно-некротичні – відповідно у 15,2 і 12,6 % і найменший відсоток (7,9) складає виразковий пододерматит (рис. 1).

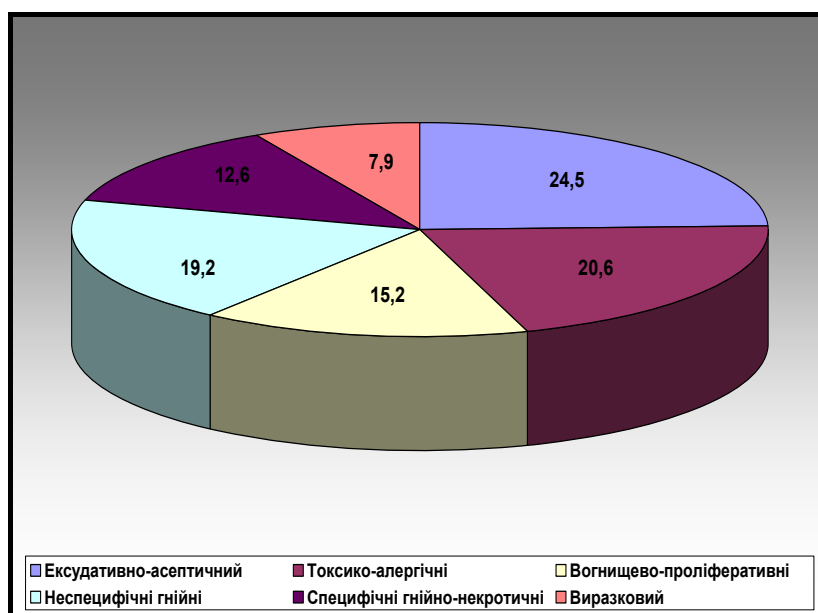


Рис. 1. Поширеність різних форм пододерматитів у корів

Клінічні ознаки корів, хворих на хронічний асептичний пододерматит, характеризуються пригніченим загальним станом, тривалим лежанням. Корови неохоче встають, кульгають під час руху, відчуваючи біль; кон'юнктива анемічна з іктеричним відтінком, волосяний покрив тьмяний, шкіра навколо вінчика гіперемійована. Тварини неохоче поїдають концентрати або відмовляються від них, віддаючи перевагу сіну. Рухи напружені, сковані, спина згорблена; спостерігається деформація копитець.

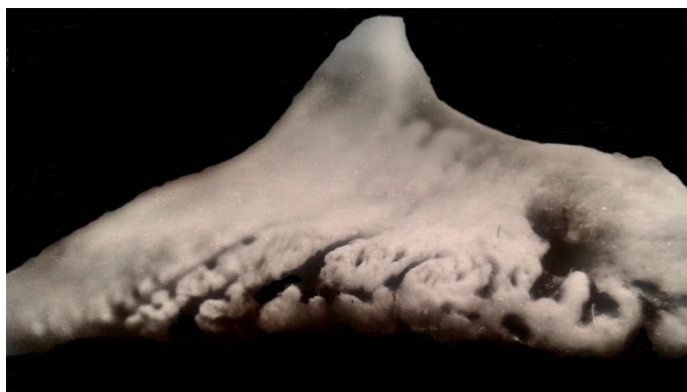
Як відомо, хронічний перебіг асептичного пододер-

матиту, поряд із запаленням, супроводжується дезорганізацією та руйнуванням колагенового комплексу та матрикса, що значно погіршує трофічну функцію дерми щодо епідермісу. Одночасно значно ослаблюється механічна стійкість дерми. Все це призводить до виникнення деформації копитець, яка є попередником хронічного асептичного пододерматиту (Rublenko et al., 2014; Khomyn et al., 2018; 2019).

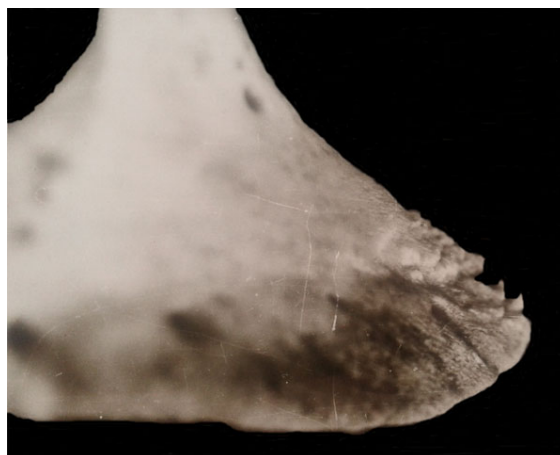
За даної патології велике навантаження припадає на компенсаторні системи організму, однією з яких є кісткова тканина. Їй відводиться роль у депонуванні

та підтриманні гомеостазу мінеральних речовин в організмі тварин та обміну речовин (Borysevych, 2000).

Для поглибленого вивчення стану кісткової тканини у дослідних тварин проведені рентгенологічні дослідження (рис. 2–5).



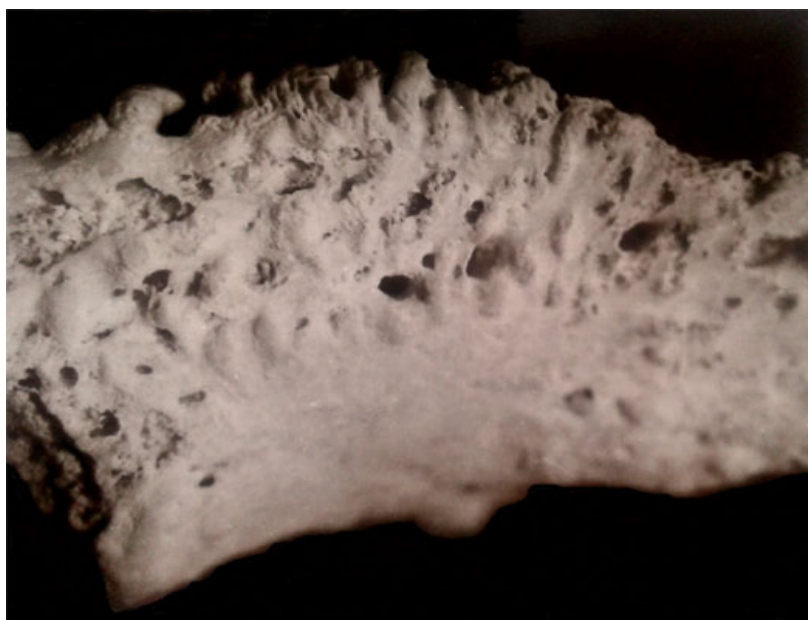
**Рис. 2.** Резорбція бокової частини копитця і підшви з утворенням окремих острівців і каналів



**Рис. 3.** Резорбція зачіпної частини копитця



**Рис. 4.** Резорбція у ділянці прикріплення загального розгинача пальця



**Рис. 5.** Резорбція у ділянці підшви копитця (високий ступінь)

Встановлено, що у високотільних корів за асептичного запалення основи шкіра копитець на окремих ділянках копитцевої кістки спостерігаються глибокі зміни, які полягають у розрихленні та декальцинації кістки, тобто в енергійному розсмоктуванні кісткової тканини. Внаслідок цього уражені ділянки копитцевої кістки фрагментуються з утворенням численних каналців, острівців неправильної форми; спостерігається порозність кісткової тканини. Резорбція копитцевої кістки здебільшого призводить до перетворення її на губку з численними округлими отворами та навіть з великими дефектами, що формуються, очевидно, внаслідок прогресування патологічного процесу.

Про суть вищеописаних процесів можна судити за результатами досліджень, що характеризують ступінь

мінералізації кісткової тканини.

За тривалої безперервної дії патогенних чинників порушується рівновага між такими процесами, як резорбція і синтез кісткової тканини та надходженням в неї пластичних речовин. Тому дослідження стану кістяка за хронічного асептичного пододерматиту у високотільних корів за остеодистрофії шляхом проведення багатофакторного мас-об'ємного аналізу є досить інформативною процедурою. Кісткова трепанбіопсія дозволяє визначити клітинний склад, вивчити архітектуру кісткової тканини, співвідношення різних видів клітин, оцінити ступінь зрілості окремих елементів кровотворення тощо (Borysevych, 2000).

Як видно з таблиці, усі показники вірогідно різняться між собою, причому у високотільних корів з



хронічним асептичним пододерматитом значно менша щільність як сирової, так і сухої знежиреної кістки, а

також щільність органічного матриксу та менший вміст мінеральних компонентів (рис. 6).

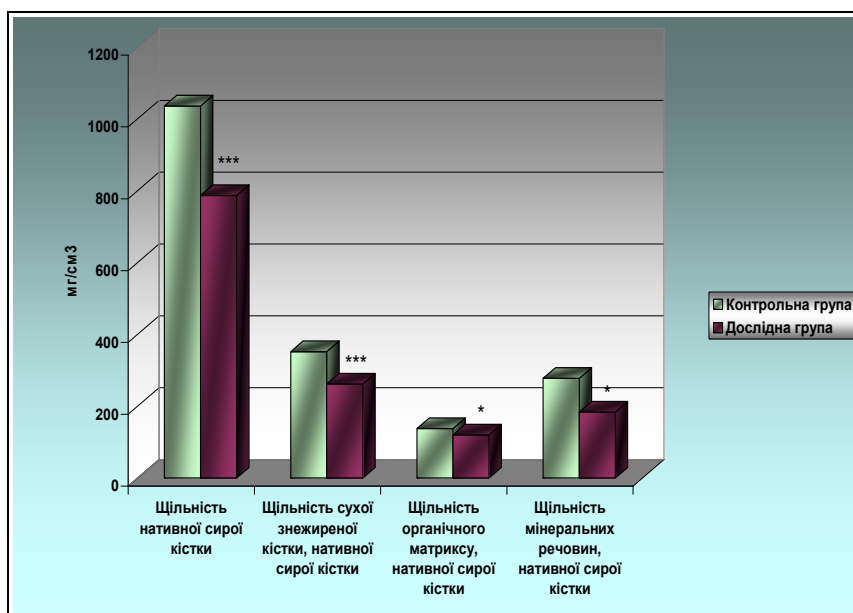


Рис. 6. Показники трепанобіоптатів кістяка високотільних корів за хронічного асептичного пододерматиту

Так, щільність нативної сирової кістки у корів дослідної групи на 30,8 % нижча щодо контрольного показника і становить  $717,5 \pm 24,16$  мг/см<sup>3</sup>, щільність сухої знежиреної кістки – на 34,2 %, або  $231,7 \pm 10,87$  мг/см<sup>3</sup> нативної сирової кістки, щільність органічного матриксу – на 20,3 %, що складає  $109,7 \pm 11,59$  мг/см<sup>3</sup> нативної сирової кістки і щільність мінеральних речовин нижча від показника здорових тварин на 55,4 %, або  $124,1 \pm 15,12$  мг/см<sup>3</sup> нативної сирової кістки. Досить низьке співвідношення кількості мінералів і матриксу у корів з ураженням локомоторного апарату, яке складає 1,13 проти 2,02, свідчить про наявність процесу остеомалляції, який, у цьому випадку, є провідною ланкою у виникненні асептичного запалення основи шкіри копитця.

Відомо, що встановлення кількісного вмісту біохімічних компонентів у копитцевому розі за допомогою лабораторних досліджень дає можливість контролювати їх надходження і кумуляцію в епідермісі, а також виявляти дефіцит макро- і мікроелементів на ранніх етапах розвитку патологічних процесів у копитцевому розі та запобігати розвитку захворювань копитця (Khomyn et al., 2018).

У зв'язку з цим були проведені біохімічні дослідження щодо вмісту окремих мінеральних речовин в епідермісі копитця та встановлення ступеня кератинізації шляхом визначення концентрації SH-груп в копитцевому розі високотільних корів, хворих на хронічний асептичний пододерматит з ознаками вторинної остеомалляції.

Так, концентрація Кальцію вірогідно зменшилась на 16,8 %, що складає  $1,49 \pm 0,037$  г/кг (рис. 7).

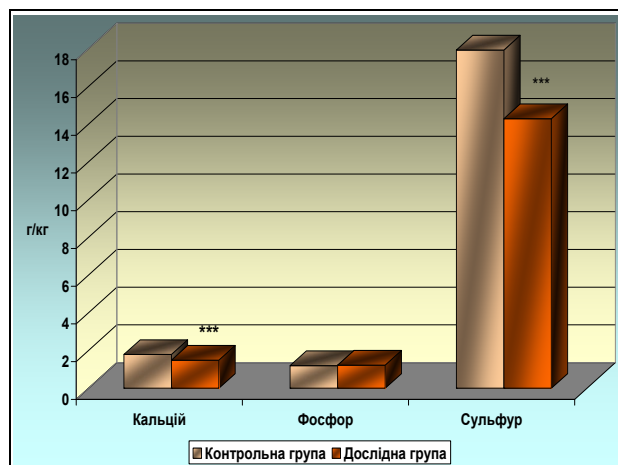


Рис. 7. Вміст макроелементів у копитцевому розі високотільних корів за хронічного асептичного пододерматиту

Відомо, що кальцієвий гомеостаз впливає на міцність копитцевого рогу, оскільки Кальцій, коагулюючись у матриксі епідермісу, забезпечує оптимальні біофізичні властивості копитцевого рога. Варто зазначити, що в цій частині пальця накопичується так званий лабільний кальцій, вміст якого регулюється надходженням з кормів раціону (Romanenko, 1975).

Окремої уваги заслуговує наявність у копитцевому розі Сульфору, який безпосередньо бере участь у процесах кератинізації, тобто окислення сульфгидрильних (SH-) груп прекератину більш глибоких шарів епідермісу в дисульфідні (-S-S-), тобто зменшення кількості цистеїну і збільшення кількості цистину, до складу якого він входить (Borisevich & Khomyn, 2002).

Дослідженнями встановлено, що в копитцевому

розі тварин дослідної групи знизилась концентрація Сульфуру на 20,3 %, що становить  $14,29 \pm 0,215$  г/кг і впливає на погіршення процесу кератинізації, що проявляється підвищенням концентрації сульфгідрильних груп на 34,3 %, або  $43,9 \pm 2,46$  мкмоль/г, та вологи відповідно на 5,5 %, що складає  $39,8 \pm 1,25$  % (табл. 1).

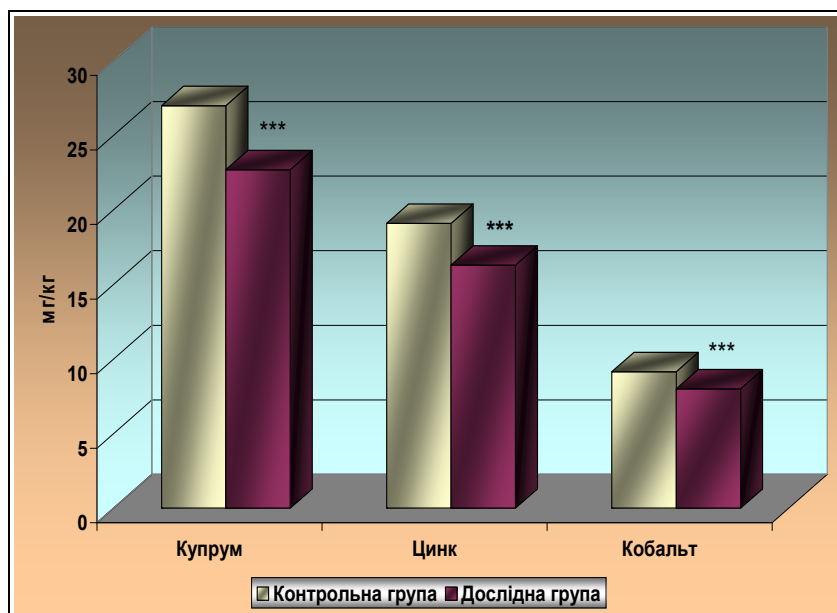
Збільшення величини цих показників, на нашу думку, свідчить про погіршення процесу кератинізації, підтвердженням чого є зменшення вмісту в епідермісі копитець ще й Купруму (рис. 8).

**Таблиця 1**

Вміст біохімічних показників копитцевого рога високотільних корів за хронічного асептичного пододерматиту ( $M \pm m, n = 5$ )

Показники	Група	
	контрольна	дослідна
Волога, %	$34,3 \pm 1,95$	$39,8 \pm 1,25^*$
SH-групи мкмоль/г	$32,7 \pm 1,97$	$43,9 \pm 2,46^*$

Примітка: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$  – у цій та подальших таблицях вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи



**Рис. 8.** Вміст мікроелементів у копитцевому розі високотільних корів за хронічного асептичного пододерматиту

Величина цього показника складає  $22,66 \pm 0,348$  мг/кг, що на 16,2 % менше за показник тварин контрольної групи. Очевидно, такі зміни впливають на якість епідермісу копитець завдяки здатності Купруму каталізувати окиснення сульфгідрильних груп прекератину у дисульфідні зв'язки кератину. Відомо, що Купрум сприяє зміцненню не тільки копитцевого рогу, а й дерми завдяки його здатності разом із лізилоксидазою та киснем брати участь у формуванні поперечних міжковалентних зв'язків у колагенових волокнах, тобто лімітувати синтез колагену і основної речовини сполучної тканини (Borisevich, 1996).

Важливу роль у роговому метаморфозі епідермісу відіграє Цинк, особливо при формуванні м'якого кератину. За дефіциту Цинку виникає незавершений кератиногенез (паракератоз); рогоутворення порушується внаслідок втрати клітинами здатності утворювати кератогіалін. Ріг стає менш щільним. Зменшення його вмісту у копитцевому розі сприяє виникненню некробактеріозу, і копитця зазнають деформації. Згідно з дослідженнями вміст Цинку в епідермісі копитець складає  $16,25 \pm 0,168$  мг/кг, що на 15,0 % нижче контрольного показника, а концентрація Кобальту – на 13,0 %, або  $7,96 \pm 0,126$  мг/кг. Він у процесі кератинізації виступає як кофактор дії гідролітичних фер-

ментів, які звільняють клітини від органел, сприяючи заповненню волокнами кератину (Borisevich, 1996; Panko et al., 1998).

Підтвердженням порушення кератинізації є вірогідне зниження показників щільності та твердості копитцевого рога корів дослідної групи на 5,4 та 19,0 %, що становить, відповідно,  $1,147 \pm 0,010$  г/см<sup>3</sup> та  $125,2 \pm 3,95$  кгс/см<sup>2</sup> (табл. 2).

**Таблиця 2**

Біофізичні параметри копитцевого рога високотільних корів за хронічного асептичного пододерматиту ( $M \pm m, n = 5$ )

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Щільність, г/см <sup>3</sup>	$1,213 \pm 0,015$	$1,147 \pm 0,010^{**}$
Твердість, кгс/см <sup>2</sup>	$154,5 \pm 2,36$	$125,2 \pm 3,95^{***}$

Відомо, що величина цих показників безпосередньо впливає на інтенсивність росту і стирання копитцевого рога, тобто за таких біофізичних показників та порушення рогоутворення спостерігається підвищення опору до стирання і, закономірно, наростання рогу підшви, утворення деформованих копитець з розвит-

ком, згодом, за відсутності регулярної коректуючої розчистки хронічного асептичного пододерматиту (Khomyn et al., 2018).

Проведені дослідження дають змогу чітко представити етіопатогенез хронічного асептичного пододерматиту у високотільних корів (рис. 9).

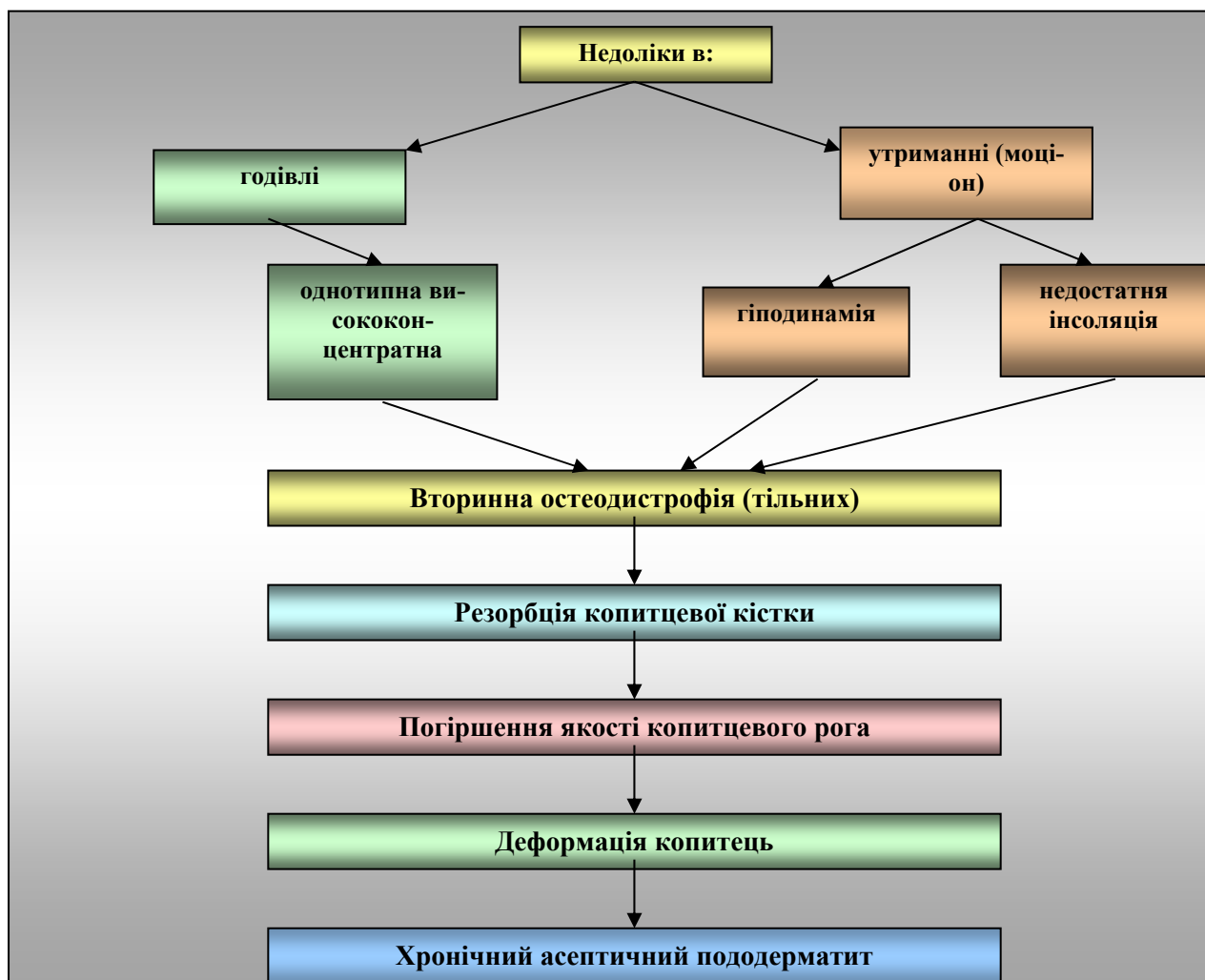


Рис. 9. Схема етіопатогенезу хронічного асептичного пододерматиту у високотільних корів

Отже, у високотільних корів за вторинної остеодистрофії, що виникає на тлі однотипної висококонцентратної годівлі, гіподинамії та недостатньої інсоляції відбувається тривале порушення засвоєння мінеральних речовин корму, необхідних й для побудови кістяка плода, яке компенсується завдяки вивільненню макро- і макроелементів з кісткової тканини, що призводить до системної кісткової дистрофії, порушення обміну речовин та резорбції копитцевої кістки, недостатнього надходження мінеральних речовин у копитцевий ріг, погіршення його якості з розвитком деформації копитець та хронічного асептичного пододерматиту.

### Висновки

1. Серед різних форм пододерматитів у високотільних корів найбільший відсоток складають ексудативно-асептичні (24,5 %), до яких належить і хронічний асептичний пододерматит.

2. За хронічного асептичного пододерматиту у високотільних корів встановлена резорбція копитцевої

кістки, що підтверджено зниженням щільності нативної сирової кістки на 30,8 %, щільності сухої знежиреної кістки – на 34,2, щільності органічного матриксу – на 20,3 і щільності мінеральних речовин – на 55,4 %; концентрація Кальцію у копитцевому розі зменшилась на 16,8 %, Сульфур – на 20,3, Купруму – 16,2, Цинку – на 15,0 Кобальту – на 13,0 та підвищення концентрації сульфгідрильних груп на 34,3 і вологи відповідно – на 5,5 %, що спричинило зниження показників щільності та твердості копитцевого рога відповідно на 5,4 та 19,0 % і сприяло погіршенню якості копитцевого рога високотільних корів.

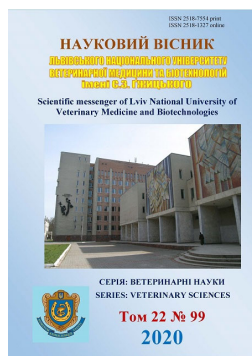
3. Недоліки у годівлі та утриманні високотільних корів, які включають згодовування однотипних висококонцентратних кормів раціону і відсутність належного моціону, що призводить до гіподинамії та недостатньої інсоляції сприяють розвитку вторинної остеодистрофії на тлі кетозу та спричиняють резорбцію копитцевої кістки, і, як наслідок, погіршення якості копитцевого рогу, деформацію копитець, порушення рівномірного розподілу ваги тіла тварин на підшву копитець та виникнення спочатку дифузного ексуда-

тивного асептичного запалення основи шкіри, а згодом хронічного асептичного пододерматиту.

*Перспективи подальших досліджень.* Дослідження будуть спрямовані на розробку нових заходів профілактики хронічного асептичного пододерматиту у високотільних корів.

### References

- Borisevich, B., & Khomyn, N. (2002). Etiopatogenez urazhen kopitec u koriv v umovah stijloвого utrimannya. *Veterinarna medicina Ukrayini*, 12, 32–34 (in Ukrainian).
- Borisevich, V. B. (1996). *Veterinarnaya ortopediya (bolezni kopytec i kopyt)*. Kirovograd: Kirovogradgosizdat (in Russian).
- Borysevych, V. B. (2000). Bagatofaktornyi masobyemnyi analiz kistkovoyi tkanyny. *Visnyk agrar. Nauki*, 3, 35–38 (in Ukrainian).
- Khomyn, N., Mysak, A., Iglitskej, I., & Pritsak, V. (2017). Prevalance and causes of diseases occurrence of cows hooves. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(77), 22–26. doi: 10.15421/nvlvet7706.
- Khomyn, N., Mysak, A., Tsisinska, S., Pritsak, V., Lenyo, Y., & Khomyn, M. (2018). Quality of cows hoof horn by purulent pododermatitis. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(92), 151–155. doi: 10.32718/nvlvet9231.
- Khomyn, N., Mysak, A., Tsisinska, S., Pritsak, V., Lenyo, Y., & Khomyn, M. (2019). The influence of conditions of detention the hoof and the development of aseptic inflammation of the producing layer of the base of the skin soles hooves in the cows. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(94), 179–183. doi: 10.32718/nvlvet9433.
- Kozij, V. I., Ivchenko, V. M. & Stadnik, P. O. (2000). Deyaki pitannya etiologiyi zahvoryuvan u dilyanci palcyu u visokoproduktivnih koriv. *Visnik Bilocerkiv. derzh. agrar. un-tu. Bila Cerkva*, 13(I), 49–53 (in Ukrainian).
- Ovcharov, V. V. (1998). *Diagnostika i lechebno-profilakticheskie mery pri osteodistrofii u svinomatok*. Avtoref. dis. kand. vet. nauk. Moskva (in Russian).
- Panko, I. S. (1998). *Osnovni problemy veterynarnoi khirurhii na suchasnomu etapi rozvytku tvarynnytstva*. *Visnyk Bilotserkiv. derzh. agrar. un-tu. Bila Tserkva*, 5(2), 187–190 (in Ukrainian).
- Panko, I. S. (2000). Novi pidhody do vyvchennya prychnyn ta profilaktyky hvorob ratyc u vysokoproduktivnyh koriv. *Visnik Bilocerkiv. derzh. agrar. un-tu. Bila Cerkva*, 13(1), 19–22 (in Ukrainian).
- Panko, I. S., Stadnik, P. O., & Tihonyuk, L. A. (1998). Urazhennya v dilyanci palciv u visokoproduktivnih koriv. *Veterinarna medicina Ukrayini*, 11–12, 38–39 (in Ukrainian).
- Romanenko, V. D. (1975). *Fiziologiya kalcieвого obmena*. K.: Naukova dumka (in Russian).
- Rublenko, M. V., Vlasenko, S. A., Andriiets, V. H., Yaremchuk, A. V., Shahanenko, V. S., & Berezovskyi, A. V. (2014). Kompleks suchasnykh farmakolohichnykh zasobiv dlia likuvannia nekrobakterioznykh urazhen kopytets u velykoi rohatoi khudoby. *Veterynarna medytsyna*, 98, 131–136. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed\\_2014\\_98\\_36](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetmed_2014_98_36) (in Ukrainian).
- Sudakov, M. O., Bereza, V. I., & Pogurskij, I. G. (1991). *Mikroelementozy silskogospodarskyh tvaryn*. K.: Urozhaj (in Ukrainian).
- Sudakov, M. O., Cvilihovskij, M. I., Bereza, V. I. (2002). *Vnutrishni nezarazni hvoroby tvaryn*. K.: Meta (in Ukrainian).
- Vlasenko, S. A. (2017). Patogenetichni mehanizmi porushen reproduktivnoyi funkciyi u visokoproduktivnih koriv za gnijnonekrotichnih urazhen v dilyanci palciv. Avtoref. dis. dokt. vet. nauk. Bila Cerkva (in Ukrainian).
- Yurkov, V. M. (1991). *Vliyanie sveta na rezistentnost i produktivnost zhivotnyh*. M.: Rosagropromizdat (in Russian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9908  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636;612.1:636.2.084:636.087.7

## Morphological composition of blood and clinical indicators in ball fattening on the effect of b vitamins (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>)

P. I. Golovach, M. M. Zmiya, S. O. Pokotylo

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

### Article info

Received 03.09.2020  
Received in revised form  
05.10.2020  
Accepted 06.10.2020

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-098-923-32-93  
E-mail: zmiroslava@meta.ua

**Golovach, P. I., Zmiya, M. M., & Pokotylo, S. O. (2020). Morphological composition of blood and clinical indicators in ball fattening on the effect of b vitamins (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>). Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 53–57. doi: 10.32718/nvlvet9908**

In realization of the genetic productivity potential of different species of farm animals, an important place is given to full feeding. Insufficient supply of farm animals with individual vitamins has negative impact on the activity of the relevant enzyme systems, hormonal status, metabolism of nutrients, the state of the natural resistance of the various organs and organ systems, the processes of adaptation and productivity level. Numerical searches have shown that farm animals need in different vitamins depends on the type, age, sex, physiological state, the season, the level of productivity and others. According to some reports ruminants have been providing with water-soluble B vitamins by their rumen microbial synthesis accordingly it was recommended to rations setting for cattle, sheep and goats, along with nutrients and minerals only by carotene and vitamins D and E. Specific features of the effect of different doses of complex B vitamins (thiamine hydrochloride, riboflavin, niacin, pyridoxine hydrochloride, folic acid, ciankobalamin in venous blood) on morphological composition (erythrocytes, leukocytes, platelets, hemoglobin, hematocrit, erythrocyte sedimentation rate) and clinical indicators (heart rate, respiratory rate, type temperature) at the final stage bull fattening. Studies have shown that the addition to the diet of calves for fattening balanced nutrients and minerals and fat-soluble vitamins A, D, E complex of B vitamins (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>) in appropriate doses generally positive effect on erythrocytes, leukocytes, hemoglobin, hematocrit, dose-dependent additionally introduced into the diet of B vitamins (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>). The basis for our dosage of various B vitamins for Bovine experimental groups on fattening is the corresponding percentage of the recommended doses of certain B vitamins for fattening pigs (10 % – D<sub>1</sub>, 20 % – D<sub>2</sub>, 40 % – D<sub>3</sub>, 60 % – D<sub>4</sub> group). The biggest change in terms on morphological composition in animals 3rd ((B<sub>1</sub> – 0,040; B<sub>2</sub> – 0,06; B<sub>5</sub> – 1,2; B<sub>6</sub> – 0,25; B<sub>10</sub> – 0,0030; B<sub>12</sub> – 0,0006 mg/kg body weight) and 4th (B<sub>1</sub> – 0,070; B<sub>2</sub> – 0,10; B<sub>5</sub> – 2,0; B<sub>6</sub> – 0,40; B<sub>10</sub> – 0,0050; B<sub>12</sub> – 0,0010 mg/kg body weight) research groups, and smallest – in bull 1st (B<sub>1</sub> – 0,015; B<sub>2</sub> – 0,03; B<sub>5</sub> – 0,5; B<sub>6</sub> – 0,10; B<sub>10</sub> – 0,0012; B<sub>12</sub> – 0,0002 mg/kg body weight) and 2 th (B<sub>1</sub> – 0,025; B<sub>2</sub> – 0,04; B<sub>5</sub> – 0,8; B<sub>6</sub> – 0,15; B<sub>10</sub> – 0,0020; B<sub>12</sub> – 0,0004 mg/kg body weight) research group, which is associated with dose introduced to the diet of calves during the final fattening phase of B vitamins (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>).

**Key words:** bull, vitamins B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>), erythrocytes leukocytes, trombocytes, hemoglobin, hematocrit, erythrocyte sedimentation rate, heart rate, respiratory rate, type temperature.

## Особливості морфологічного складу крові і показників клінічного статусу у бугайців на завершальному етапі відгодівлі за корекції раціону комплексом вітамінів групи В (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>)

П. І. Головач, М. М. Змія, С. О. Покотило

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Висвітлюються особливості впливу різних доз комплексу вітамінів групи В ( $V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$ ) на морфологічний склад крові (кількість еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, гематокрит, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), колірний показник, вміст гемоглобіну) і показники клінічного статусу (частота серцевих скорочень, частота дихання, температура тіла) у бугайців на заключному етапі відгодівлі. Дослідження проведено у зимово-весняний стійловий період на бугайцях української чорно-рябої молочної породи віком 12 місяців. За принципом аналогів було сформовано 5 груп дослідних тварин (контрольну і 4 дослідні) по 6 голів у кожній. Дослід тривав 6 місяців. Раціони для дослідних груп бугайців складені відповідно до рекомендованих норм із врахуванням хімічного складу кормів даної місцевості, віку тварин, живої маси, планованих середньодобових приростів. Для годівлі бугайців використовували силосний тип відгодівлі. В основу нашого дозування різних вітамінів групи В для свиней на відгодівлі (10 % – Д<sub>1</sub>, 20 % – Д<sub>2</sub>, 40 % – Д<sub>3</sub>, 60 % – Д<sub>4</sub> група). Проведені дослідження показали, що додавання до раціону бугайців на відгодівлі збалансованого за поживними і мінеральними речовинами та жиророзчинними вітамінами А, D, Е комплексу вітамінів групи В ( $V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$ ) у відповідних дозах в цілому позитивно впливає на кількісні величини морфологічного складу крові (гемопоез), і несуттєво проявляє дію на показники клінічного статусу (частоту серцевих скорочень, частоту дихання, температуру тіла) бугайців на відгодівлі, що залежить від дози додатково введених до раціону вітамінів групи В ( $V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$ ). Найбільші зміни у показниках гемопоезу і клінічного статусу у бугайців на відгодівлі за корекції їх раціону комплексом вітамінів групи В ( $V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$ ) встановлено у тварин 3-ї ( $V_1 - 0,040; V_2 - 0,06; V_5 - 1,2; V_6 - 0,25; V_{10} - 0,0030; V_{12} - 0,0006$  мг/кг живої маси) та 4-ї дослідних груп ( $V_1 - 0,070; V_2 - 0,10; V_5 - 2,0; V_6 - 0,40; V_{10} - 0,0050; V_{12} - 0,0010$  мг/кг живої маси), а найменші – у бугайців 1-ї дослідної групи ( $V_1 - 0,015; V_2 - 0,03; V_5 - 0,5; V_6 - 0,10; V_{10} - 0,0012; V_{12} - 0,0002$  мг/кг живої маси), що пов'язано із кількістю введених до раціону бугайців на заключному етапі відгодівлі вітамінів групи В ( $V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$ ).

**Ключові слова:** бугайці, вітаміни групи В ( $V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$ ), еритроцити, лейкоцити, тромбоцити, гемоглобін, гематокрит, ШОЕ, ЧСС, ЧД, температура тіла.

## Вступ

У реалізації функцій органів і генетичного потенціалу продуктивності різних видів сільськогосподарських тварин вагомим місцем відводиться повноцінній годівлі. В організмі тварин поряд із білками, вуглеводами, ліпідами і мінеральними речовинами важливі функції виконують різні вітаміни (Paienok & Husak, 1988; Val'dman et al., 1993; Vlizlo et al., 2015; Gutyj et al., 2016; Stravskyy et al., 2019; Ostapyuk & Gutyj, 2020; Slobodian et al., 2020). Недостатня забезпеченість продуктивних тварин окремими вітамінами негативно впливає на активність відповідних ферментних систем, гормональний статус, метаболізм поживних речовин, стан природної резистентності, функціонування різних органів і систем органів, процеси адаптації та рівень продуктивності (Vishchur et al., 2015; Zmiia & Holovach, 2015; Bilash, 2015; Iuskiv, 2018; Martyshchuk & Gutyi, 2019; Martyshuk et al., 2019; 2020; Iaremko, 2020).

Чисельними дослідженнями доведено, що потреба сільськогосподарських тварин у різних вітамінах залежить від виду, віку, статі, фізіологічного стану, сезону року, рівня продуктивності та ін. За даними окремих повідомлень (Kalashnikov et al., 2003; Ibatullin et al., 2007; Provatorov et al., 2009; Cherny et al., 2016) жуйні тварини водорозчинними вітамінами групи В забезпечуються за рахунок їх синтезу мікрофлорою рубця, відповідно рекомендовано проводити нормування раціонів для великої рогатої худоби, овець і кіз поряд із поживними та мінеральними речовинами лише за каротином і вітамінами D та E. Проте в окремих дослідженнях (Stojanovskij, 1985; Girard, 1998; Feofilova, 2006; Holovach & Yaremko, 2013; Zmiia & Holovach, 2017) відмічено, що синтезованих вітамінів групи В мікрофлорою рубця великої рогатої худоби недостатньо для забезпечення їх оптимальною кількістю. Враховуючи, що різні водорозчинні вітаміни виконують життєво важливі функції, а генетичний потенціал м'ясної і молочної продуктивності великої рогатої худоби постійно зростає нами була поставле-

на мета дослідити вплив додаткового введення до основного раціону бугайців на відгодівлі збалансованого за поживними і мінеральними речовинами та жиророзчинними вітамінами А, D, Е комплексу основних вітамінів групи В ( $V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$ ) у відповідних кількостях на окремі показники фізіологічного статусу, обміну речовин, продуктивність і якість яловичини.

В основу нашого дозування різних вітамінів групи В для бугайців на відгодівлі взято відповідний відсоток (10 % – Д<sub>1</sub>, 20 % – Д<sub>2</sub>, 40 % – Д<sub>3</sub>, 60 % – Д<sub>4</sub> група) від рекомендованих доз цих вітамінів для молодняка свиней на відгодівлі з планованим середньодобовим приростом 800 г (Provatorov et al., 2009).

У цьому повідомленні наводяться дані про дослідження впливу різних доз комплексу вітамінів групи В ( $V_1, V_2, V_5, V_6, V_{10}, V_{12}$ ) на морфологічний склад крові (гемопоез) і показники клінічного статусу (частота серцевих скорочень, частота дихання, температура тіла) у бугайців на заключному етапі відгодівлі.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено у ПАФ “Білий стік” Сокальського району Львівської області у зимово-весняний стійловий період на бугайцях української чорно-рябої молочної породи віком 12 місяців. За принципом аналогів було сформовано 5 груп дослідних тварин (контрольну і 4 дослідні) по 6 голів у кожній. Дослід тривав 6 місяців.

Раціони для дослідних груп бугайців складені відповідно до рекомендованих норм (Kalashnikov et al., 2003; Ibatullin et al., 2007) із врахуванням хімічного складу кормів даної місцевості, віку тварин, живої маси, планованих середньодобових приростів. Для годівлі бугайців використовували силосний тип відгодівлі. При цьому в раціон бугайців дослідних груп до основного раціону збалансованого за поживними і мінеральними речовинами та жиророзчинними вітамінами А, D, Е щоденно вводили додатково до комбікорму під час ранкової годівлі комплекс вітамінів

групи В (тіамін хлорид, рибофлавін, нікотинова кислота, піридоксин гідрохлорид, фолієва кислота, ціанкобаламін) у відповідних кількостях з розрахунку на 1 кг маси тіла (табл. 1).

У венозній крові визначали: кількість еритроцитів за методикою А. І. Воробйова (1959), вміст гемоглобіну – за методикою Г. В. Дервіза, А. І. Воробйова (1959), кількість лейкоцитів і тромбоцитів підраховували в камері Горяєва, гематокритну величину –

мікрометодом Тодорова (Кондрахін І. П. та ін., 1985), ШОЕ – мікрометодом Панченкова, колірний показник, середній об'єм еритроцита (СОЕ), середню кількість гемоглобіну в еритроциті (МСV), середню концентрацію гемоглобіну в одному еритроциті (МСН) вираховували за загальноприйнятими формулами. Венозну кров отримували до ранкової годівлі із яремної вени, як антикоагулянт використовували 5 % розчин цитрату натрію.

**Таблиця 1**

Схема проведення дослідів

Групи тварин	К-ть тварин у групі	Дозування вітамінів, мг/кг маси тіла
Контрольна	6	ОР (основний раціон)
Дослідні	1	ОР + вітаміни: В <sub>1</sub> – 0,015; В <sub>2</sub> – 0,03; В <sub>5</sub> – 0,5; В <sub>6</sub> – 0,10; В <sub>10</sub> – 0,0012; В <sub>12</sub> – 0,0002
	2	ОР + вітаміни: В <sub>1</sub> – 0,025; В <sub>2</sub> – 0,04; В <sub>5</sub> – 0,8; В <sub>6</sub> – 0,15; В <sub>10</sub> – 0,0020; В <sub>12</sub> – 0,0004
	3	ОР + вітаміни: В <sub>1</sub> – 0,040; В <sub>2</sub> – 0,06; В <sub>5</sub> – 1,2; В <sub>6</sub> – 0,25; В <sub>10</sub> – 0,0030; В <sub>12</sub> – 0,0006
	4	ОР + вітаміни: В <sub>1</sub> – 0,070; В <sub>2</sub> – 0,10; В <sub>5</sub> – 2,0; В <sub>6</sub> – 0,40; В <sub>10</sub> – 0,0050; В <sub>12</sub> – 0,0010

Частоту дихальних рухів, частоту серцевих скорочень і температуру тіла вимірювали за загальноприйнятими методиками. Цифрові дані, отримані в експериментах, опрацьовано за методикою І. А. Ойвіна (1960) із використанням програми Microsoft Excel. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при  $P < 0,05^*$ ,  $P < 0,01^{**}$  та  $P < 0,001^{***}$ .

**Результати та їх обговорення**

У результаті проведених досліджень встановлено, що додавання до раціону бугайців дослідних груп збалансованого за поживними і мінеральними речовинами та жиророзчинними вітамінами А, D, Е на заключному етапі відгодівлі комплексу вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>) у відповідних кількостях в цілому позитивно впливає на більшість досліджуваних показників еритро-, лейко- і тромбоцитопозу, а також на рівень гематокриту, вміст гемоглобіну і швидкість осідання еритроцитів, причому величини змін морфофункціональних показників венозної крові залежать від дози додатково введених до основного раціону вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>). Виявлено статистично вірогідне зростання кількості

еритроцитів у крові бугайців Д<sub>2</sub>, Д<sub>3</sub>, Д<sub>4</sub> груп відповідно до  $6,6 \pm 0,4$ ;  $7,3 \pm 0,2$  та  $7,4 \pm 0,3$  Т/л, що було вищим на 15,8 ( $P < 0,05$ ), 28,1 ( $P < 0,001$ ) та 29,8 % ( $P < 0,001$ ) порівняно із тваринами контрольної групи. Проте, отримані числові значення не виходили за верхню межу фізіологічної норми для даного виду і віку тварин.

Відповідно, виявлено також вищу концентрацію гемоглобіну у крові бугайців Д<sub>1</sub>, Д<sub>2</sub>, Д<sub>3</sub>, Д<sub>4</sub> груп, що було на 6,7 ( $P > 0,05$ ), 14,3 ( $P < 0,05$ ), 24,4 ( $P < 0,001$ ) та 26,8 % ( $P < 0,001$ ) більше порівняно з тваринами контрольної групи. Гематокритна величина у тварин контрольної групи становила  $0,31 \pm 0,02$  л/л, а у бугайців Д<sub>1</sub>, Д<sub>2</sub>, Д<sub>3</sub>, Д<sub>4</sub> груп величина цього показника зростала відповідно до  $0,33 \pm 0,03$ ;  $0,35 \pm 0,01$ ;  $0,39 \pm 0,02$  та  $0,40 \pm 0,02$  л/л, що було більше на 6,5 ( $P > 0,05$ ), 12,9 ( $P < 0,05$ ), 25,8 ( $P < 0,01$ ) та 29,0 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з контролем. Подібну динаміку змін порівняно із загальною кількістю еритроцитів і показником гематокриту крові бугайців за впливу добавки комплексу вітамінів групи В виявлено і у показнику швидкості осідання еритроцитів у крові тварин дослідних груп (табл. 2).

**Таблиця 2**

Морфологічний склад крові бугайців на відгодівлі за згодовування вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>) упродовж 6 місяців ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )

Показники	Групи тварин				
	К	Д <sub>1</sub>	Д <sub>2</sub>	Д <sub>3</sub>	Д <sub>4</sub>
Гематокритна величина, л/л	$0,31 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,03$	$0,35 \pm 0,01^*$	$0,39 \pm 0,02^{**}$	$0,40 \pm 0,02^{**}$
Кількість еритроцитів, Т/л	$5,7 \pm 0,2$	$6,2 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,4^*$	$7,3 \pm 0,2^{***}$	$7,4 \pm 0,3^{***}$
Кількість лейкоцитів, Г/л	$7,9 \pm 0,2$	$8,2 \pm 0,4$	$8,8 \pm 0,2^*$	$9,1 \pm 0,3^{**}$	$9,3 \pm 0,4^{**}$
Кількість тромбоцитів, Г/л	$348,5 \pm 17,5$	$350,8 \pm 18,7$	$353,7 \pm 21,3$	$360,4 \pm 18,9$	$362,8 \pm 16,9$
Вміст гемоглобіну, г/л	$102,7 \pm 4,0$	$109,6 \pm 4,8$	$117,4 \pm 4,9^*$	$127,8 \pm 2,8^{***}$	$130,2 \pm 3,5^{***}$
Колірний показник	$0,90 \pm 0,05$	$0,88 \pm 0,04$	$0,88 \pm 0,02$	$0,88 \pm 0,03$	$0,88 \pm 0,04$
МСV, пг	$18,02 \pm 0,13$	$17,68 \pm 0,14$	$17,79 \pm 0,17$	$17,64 \pm 0,25$	$17,60 \pm 0,16$
МСН, %	$33,12 \pm 0,35$	$33,21 \pm 0,28$	$33,54 \pm 0,42$	$32,78 \pm 0,31$	$32,55 \pm 0,32$
СОЕ, мкм <sup>3</sup>	$54,39 \pm 0,24$	$53,23 \pm 0,36$	$53,03 \pm 0,29$	$53,42 \pm 0,17$	$54,05 \pm 0,24$
ШОЕ, мм/год	$1,12 \pm 0,05$	$1,16 \pm 0,06$	$1,27 \pm 0,04^*$	$1,32 \pm 0,04^{**}$	$1,33 \pm 0,05^{**}$

Одночасно з цим, у крові бугайців дослідних груп відмітили збільшення кількості лейкоцитів. Статистично вірогідні зміни встановлено у тварин Д<sub>2</sub>, Д<sub>3</sub>, Д<sub>4</sub> груп. Так, у бугайців контрольної групи кількість лейкоцитів становила  $7,9 \pm 0,2$  Г/л, а у тварин Д<sub>1</sub>, Д<sub>2</sub>, Д<sub>3</sub>, Д<sub>4</sub> груп їх кількість зросла до  $8,2 \pm 0,4$ ;  $8,8 \pm 0,2$ ;  $9,1 \pm 0,3$  та  $9,3 \pm 0,4$  Г/л, що було на  $3,8$  ( $P > 0,05$ ),  $11,4$  ( $P < 0,05$ ),  $15,2$  ( $P < 0,01$ ) та  $17,7$  % ( $P < 0,01$ ) більше порівняно з контролем. Що стосується вмісту

тромбоцитів, то встановлено, що їх кількість у крові бугайців контрольної групи становила  $348,5 \pm 17,5$  Г/л, у тварин Д<sub>1</sub> і Д<sub>2</sub> груп число кров'яних пластинок залишилось майже на тому ж рівні ( $350,8 \pm 18,7$  та  $353,7 \pm 21,3$  Г/л), а у бугайців Д<sub>3</sub> і Д<sub>4</sub> груп цей показник підвищився до  $360,4 \pm 18,9$  і  $362,8 \pm 16,9$  Г/л, проте зміни не є статистично вірогідними ( $P > 0,05$ ).

### Таблиця 3

Показники клінічного статусу бугайців на відгодівлі за згодовування вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>) упродовж 6 місяців ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ )

Показники	Групи тварин				
	К	Д <sub>1</sub>	Д <sub>2</sub>	Д <sub>3</sub>	Д <sub>4</sub>
Частота дихання, дих. рух/хв	$24,3 \pm 1,3$	$24,6 \pm 1,7$	$25,1 \pm 1,6$	$25,6 \pm 1,5$	$25,7 \pm 1,4$
Частота серцевих скорочень/хв	$68,3 \pm 2,4$	$67,9 \pm 3,1$	$68,5 \pm 3,4$	$68,9 \pm 2,8$	$68,8 \pm 3,2$
Температура тіла, °С	$38,8 \pm 0,7$	$38,7 \pm 0,9$	$38,7 \pm 0,7$	$38,9 \pm 0,8$	$38,8 \pm 0,9$

Менш суттєві і статистично не вірогідні зміни ( $P > 0,05$ ) у бугайців дослідних груп (Д<sub>1</sub>, Д<sub>2</sub>, Д<sub>3</sub>, Д<sub>4</sub>) на заключному етапі відгодівлі за корекції їх раціону відповідними дозами вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>) відмічено у величині колірного показника крові, індексах еритроцитів (середній об'єм еритроцита, середня кількість гемоглобіну в еритроциті, середня концентрація гемоглобіну в одному еритроциті).

Щодо впливу комплексу вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>) на показники клінічного статусу тварин (частота дихання, частота серцевих скорочень, температура тіла) (табл. 3) то ці показники не відрізнялись суттєво у тварин контрольної і дослідних груп ( $P > 0,05$ ).

### Висновки

Проведені дослідження показали, що додавання до раціону бугайців збалансованого за поживними і мінеральними речовинами та жиророзчинними вітамінами А, D, Е на заключному етапі відгодівлі комплексу вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>) у відповідних кількостях викликає статистично вірогідне підвищення у крові вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів і лейкоцитів та не впливає на інтенсивність тромбоцитопоезу і величину показників клінічного статусу (температуру тіла, частоту серцевих скорочень і частоту дихання).

Найбільші зміни у показниках морфологічного складу крові бугайців на заключному етапі відгодівлі встановлено у тварин 3-ої (ОР + вітаміни: В<sub>1</sub> – 0,040; В<sub>2</sub> – 0,06; В<sub>5</sub> – 1,2; В<sub>6</sub> – 0,25; В<sub>10</sub> – 0,0030; В<sub>12</sub> – 0,0006 мг на кг маси тіла) та 4-ої дослідних груп (ОР + вітаміни: В<sub>1</sub> – 0,070; В<sub>2</sub> – 0,10; В<sub>5</sub> – 2,0; В<sub>6</sub> – 0,40; В<sub>10</sub> – 0,0050; В<sub>12</sub> – 0,0010 мг на кг живої маси), а найменші зміни – у бугайців 1 дослідної групи, що пов'язано із дозою введених до основного раціону бугайців на відгодівлі вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>).

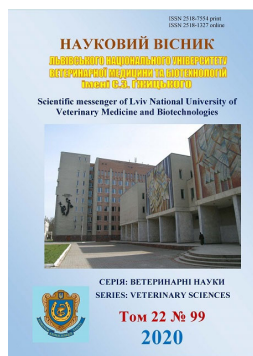
*Перспективи подальших досліджень.* В подальшому плануємо вивчення впливу різних доз вітамінів групи В (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>10</sub>, В<sub>12</sub>) на обмін ліпідів і стан системи антиоксидантного захисту у бугайців на відгодівлі.

### References

- Bilash, Y. P. (2015). Fatty acid composition of bulls plasma lipids fed diets with different contents of vitamin e and selenium. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 17(1), 3–7. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/255>.
- Cherny, M. V., Petrenko, A. M., Kushch, L. L., & Logachova, L. O. (2016). Mobes use and vitamin b12 in growing kids in the unregulated climate. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18(1), 196–201. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/117>.
- Feofilova, Ju. B. (2006). Problema obespechennosti molodnjaka krupnogo rogatogo skota vitaminami V1 i V2. *Zootehnika*, 7, 18–19. URL: <http://naukarus.com/problema-obespechennosti-molodnyaka-krupnogo-rogatogo-skota-vitaminami-v1-i-v2> (in Russian).
- Girard, C. L. (1998). B-complex vitamins for dairy cows: A new approach. *Can. J. Anim. Sci.*, 78, 71–90.
- Gutyj, B., Hufriy, D., Hunchak, V., Khariv, I., Levkivska, N., & Huberuk, V. (2016). The influence of metisevit and metifen on the intensity of lipid per oxidation in the blood of bulls on nitrate load. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18(3(70)), 67–70. doi: 10.15421/nvlvet7015.
- Holovach, P. I., & Yaremko, O. V. (2013). Osoblyvosti erytrotsytopenozu u teliat molochnoho periodu vyroshchuvannya za riznoho rinvnia pirydoksynu v ratsioni. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhyskoho*, 15, 1(2), 31–35.



- URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2013\\_15\\_1%282%29\\_\\_8](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2013_15_1%282%29__8) (in Ukrainian).
- Iaremko, O. V. (2020). Immunofiziologichniy status orhanizmu ta intensyvnyy rozvytku teliat molochnoho periodu vyroshchuvannya za dii pirydoksynu hidrokhloridu: avtoref. dys. ... kand. s.-h. nauk: 03.00.13. Lviv (in Ukrainian).
- Ibatullin, I. I., Melnychuk, B. O., & Bohdanov, H. O. (2007). Hodivlia silskohospodarskykh tvaryn: pidruchnyk. Vinnytsia: Nova Knyha (in Ukrainian).
- Iuskiv, L. L. (2018). Biokhimichne ta klinichne obgruntuvannya zastosuvannya vitaminu D3 i yoho rol v orhanizmi ve-lykoi rohatoi khudoby: avtoref. dys. ... dok. vet. nauk: 03.00.04. Lviv (in Ukrainian).
- Kalashnikov, A. P., Fisinini, I. V., Shhegllov, V. V., & Klejmenov, I. I. (2003). Normy i raciony kormleniya sel'skoho-zhajstvennykh zhyvotnykh: spravochnoe posobie. 3-e izd. Moskva (in Russian).
- Martyschuk, T. V., & Gutyi, B. V. (2019). Influence of feed additive "Butaselmavit Plus" on the indicators of rats blood under the conditions of their poisoning with Tetrachloromethane. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 7(2), 79–83. doi: 10.32819/2019.71014.
- Martyschuk, T. V., Gutyj, B. V., Vishchur, O. I., & Todoriuk, V. B. (2019). Biochemical indices of piglets blood under the action of feed additive "Butaselmavit-plus". *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2(2), 27–30. doi: 10.32718/ujvas2-2.06.
- Martyschuk, T. V., Gutyj, B. V., Zhelavskiy, M. M., Midyk, S. V., Fedorchenko, A. M., Todoriuk, V. B., Nahirniak, T. B., Kisera, Ya. V., Sus, H. V., Chermerys, V. A., Levkivska, N. D., & Iglitskej, I. I. (2020). Effect of Butaselmavit-Plus on the immune system of piglets during and after weaning. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 347–352. doi: 10.15421/2020\_106.
- Ostapyuk, A. Y., & Gutyj, B. V. (2020). Influence of milk thistle, methifene and sylimevit on the morphological parameters of laying hens in experimental chronic cadmium toxicosis. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 3(1), 42–46. doi: 10.32718/ujvas3-1.08.
- Paienok, S. M., & Husak, Ya. S. (1988). Vitaminy v tvarynnytstvi: dovidnyk. Lviv: Kameniar (in Ukrainian).
- Provatorov, H. V., Ladyka, Z. I., & Bondarchuk, L. V. (2009). Normy hodivli, ratsiony i pozhyvnyy kormiv dlia ri-znykh vydiv silskohospodarskykh tvaryn: dovidnyk. 2-e vyd. Sumy: Universytetska knyha (in Ukrainian).
- Slobodian, S. O., Gutyj, B. V., & Murska, S. D. (2020). Effect of sodium selenite and feed additive "Metisevit plus" on morphological parameters of blood of rats at the intoxication of Cadmium and Lead. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 22(97), 52–57. doi: 10.32718/nvvet9710.
- Stojanovskij, S. V. (1985). Bioenergetika sel'skoho-zhajstvennykh zhyvotnykh: osobennosti i reguljacija. Moskva: Agropromizdat (in Russian).
- Stravskyy, Y., Stefanyk, V., & Zavrucha, V. (2019). Influence of the preparation "Prodevit-tetra" and "Nanovit" on endogenous intoxication of cows during the dry period. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(94), 74–77. doi: 10.32718/nvvet9413.
- Val'dman, A. R., Suraj, P. F., Ionov, I. A., & Sahackij, N. I. (1993). Vitaminy v pitanie zhyvotnykh. Har'kov: RNP Original (in Russian).
- Vishchur, O. I., Mudrak, D. I., Broda, N. A., Ratskyi, M. I., & Matiukha, I. O. (2015). Vplyv vitaminno-mineralnoho kom-pleksu "Olihovit" na pokaznyky fahotsytozu neitrofiliv krovi u tilnykh koriv-pervistok ta yikh teliat. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhytskoho*, 17, 3(63), 3–8. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2015\\_17\\_3\\_3](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2015_17_3_3) (in Ukrainian).
- Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., & Makar, I. A. (2004). Fiziologo-biokhimichni metody doslidzhen u biolohii, tvaryn-nytstvi ta veterynarnii medytsyni: dovidnyk. 3-ye vyd. Lviv: VKP "VMS" (in Ukrainian).
- Vlizlo, V. V., Kurtiak, B. M., Vudmaska, I. V., Vishchur, O. I., & Petruk, A. P. (2015). Zhyrozochyenni vitaminy u veterynarnii medytsyni ta tvarynnytstvi: monohrafiia. 2-he vyd., dopov. i pererob. Lviv: Spolom (in Ukrainian).
- Zmiia, M. M., & Holovach, P. I. (2015). Vmist zahalnoho bilka ta yoho fraktsii u syrovattsi krovi buhaisiv na vidhodi-vli za vplyvu vitaminiv hrupy V. *Fiziologichniy zhurnal*, 61(3), 131–132 (in Ukrainian).
- Zmiia, M. M., & Holovach, P. I. (2017). Osoblyvosti khimichnoho skladu i kaloriinosti miazovoi tkanyny buhaisiv na vidhodi-vli za korektsii ratsionu kompleksom vitaminiv hrupy V (V1, V2, V5, V6, V10, V12). *Problemy zoonzhenerii ta veterynarnoi medytsyny. Zbirnyk naukovykh prats KhDZA. Kharkiv: RVV KhDZVA*, 4(2), 60–64. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm\\_2017\\_34%282%29\\_\\_14](http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2017_34%282%29__14) (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9909

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.7:616.995.42

## The effectiveness of methods for laboratory diagnosis of otodectosis in dogs

L. Korchan, A. Zamazyi

Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine

### Article info

Received 05.09.2020

Received in revised form

05.10.2020

Accepted 06.10.2020

Poltava State Agrarian Academy,

Skovorody Str., 1/3,

Poltava, 36003, Ukraine.

Tel.: +38-095-158-85-78

E-mail: korchanl98@gmail.com

**Korchan, L., & Zamazyi, A. (2020). The effectiveness of methods for laboratory diagnosis of otodectosis in dogs. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 58–62. doi: 10.32718/nvlvet9909**

Otodectosis in domestic dogs is caused by ectoparasites of the species *Otodectes cynotis* (Hering, 1838), which parasitize on the inner surface of the auricles, the external auditory canal and the eardrum. The invasion is accompanied by severe itching, otitis, anxiety of animals, and sometimes – their death due to complications. The effectiveness of measures to combat otodectosis in dogs largely depends on the correct and accurate diagnosis of the invasion. At the same time, existing laboratory methods have different diagnostic efficiency. The aim of the study was to establish the effectiveness of mortal and vital methods of lifelong diagnosis of otodectosis in dogs. The effectiveness of modern methods of laboratory diagnosis of live and dead ticks of the species *O. cynotis* in dogs has been established. The most effective methods have been identified, the use of which will improve the quality of acarological research. Studies have shown that the most effective method of mortal methods was A. M. Titarenko, where a mixture of 50% aqueous solution of glycerin, dimethyl sulfoxide and 10% sodium hydroxide solution (the intensity of the invasion was 5.4 specimens of mites) was used as an illuminator. This method exceeded the intensity of invasion using the compressor method – 2 times (2.7 specimens of mites,  $P < 0.001$ ), the flotation method – 1.2 times (4.5 specimens of mites). At the same time, the flotation method for otodectosis in dogs was 1.7 times more effective ( $P < 0.001$ ) than the use of the compressor method. Of the vital methods of laboratory diagnosis of otodectosis in dogs, the most effective was the method using vegetable oil as a scraper clarifier, the intensity of the invasion was 5.9 copies. ticks. The use of this technique in terms of the number of detected otodectes exceeded the method of A.V. Alfimova (influence of elevated temperature) – 2.1 times (2.8 specimens of mites,  $P < 0.001$ ) and the method of M.G. Khatin (centrifugation under the influence of elevated temperature) – 1.3 times (4.6 specimens of mites,  $P < 0.001$ ). In addition, the congratulatory method of M. G. Khatin in the diagnosis of otodectosis was 1.6 times more effective ( $P < 0.001$ ) than the method of A. V. Alfimova.

**Key words:** ectoparasites, *Otodectes cynotis*, dogs, laboratory diagnostics, diagnostic efficiency.

## Ефективність методів лабораторної діагностики отодектозу собак

Л. М. Корчан, А. А. Замазій

Полтавська державна аграрна академія, м. Полтава, Україна

Отодектоз у домашніх собак викликають ектопаразити виду *Otodectes cynotis* (Hering, 1838), що паразитують на внутрішній поверхні вушних раковин, зовнішньому слуховому проході та барабанній перетинці. Інвазія супроводжується сильним свербіжем, отитом, занепокоєнням тварин, іноді – їх загибеллю внаслідок ускладнень. Результативність заходів боротьби з отодектозом собак значною мірою залежить від правильного й точного діагностування інвазії. Водночас, існуючі лабораторні методи мають різну діагностичну ефективність. Метою роботи було встановити ефективність мортальних та вітальних методів життєвої діагностики отодектозу в собак. Встановлено ефективність сучасних методів лабораторної діагностики виявлення живих та мертвих кліщів виду *O. cynotis* у собак. Визначено найефективніші методики, застосування яких дозволить підвищити якість проведення акарологічних досліджень. Проведеними дослідженнями встановлено, що з мортальних методів найбільш ефективним виявився метод А. М. Титаренко, де як просвітлювач матеріалу використовували суміш 50 % водного розчину гліцерину, диметилсульфоксиду і 10 % розчину ідокого натру (інтенсивність інвазії становила 5,4 екз. кліщів). Цей метод перевищував показники

інтенсивності інвазії за використання компресорного методу – у 2 рази (2,7 екз. кліщів,  $P < 0,001$ ), флотаційного методу – у 1,2 разу (4,5 екз. кліщів). Водночас флотаційний метод за отодектозу собак виявився ефективнішим у 1,7 разу ( $P < 0,001$ ), ніж застосування компресорного методу. З вітальних методів лабораторної діагностики отодектозу в собак найбільш ефективним виявився спосіб із застосуванням рослинної олії як просвітлювача зіскрібків, інтенсивність інвазії становила 5,9 екз. кліщів. Використання даної методики за показниками кількості виявлених отодектесів перевищувало спосіб А. В. Алфімової (вплив підвищеної температури) – у 2,1 разу (2,8 екз. кліщів,  $P < 0,001$ ) та спосіб М. Г. Хатіна (центрифугування за впливу підвищеної температури) – у 1,3 разу (4,6 екз. кліщів,  $P < 0,001$ ). Також вітальний спосіб М. Г. Хатіна при діагностиці отодектозу був ефективнішим у 1,6 разу ( $P < 0,001$ ), ніж спосіб А. В. Алфімової.

**Ключові слова:** ектопаразити, *Otodectes cynotis*, собаки, лабораторна діагностика, діагностична ефективність.

## Вступ

Акарози – це велика група інвазійних захворювань, що викликаються акариформними кліщами. У природі їх налічується близько 10000 видів. Одним з ектопаразитів, що має важливе медико-ветеринарне значення, є кліщ виду *Otodectes cynotis* (Radford, 1943; Lopez, 1993; Lohse et al., 2002). Значне поширення даного збудника обумовлюється збільшенням поголів'я домашніх собак і котів, збільшенням популяції безпритульних тварин, утриманням домашніх м'ясоїдних на низькому рівні ветеринарного обслуговування (Tonn, 1961; Chee et al., 2008; Lefkaditis et al., 2009; Fanelli et al., 2020).

Результативність заходів боротьби з отодектозом собак значною мірою залежить від правильного й точного діагностування інвазії. Загальновідомо, що з метою дослідження зіскрібків зі шкіри тварини на наявність *O. cynotis* застосовують мортальні та вітальні методи. Мортальні методики спрямовані на виявлення мертвих кліщів, а вітальні методи – живих, що має значення для оцінки ефективності проведеного лікування (Kraft et al., 1988; Radlinsky, 2016; Combarros et al., 2019).

Існує багато мортальних методів для виявлення отодектесів. Це методи, які ґрунтуються на обробці відібраного від тварини матеріалу розчинами, що згубно діють на кліщів. Водночас відбувається просвітлення зіскрібку та його розм'якшення. З найвідоміших – методи із застосуванням 5–10 % розчину КОН чи NaOH; флотаційний метод; різні модифікації з додаванням диметилсульфоксиду, гліцерину, із застосуванням центрифугування (Foley, 1991; Wall & Shearer, 2001; Soulsby, 2005).

Багато науковців пропонують різноманітні вітальні методики виявлення живих кліщів. З них найвідоміші способи, які засновані на чутливості акариформних кліщів до підвищення температури. Внаслідок цього паразити починають активно рухатися у теплій рідині або вони активно виповзають із матеріалу, що робить їх помітними (Medvedev, 1999; Tretjakov et al., 2006). Інші автори удосконалювали вітальні методи шляхом додавання до матеріалу різних речовин, які гарантують високий ступінь його просвітлення та водночас не діють згубно на кліщів. Так, було запропоновано додавання до відібраного зіскрібку зі шкіри вазеліново-диметилсульфоксидної суміші, де вазелін зменшує трансепідермальну втрату вологи, а диметилсульфоксид – сприяє кращому проникненню вазеліну в кірочки (Ponomarenko, 2004). Окремі автори визначили, що відбір матеріалу із зовнішнього слухово-

го проходу та внутрішньої поверхні вушної раковини за допомогою стерильної гігроскопічної вати, змоченої 3 % розчином перекису водню, дозволяє витратити мінімум часу для досліджень, а також зумовлює кращий вихід кліщів з кірочок, ніж загальновідомі вітальні методи (Manzhos & Lavrinenko, 2008).

Отже, незважаючи на значну кількість запропонованих науковцями вітальних та мортальних методів лабораторної діагностики акарозів собак, викликаних акариформними кліщами, на сьогодні немає загально-визнаного способу, який би забезпечував високу діагностичну ефективність незалежно від збудника інвазії. Тому є необхідність встановлення ефективності методів зажиттєвої діагностики за конкретної інвазії м'ясоїдних тварин з метою подальшої рекомендації у виробництво.

У зв'язку з вищенаведеним, метою роботи було встановити ефективність мортальних та вітальних методів зажиттєвої діагностики отодектозу в собак.

## Матеріали і методи досліджень

Роботу виконували упродовж 2020 р. на базі лабораторії кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи, а також лабораторії кафедри інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки Полтавської державної аграрної академії. З метою вивчення діагностичної ефективності зажиттєвої діагностики отодектозу в собак порівнювали загальновідомі вітальні методи – за А. В. Алфімовою (з використанням термостату), за В. О. Євстаф'євою і В. Ф. Галатом (з використанням рослинної олії), за М. Г. Хатіним (з використанням центрифугування) та мортальні методи – компресорне дослідження (з використанням розчину їдкого натру), флотаційний спосіб (з використанням гіпертонічного розчину аміачної селітри), за А. М. Титаренко (з використанням гліцерину, диметилсульфоксиду та розчину їдкого натру).

Зіскрібки відбирали з шкіри внутрішньої поверхні вушних раковин площею 6 см<sup>2</sup>. Враховували показники інтенсивності інвазії (II, екз. кліщів). Всього проведено 120 досліджень зіскрібків зі шкіри хворих на отодектоз собак.

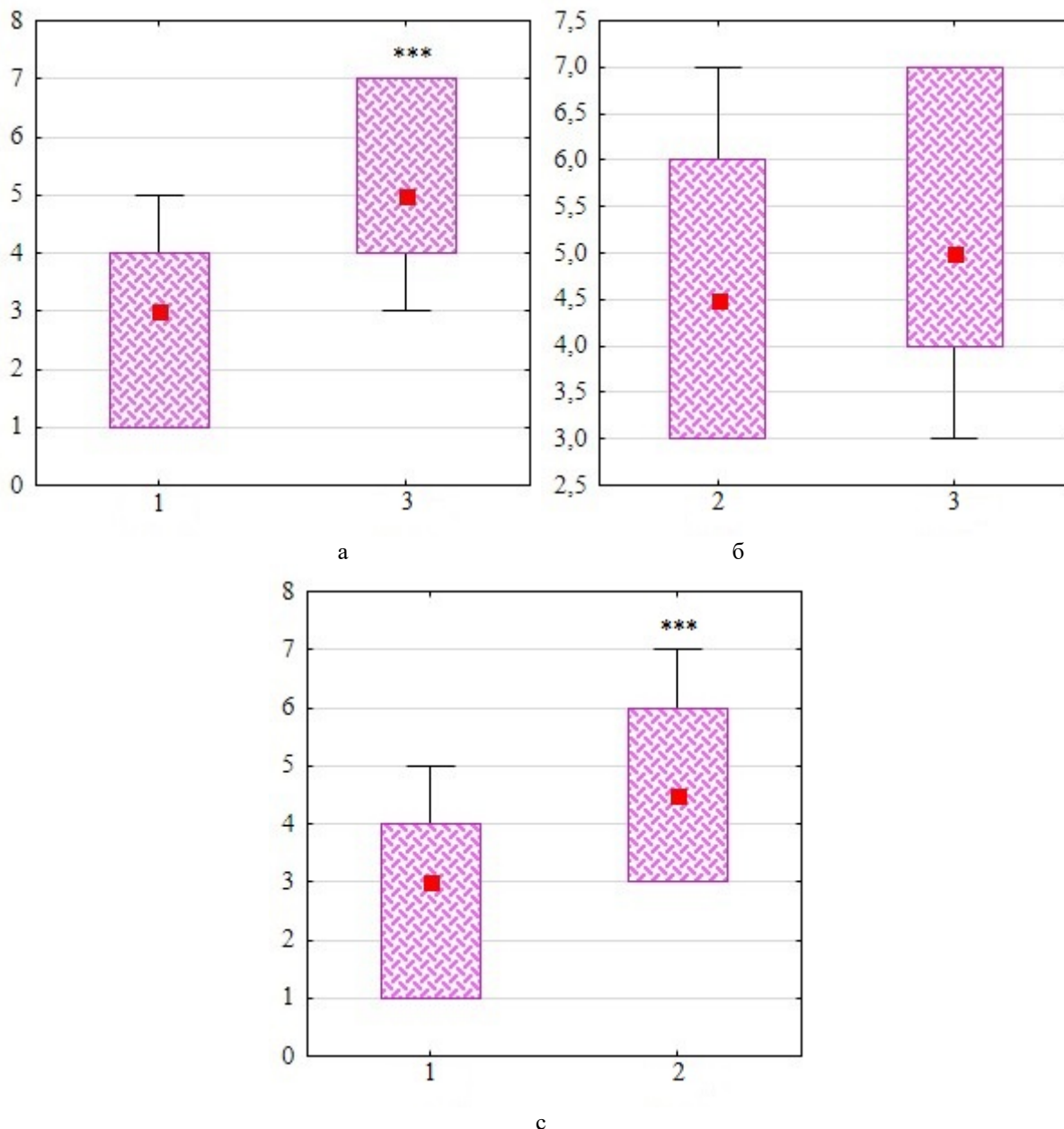
Математичний аналіз отриманих даних проводили з використанням програми Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Розраховували стандартні відхилення (SD) і середні значення ( $\bar{x}$ ). Достовірність відмінностей середніх величин визначали за допомогою методики однофакторного дисперсійного аналізу, використо-

вуючи критерій Фішера. Значення  $P < 0,05$  вважали достовірним.

### Результати та їх обговорення

Проведеними дослідженнями встановлено, що при застосуванні як мортальних, так і вітальних методів діагностики у досліджуваних собак виявляли кліщів виду *Otodectes cynotis*. Однак їх діагностична ефективність достатньо різнилася. Так, з мортальних методів найефективнішим виявився метод А. М. Титаренко,

де як просвітлювач матеріалу використовували суміш 50 % водного розчину гліцерину, диметилсульфоксиду і 10 % розчину їдкого натру (1 : 1 : 1). Інтенсивність інвазії становила  $5,40 \pm 1,31$  екз. кліщів, що у 2 рази ( $P < 0,001$ ) більше, ніж за використання компресорного методу ( $\Pi - 2,70 \pm 1,45$  екз.) та 1,2 разу більше, ніж за використання флотаційного методу ( $4,56 \pm 1,50$  екз.) (рис. 1 а, б). Водночас флотаційний метод за отодектозу собак виявився ефективнішим у 1,7 разу ( $P < 0,001$ ), ніж застосування компресорного методу (рис. 1 с).



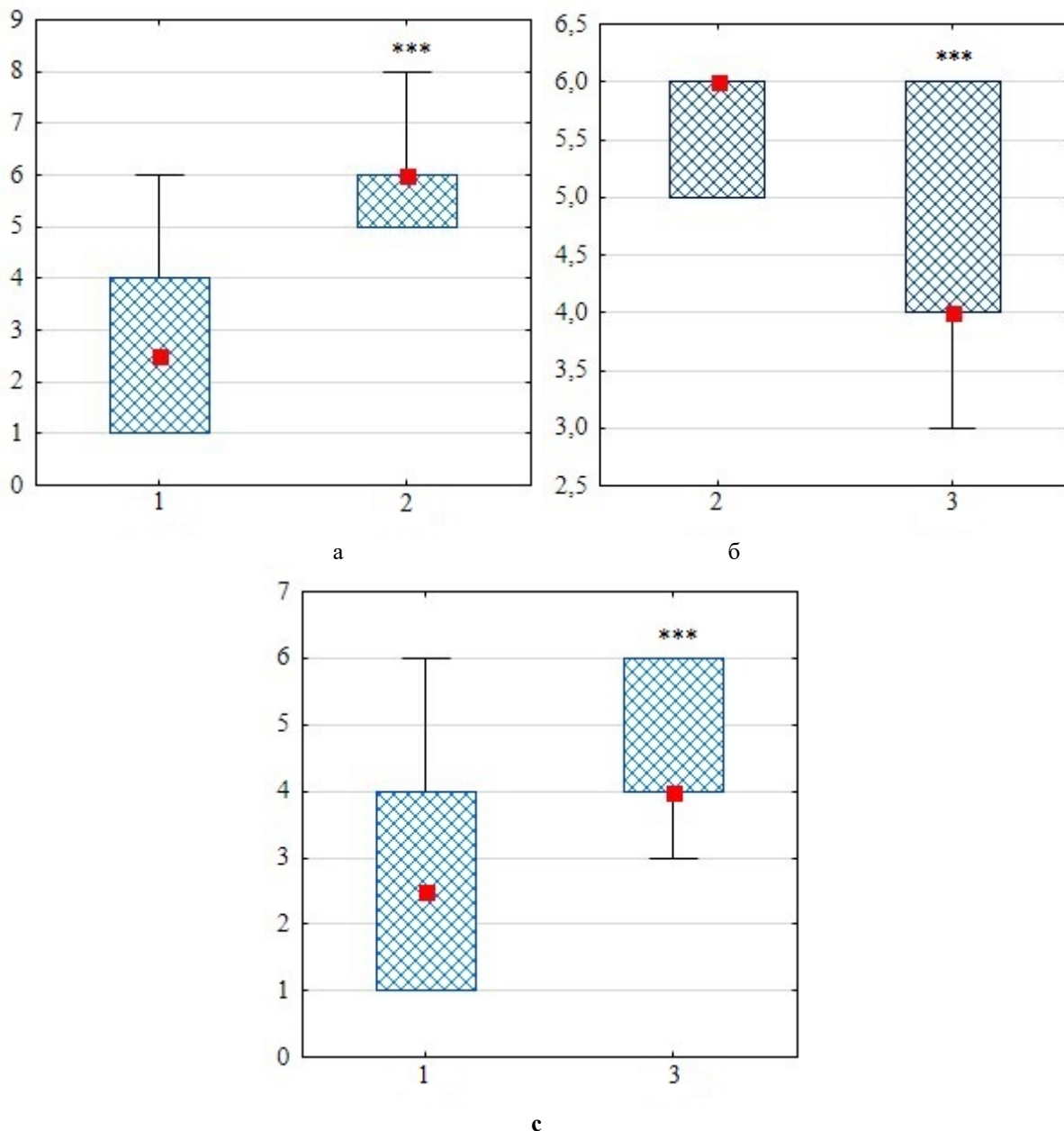
**Рис. 1.** Порівняльна ефективність мортальних методів лабораторної діагностики отодектозу собак (n = 20): 1 – метод компресорного дослідження, 2 – флотаційний метод, 3 – метод за А. М. Титаренко; \*\*\*  $P < 0,001$

При порівнянні ефективності вітальних методів діагностики отодектозу собак виявлено, що найбільші значення інтенсивності інвазії ( $5,95 \pm 1,00$  екз. кліщів) отримано за умов застосування способу В. О. Євстаф'євої і В. Ф. Галата із використанням рослинної олії в як просвітлювача зіскрібків. Викори-

стання даної методики за показниками кількості виявлених отодектесів перевищувало спосіб А. В. Алфімової (вплив підвищеної температури) – у 2,1 разу ( $P < 0,001$ ,  $\Pi - 2,85 \pm 1,66$  екз. кліщів) та спосіб М. Г. Хатіна (центрифугування за впливу підвищеної температури) – у 1,3 разу ( $P < 0,001$ ,  $\Pi - 4,65 \pm$

1,04 екз. кліщів) (рис. 2 а, б). Водночас вітальний спосіб М. Г. Хатіна при діагностиці отодектозу був

ефективнішим у 1,6 разу ( $P < 0,001$ ), ніж спосіб А. В. Алфімової (рис. 2 с).



**Рис. 2.** Порівняльна ефективність вітальних методів лабораторної діагностики отодектозу собак ( $n = 20$ ): 1 – метод за А. В. Алфімовою, 2 – метод із застосуванням рослинної олії (за В. О. Євстаф'євою і В. Ф. Галатом), 3 – метод за М. Г. Хатіним; \*\*\*  $P < 0,001$

Науковці більшості країн світу вказують на широке розповсюдження отодектозу серед м'ясоїдних тварин, у тому числі серед популяції домашніх собак і котів (Chee et al., 2008; Lefkaditis et al., 2009; Fanelli et al., 2020). Тому застосування ефективних, точних і зручних у використанні методів лабораторної діагностики цієї інвазії є актуальним напрямом досліджень. За результатами проведених досліджень встановлено, що загальновідомі методи виявлення як живих кліщів, так і мертвих є достатніми для постановки діагнозу. Водночас їхня ефективність значно відрізняється. Так, при порівнянні мортальних способів, які за методикою різнилися складом речовини, що забезпечувала про-світлення відібраного матеріалу, ефективнішим ви-

явся метод А. М. Титаренко (із використанням суміші гліцерину, диметилсульфоксиду, 10 % розчину їдкого натру). Меншу ефективність показав компресорний метод (із використанням 10 % розчину їдкого натру). Найменшу ефективність встановлено при застосуванні флотажного методу (із використанням гіпертонічного розчину аміачної селітри). Водночас, при порівнянні вітальних методів найефективнішим виявився метод В. О. Євстаф'євої і В. Ф. Галата (із використанням рослинної олії). Менші показники ефективності отримано при застосуванні методу М. Г. Хатіна (із використанням центрифугування та впливу підвищеної температури) і найменшу ефективність показав метод А. В. Алфімової (із використан-

ням впливу підвищеної температури). Схожі дані отримали науковці, які встановили, що додавання до зіскрібку рослинної олії має більшу діагностичну ефективність за саркоптозу свиней, ніж метод А. В. Алфімової (Yevstafieva & Aranchij, 2002). Про низьку ефективність методу А. В. Алфімової при діагностиці саркоптозу, отодектозу і демодектозу собак свідчать наукові дані, отримані В. О. Євстаф'євою та К. А. Гаврик (Yevstafieva & Gavryk, 2014).

Отже, застосування більш чутливих та ефективних методів лабораторної діагностики за отодектозу собак дозволить своєчасно встановити діагноз, підвищити ефективність лікувальних заходів, а також запобігти ускладненню хвороби.

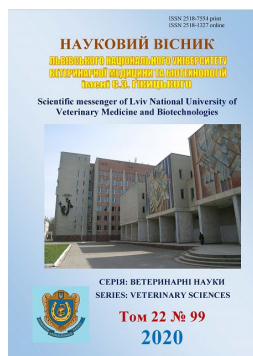
### Висновки

Одним із найефективніших мортальних методів лабораторної діагностики отодектозу в собак є метод А. М. Титаренко, ефективність якого перевищує результативність способів за використання: компресорного методу – у 2 рази ( $P < 0,001$ ) та флотаційного методу – у 1,2 разу. Найефективнішим вітальним методом лабораторної діагностики отодектозу в собак виявився метод В. О. Євстаф'євої і В. Ф. Галата, що перевищував результативність методу А. В. Алфімової – у 2,1 разу ( $P < 0,001$ ) та методу М. Г. Хатіна – у 1,3 разу ( $P < 0,001$ ).

*Перспективи подальших досліджень.* Проведені дослідження обумовлюють необхідність встановлення ефективності сучасних інсектоакарицидних препаратів за отодектозу собак.

### References

- Chee, J. H., Kwon, J. K., Cho, H. S., Cho, K. O., Lee, Y. J., Abd El-Aty, A. M., & Shin, S. S. (2008). A survey of ectoparasite infestations in stray dogs of Gwang-ju City, Republic of Korea. *Korean Journal of Parasitology*, 46(1), 23–27. doi: 10.3347/kjp.2008.46.1.23.
- Combarros, D., Boncea, A. M., Brément, T., Bourdeau, P., & Bruet, V. (2019). Comparison of three methods for the diagnosis of otoacariasis due to *Otodectes cynotis* in dogs and cats. *Veterinary Dermatology*, 30(4), 334–e96. doi: 10.1111/vde.12753.
- Fanelli, A., Doménech, G., Alonso, F., Martínez-Carrasco, F., Tizzani, P., & Martínez-Carrasco, C. (2020). *Otodectes cynotis* in urban and peri-urban semi-arid areas: a widespread parasite in the cat population. *Journal of Parasitic Diseases*, 44(2), 481–485. doi: 10.1007/s12639-020-01215-7.
- Foley, R. H. (1991). Parasitic mites of dogs and cats. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 13, 783–800.
- Kraft, W., Kraiss-Gothe, A., & Gothe, R. (1988). *Otodectes cynotis* infestation of dogs and cats: biology of the agent, epidemiology, pathogenesis and diagnosis and case description of generalized mange in dogs. *Tierärztliche Praxis*, 16(4), 409–415. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3065982>.
- Lefkaditis, M. A., Koukeri, S. E., & Mihalca, A. D. (2009). Prevalence and intensity of *Otodectes cynotis* in kittens from Thessaloniki area, Greece. *Veterinary Parasitology*, 163(4), 374–375. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.04.027.
- Lohse, J., Rinder, H., Gothe, R., & Zahler, M. (2002). Validity of species status of the parasitic mite *Otodectes cynotis*. *Medical and Veterinary Entomology*, 16(2), 133–138. doi: 10.1046/j.1365-2915.2002.00355.x.
- Lopez, R. A. (1993). Of mites and man. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 203(5), 606–607. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8407518>.
- Manzhos, O. F., & Lavrinenko, I. V. (2008). Porivnjal'na harakterystyka metodiv diagnostyky otodektozu m'jasoi'dnyh. *Problemy Zoonzhenerii' ta Veterynarnoi' Medycyny*, 16(41), 68–71 (in Ukrainian).
- Medvedev, K. S. (1999). *Bolezni kozhi sobak i koshek*. Vima, Kiev (in Russian).
- Ponomarenko, O. V. (2004). Udoskonalennja laboratornoi' diagnostyky akaryformnyh klishhiv. *Veterynarna Medycyna*, 84, 588–590 (in Ukrainian).
- Radford, C. (1943). Genera and species of parasitic mites (Acarina). *Parasitology*, 35(1-2), 58–81. doi: 10.1017/S0031182000011938.
- Radlinsky, M. G. (2016). Advances in otoscopy. *The veterinary clinics of North America. Small Animal Practice*, 46(1), 171–179. doi: 10.1016/j.cvs.2015.08.006.
- Soulsby, E. J. L. (2005). *Helminths, arthropods and protozoa of domestic animals*; 7th ed. Reed Elsevier Publishing, Delhi.
- Tonn, R. J. (1961). Studies on the ear mite *Otodectes cynotis*, including life cycle. *Annals of the Entomological Society of America*, 54(3), 416–421. doi: 10.1093/aesa/54.3.416.
- Tretijakov, A. M., Evdokimov, P. I., & Shabaev, V. A. (2006). Laboratornaja diagnostika parazitarnih zabojevanij zhivotnyh. *Ulan-Udje* (in Russian).
- Wall, R., & Shearer, D. (2001). *Veterinary ectoparasites: biology, pathology and control*. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.
- Yevstafieva, V. O., & Aranchij, S. V. (2002). Rekomendacii' po borot'bi ta profilaktyci sarkoptozu svynej. *Poltava* (in Ukrainian).
- Yevstafieva, V. O., & Gavryk, K. A. (2014). Udoskonalennja metodiv zazhyttjevoi' diagnostyky sarkoptozu, otodektozu ta demodektozu sobak. *Visnyk Poltavs'koi' Derzhavnoi' Agrarnoi' Akademii'*, 4, 62–64 (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9910

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:611.018:616.36:57.047:636.592

## Histological and ultrastructural changes in turkey liver under intensive rearing and influence of xenobiotics

O. M. Shchebentovska, A. K. Kostyniuk

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

### Article info

Received 07.09.2020

Received in revised form

05.10.2020

Accepted 06.10.2020

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska St., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-067-701-81-46  
E-mail: [schebentovska-olga@gmail.com](mailto:schebentovska-olga@gmail.com)

*Shchebentovska, O. M., & Kostyniuk, A. K. (2020). Histological and ultrastructural changes in turkey liver under intensive rearing and influence of xenobiotics. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 63–68. doi: 10.32718/nvlvet9910*

Liver problems of various etiologies in turkeys have been reported in many countries for the last 20 years. Poultry dies having no clinical manifestations of the disease, and at pathological autopsy, diffuse haemorrhages and marked dystrophic changes of the organ are noted. To date, there are several factors that can cause such changes, these are unbalanced amino-acid feed, insufficient calcium, biotin, selenium, the very high energy content of feed; zootechnical factors – limited mobility of birds due to cage density violations, high temperature; genetic factors – the influence of estrogens; infectious factors – *E. coli*, *Clostridium*, and viruses of *Picornaviridae* family. The article describes the histopathological and ultrastructural changes in the turkey liver under the influence of various factors. The material for the research was obtained from a farm where turkeys of the “Hybrid Converter” cross are grown, same age, fed with a standard diet that changed according to the technological map of cultivation. On the 50th day of life, a pathological autopsy of the dead poultry was performed, pieces of liver were selected for histological and ultrastructural examination. The visual assessment revealed significantly enlarged liver, the colour from dark red to light brown, flabby consistency. In some cases, diffuse fatty infiltrations of hepatocytes were histologically revealed, in other cases, focal necrosis with the growth of the connective tissue and the formation of massive perivascular couplings were registered. Large vacuolar fatty degeneration of hepatocytes with subsequent development of fibrosis indicates chronic intoxication, probably caused by slow breakdown of fatty acids in cells due to insufficient oxidative phosphorylation, as well as reduced levels of lipotropic factors: choline, methionine and the vitamins. At the ultrastructural level, a large number of lipid inclusions of various sizes, dystrophic changes in mitochondria were observed, which indicates a decrease in the synthetic activity of cells.

**Key words:** hepatocytes, fatty dystrophy, necrosis, fibrosis, perivascular couplings, glycogen.

## Гістологічні та ультраструктурні зміни печінки індиків за умов інтенсивного вирощування та впливу ксенобіотиків

O. M. Щебентовська, А. К. Костинюк

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Проблеми із захворюваннями печінки індиків різної етіології ресструють у багатьох країнах світу вже упродовж 20 років. Птиця гине без клінічних проявів захворювання, а при патологоанатомічному розтині відмічають дифузні крововиливи та виражені дистрофічні зміни органу. На сьогодні, виділяють кілька факторів, які можуть спричиняти такі зміни, це: незбалансована по амінокислотному складу годівля, недостатній вміст кальцію, біотину, селену, зависокий вміст енергії; зоотехнічні – обмежена рухливість птиці через порушення норм щільності посадки, висока температура; генетичні фактори – вплив естрогенів; інфекційні чинники – *E. coli*, *Clostridium*, та віруси з сімейства *Picornaviridae*. У статті описані патогістологічні та ультраструктурні

зміни в печінці індиків за впливу різних абіотичних чинників. Матеріал для досліджень отримували з господарства, де вирощують індиків кросу *Hybrid Converter*, одного віку, забезпечені стандартним раціоном, що змінювався відповідно до технологічної карти вирощування. На 50 добу життя проводили патологоанатомічний розтин загинувшої птиці, відбирали шматочки печінки для гістологічного та ультраструктурного дослідження. При візуальному оцінюванні печінки індиків встановлено її різке збільшення, колір від темно червоного до світло коричневого, дряблості консистенції. Гістологічно виявлено в одних випадках – дифузну жирову інфільтрацію гепатоцитів, в інших – вогнищевий некроз із розростанням сполучної тканини та утворення масивних периваскулярних муфт. Крупновокуллярна жирова дистрофія гепатоцитів з наступним розвитком фіброзу вказує на хронічну інтоксикацію, спричинену, ймовірно, повільним розпадом жирних кислот в клітинах у зв'язку з недостатнім окисним фосфорилуванням, а також зниженим вмістом ліпотропних факторів: холіну, метіоніну та вітамінів. На ультраструктурному рівні помітно велику кількість ліпідних включень різної величини, дистрофічні зміни в мітохондріях, що свідчить про зниження синтетичної активності клітин.

**Ключові слова:** гепатоцити, жирова дистрофія, некроз, фіброз, периваскулярні муфти, глікоген.

## Вступ

Швидкі темпи вирощування індиків у світі сприяли появі захворювань, пов'язаних не лише з вірусними чи бактеріальними чинниками, але й такими, що в значній мірі, залежать від порушень зоотехнічних параметрів годівлі та утримання птиці (Akiba & Matsumoto, 1978; Makovicky et al., 2012). На початку 90-х років у США та Канаді, коли розвиток цієї галузі був на піку, почали з'являтися перші повідомлення про підвищений рівень летальності у племінних стадах індиків (0,7–4,5 %) у віці до 12 тижнів. Дослідники зафіксували зміни, які локалізувались тільки в печінці: вона була сильно збільшена, дрябла, під капсулою виявляли масивні крововиливи, іноді – розриви (Gazdzinski et al., 1994; Hermier, 1997; Gallazzi et al., 2007; Visscher et al., 2017). Найчастіше такі зміни реєстрували у індиків із загальною вагою, яка перевищувала технологічні норми. В Німеччині з 2006 по 2011 роки в промислових стадах індички також реєстрували раптову загибель птиці з неспецифічними клінічними ознаками та патологоанатомічними змінами, які супроводжувались мармуровістю печінки, наявністю діапедезних крововиливів під Гліссону капсулу та вираженими дистрофічними змінами. Крім того, виявляли серозний ексудат в перикарді та грудочеревній порожнині. Гістопатологічними дослідженнями підтверджували розвиток жирової дистрофії та холангіту. Проте, в деяких індиків, у гепатоцитах виявляли внутрішньоядерні тільця включення, які характерні для вірусних захворювань. Електронномікроскопічними дослідженнями в окремих особин, все ж таки, були виявлені віруси, розміром від 23 до 30 нм, які за морфологічною структурою подібні до парво- або пікорнавірусу. Як стверджують автори (Popp et al., 2014) проведені серійні ПЛР дослідження у різних стадах індиків на цирковірус, парвовірус та авіаденовірус, загалом, показали негативні результати. Саме тому, автори припустили, що птиця гинула від ліпідозу, викликаного невідомим етіологічним чинником.

Подібні ураження печінки та летальність птиці фіксували у високопродуктивних стадах курей-несучок в період піку яйценоскості. Типовими ознаками були накопичення жиру в гепатоцитах, що призводило до утворення великих вакуолей у цитоплазмі, жирової дистрофії, гострого мультифокального некротичного гепатиту з еозинофільними внутрішньоядерними включеннями (Lee et al., 1975; Cherian et al., 2002;

Tufarelli et al., 2015). Етіологія та патогенез таких змін досі незрозумілі. Науковим товариством обговорюються як метаболічні, так і інфекційні причини даної патології (Butler, 1975; Polin & Wolford, 1976; Ayo et al., 2011).

Захворювання печінки індиків різної етіології і до сьогодні реєструють у багатьох країнах світу. При цьому, вчені виділяють кілька факторів, які можуть спричинити хворобу, це: годівля (недостатній вміст кальцію, лінолевої кислоти, біотину, селену у кормах, зависокий вміст енергії); зоотехнічні – обмежена рухливість птиці, висока температура; генетичні фактори – вплив естрогенів; інфекційні чинники – *E. coli*, *Clostridium*, та віруси з сімейства *Picornaviridae* (Crespo, 2019; Middendorf et al., 2019).

Метою роботи було вивчення патогістологічних та ультраструктурних змін печінки індиків за умов інтенсивного вирощування та впливу абіотичних чинників.

## Матеріал і методи досліджень

Матеріал для дослідження відбирали в господарстві ТзОВ “Індикад” (Чернівецька обл.), де утримувались індички кросу *Hybrid Converter*, одного віку, забезпечені стандартним раціоном, який змінювали відповідно до технологічної карти виробництва. На господарстві проводились усі планові вакцинацій та застосовувались антибіотики (1–5 доба – енрофлоксацин; 30–35 доба – доксициклін), кокцидіостатик упродовж всього періоду вирощування. На 25 добу життя індиків проводили вакцинацію від інфекційного ринотрахеїту (ТРТ (Rhino CV) INTERVET) та на 36 добу – ревакцинацію від хвороби Ньюкасла (ВОЛЬБАК® ND LaSota MLV). З 40 доби – вакцинацію від геморагічного ентериту індиків та колибактеріозу (Poulvac® *E. coli*). На 50 добу життя індиків почався різкий падіж птиці без видимих клінічних проявів захворювання. При проведенні патологоанатомічного розтину загинувшої птиці відзначали зміни у печінці. Для патогістологічного дослідження відбирали шматочки печінки, які фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну. Зафіксовану тканину ущільнювали та зневоднювали, відповідно до загальноприйнятих методик із подальшою заливкою у парафін (Merkulov, 1953; Kiceli, 1962; Merkulov, 1969). На санному мікроскопі МС-2 виготовляли зрізи, товщиною 7 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином. Вивчення і мікрофотографування гістологічних препаратів про-



водили методом світлооптичної мікроскопії з використанням мікроскопа Leica DM-2500 (Germany) та фотокамери Leica DFC450C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4.

При відборі матеріалу для ультраструктурних досліджень 5 індиків піддавали евтаназії, відповідно до вимог “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Україна, 2001), що узгоджуються з Положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985) (European convention..., 1986).

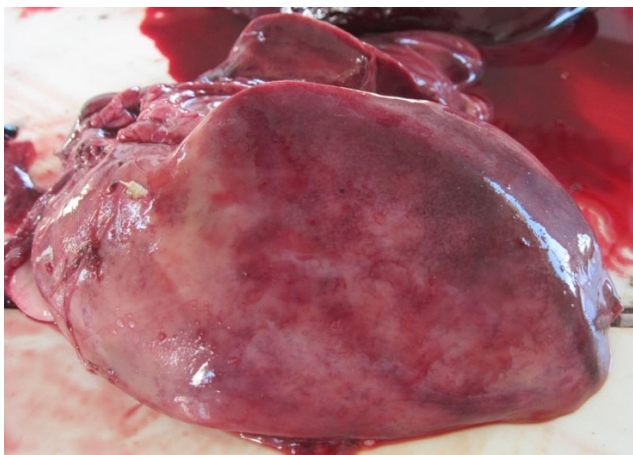
Виготовлення напівтонких та ультратонких зрізів печінки проводили за загальноприйнятими методами в лабораторії електронної мікроскопії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького разом із завідувачем лабораторії О. О. Зайцевим. Отримували напівтонкі зрізи, товщиною 2 мкм, на ультратомі LKB-2188 Ultratome NOVA (Швеція), монтували на предметному склі, підігриваючи на приладі фірми LKB 2208 MULTIPATE (Швеція). Ультратонкі зрізи виготовляли, товщиною 90 нм. Напівтонкі зрізи фарбували метиленовим синім – основним фуксином із дофарбовуванням – ШИК реакція (Kiceli, 1962). Ультратонкі зрізи контрастували цитратом свинцю по Рейнольдсу та ураніл-ацетатом (Uikli, 1975). Ультра-

тонкі зрізи переглядали і фотографували в трансмісійному електронному мікроскопі Tesla BS-500 за прискорюючої напруги 60 кV. Фотофіксацію здійснювали з використанням фотоплівки ФТ-41П. Отримані негативи переводили у цифровий формат за допомогою фотосканера Epson perfection V500 photo та пакету програмного забезпечення до нього.

### Результати та їх обговорення

Печінка є важливим органом, який бере участь у метаболізмі жирів, вуглеводів, білків, вітамінів та мінералів, відповідає за детоксикацію, є основним місцем кумуляції жиророзчинних вітамінів, а також вітаміну В<sub>12</sub>, глікогену, деяких мінералів (Fe та Cu) (Akers & Denbow, 2013).

При проведенні патологоанатомічного розтину індиків виявляли типові ураження печінки, а саме: орган різко збільшений, капсула напружена, краї заокруглені, неоднорідно забарвлена від темно червоного кольору з світло жовтими ділянками до світло коричневого кольору (рис. 1, 2), переважно дряблої консистенції, з поверхні розрізу на лезі ножа залишалась кашоподібна тьмяна маса, жовчний міхур переповнений густою, зеленого кольору, в'язкою консистенції жовчю.



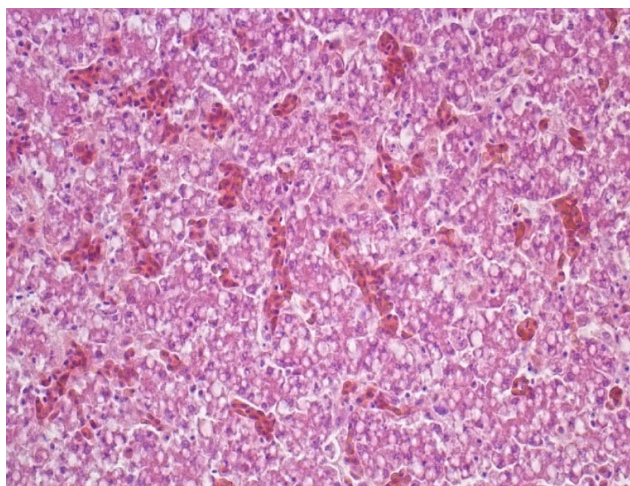
**Рис. 1.** Печінка індика на 50 добу вирощування. Збільшена, неоднорідно забарвлена з ознаками дистрофічних змін



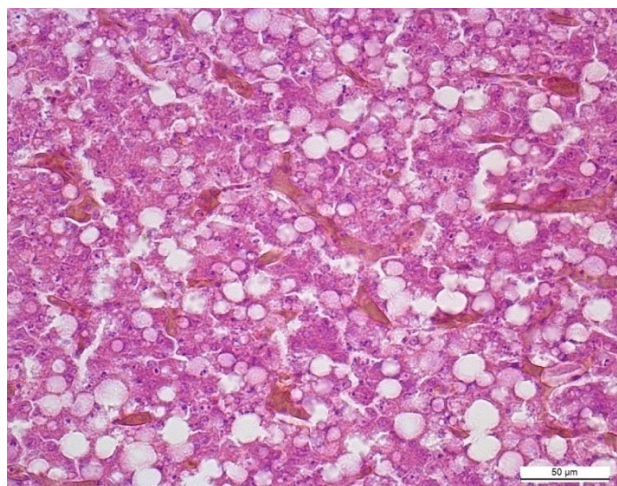
**Рис. 2.** Печінка індика на 50 добу вирощування. Неоднорідно забарвлена у коричневий колір із заокругленими краями, дряблої консистенції

За гістологічного дослідження виявляли відкладання жиру в гепатоцитах у вигляді дрібних крапель, які розміщувались дифузно по всій печінковій часточці (рис. 3), а в інших – вогнищеве утворення крупних ліпідних крапель, некроз гепатоцитів і розростання сполучної тканини, а також масивні клітинні інфільт-

рати у вигляді периваскулярних муфт. Локалізовані в цитоплазмі гепатоцитів краплі жиру зливалися і утворювали достатньо великі жирові вакуолі, які займали практично всю цитоплазму, зміщуючи ядро гепатоцита на периферію клітини (рис. 4).



**Рис. 3.** Печінка індиків. Дифузна жирова дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін та еозин, x 200



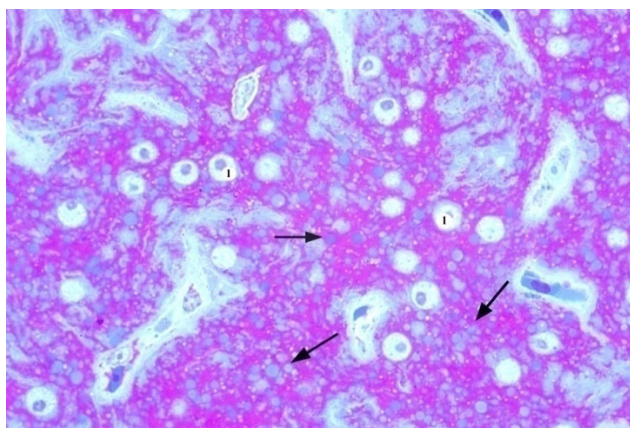
**Рис. 4.** Печінка індиків. Крупновакуольна дифузна жирова дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін та еозин, x 400

Самі гепатоцити були дещо збільшені в об'ємі, цитоплазма слабо забарвлювалась еозином, що створювало ефект “оптичної пустоти”, але клітинні мембрани ще проглядалися.

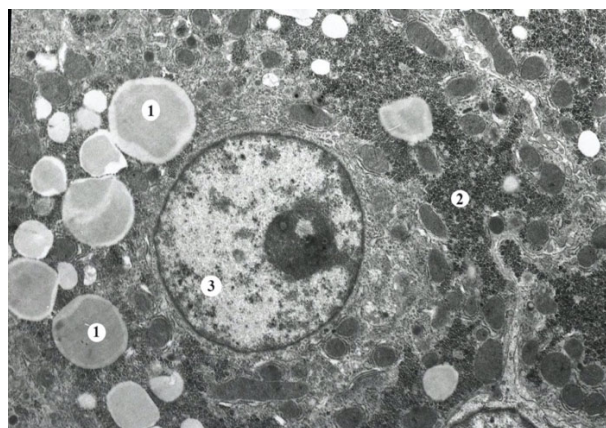
Розвиток жирової дистрофії печінки має достатньо складний патогенетичний механізм, обумовлений значною кількістю факторів, одним із яких є вплив абіотичних чинників, часті зміни раціонів, через що відбувається порушення всмоктування глюкози і жирів слизовою оболонкою шлунково-кишкового тракту, у зв'язку з чим настає короткотривале голодування, що, ймовірно, призводить до мобілізації жиру із жирових депо і накопичення його в печінці. Небез-

печним є той факт, що прогресуюча жирова дистрофія печінки, якщо не усунути причини вже за короткий час переростає в цироз (Loginov & Armin, 1985).

Світлооптично у напівтонких зрізах печінки виявляли зменшення вмісту РНК та активності редуказ, а між жировими включеннями у цитоплазмі гепатоцитів фіксували значну кількість глікогену (рис. 5). За електронно-мікроскопічного дослідження виявляли чисельні ліпідні включення з характерними хвилястими лініями, різних розмірів, які хаотично розташовувались у гіалоплазмі та розширених цистернах ендоплазматичного ретикулу (рис. 6).



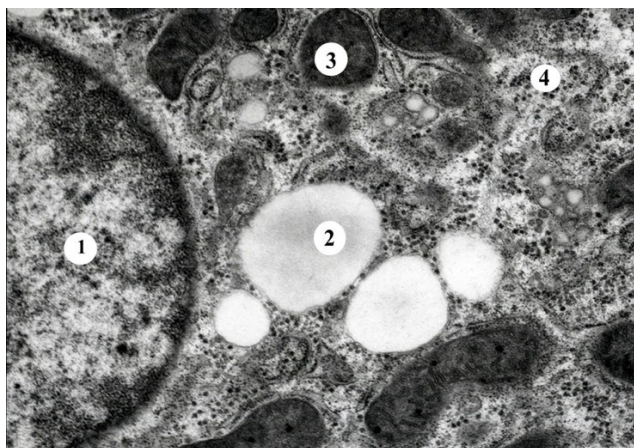
**Рис. 5.** Печінка індика. Напівтонкий зріз. Ліпідні включення голубого кольору (стрілка), ядра гепатоцитів (1), глікоген (рожевого кольору). Метиленовий синій із дофарбовуванням – ШИК реакція, x 1000



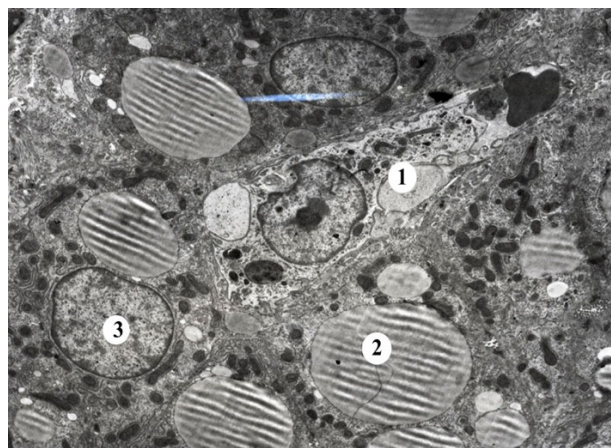
**Рис. 6.** Електроннограма гепатоцита індиків на 50 добу життя. Ліпідні включення (1), рибосоми (2), ядро (3). x 6 000

Невеликі мітохондрії розташовувались хаотично між каналами гранулярного ендоплазматичного ретикулу. В цитоплазмі дрібних гепатоцитів вільно розміщувались електроннощільні зерна глікогену. Мітохондрії овальної форми з ущільненим матриксом у якому відсутні внутрішньомітохондріальні гранули, кристи вкорочені (рис. 7). Крупні ліпідні краплі роз-

міщувались у тісному контакті з мітохондріями у каналах ендоплазматичного ретикулу (рис. 8). В ядрах гепатоцитів помітні зміни в структурі каріоплазми, гранулярні елементи розміщувались переважно біля внутрішнього листка ядерної оболонки, перинуклеарний простір розширений.



**Рис. 7.** Електроннограма гепатоцита індика на 50 добу життя. 1 – ядро, 2 – ліпідні включення, 3 – мітохондрії, 4 – глікоген. x 14 000



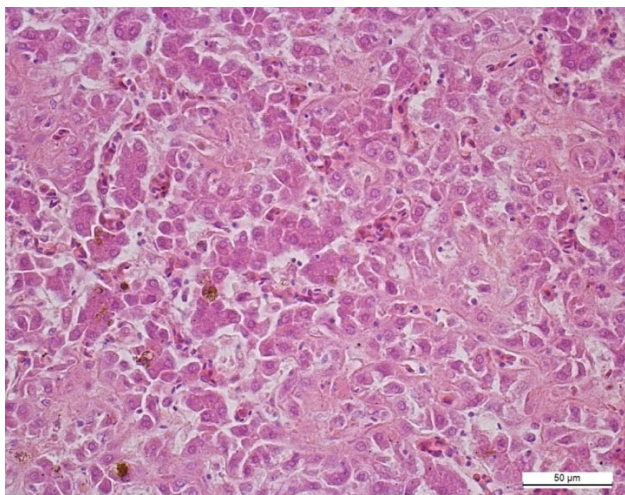
**Рис. 8.** Електроннограма гепатоцита індика на 50 добу життя. 1 – клітина Купфера, 2 – ліпідна вакуоля, 3 – ядро гепатоцита. x 6 000

Безпосередньою причиною появи та накопичення ліпідів у печінці є порушення ферментативних процесів на певних етапах обміну ліпідів. Механізми розвитку жирової дистрофії у індиків за умов інтенсивного вирощування, можна пов'язувати із надлишком жирних кислот, які надходять з кормом, сповільненим розпадом жирних кислот в клітинах у зв'язку з недостатнім окисним фосфорилуванням.

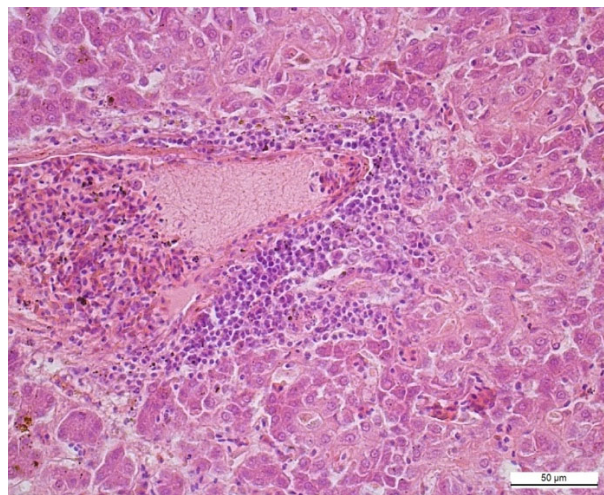
Також слід відзначити, що більшість лікарських засобів (антибіотики, кокцидіостатики), які потрапляють в організм птиці за весь період життя піддаються біотрансформації саме в печінці. Непрямі гепатотоксини є антиметаболітами і пошкоджують печін-

ку, беручи участь в специфічних процесах метаболізму гепатоцитів. В результаті цього розвивається жирова дистрофія, холестази і некроз гепатоцитів (Logi-  
nov & Armin, 1985).

Як видно з результатів патогістологічних досліджень, за тривалого впливу ксенобіотиків на організм індиків у печінці розвивався хронічний гепатит з дистрофією та некрозом гепатоцитів, фіброзом різного ступеня вираженості та масивною лімфоїдно-клітинною інфільтрацією (рис. 9, 10). Пошкодження гепатоцитів і запальні реакції є головними стимуляторами фіброгенезу.



**Рис. 9.** Печінка індиків. Розростання сполучної тканини. Гематоксилін та еозин, x 400



**Рис. 10.** Печінка індиків. Дистрофія та некроз гепатоцитів, утворення периваскулярних клітинних муфт. Гематоксилін та еозин, x 400

У світовій літературі описують подібне захворювання, яке називають геморагічним синдромом жирної печінки (FLHS – fatty liver-hemorrhagic syndrome), характеризується надмірним накопиченням ліпідів у печінці та черевній порожнині, супроводжується розривом капсули та крововиливами, що призводить до раптової загибелі птиці (Butler, 1976; Wolford & Polin, 1972; Wolford & Murphy, 1972; Whitehead, 1979). Butler E. J. припускав, що надлишок жиру в печінці

виникає від посиленого ліпогенезу, а не від ліпідів, які надходять з кормами, тоді як дослідження (Pearce & Balnave, 1978) доказують, що синдром “жирної печінки”, в значній мірі, обумовлений дефіцитом біотину.

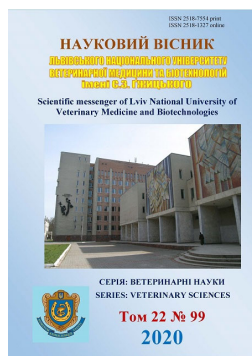
## Висновки

Проведені комплексні патогістологічні та ультраструктурні дослідження печінки індиків та виявлені зміни, такі, як крупновакуольна жирова дистрофія гепатоцитів з розвитком фіброзу, вказує на хронічну інтоксикацію спричинену, ймовірно, ксенобіотиками, а також заповільним розпадом жирних кислот у клітинах через недостатнє окисне фосфорилування, зниження вмісту ліпотропних факторів: холіну, метіоніну та вітаміну В<sub>12</sub>.

В перспективі подальших досліджень планується вивчення морфологічних змін печінки індиків за застосування гепатопротекторів.

## References

- Akers, R. M., & Denbow, D. M. (2013). *Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc.; Hoboken, NJ, USA. Digestive System; Chapter 17, 483–527.
- Akiba, Y., & Matsumoto, T. (1978). Effects of force-feeding and dietary cellulose on liver lipid accumulation and lipid composition of liver and plasma in growing chicks. *J Nutr*, 108(5), 739–748. doi: 10.1093/jn/108.5.739.
- Ayo, J. O., Obidi, J. A., & Rekwot, P. I. (2011). Effects of heat stress on the well-being, fertility, and hatchability of chickens in the northern guinea savannah zone of Nigeria: A review. *ISRN Vet. Sci.*, 2011, Article ID 838606. doi: 10.5402/2011/838606.
- Butler, E. J. (1975). Lipid metabolism in the fowl under normal and abnormal circumstances. *Proceedings of the Nutrition Society*, 34(1), 29–34. doi: 10.1079/PNS19750007.
- Butler, E. J. (1976). Fatty liver diseases in the domestic fowl—a review. *Avian Pathol*, 5(1), 1–14. doi: 10.1080/03079457608418164.
- Cherian, G., Holsonbake, T. B., Goeger, M. P., & Bildfell, R. (2002). Dietary CLA alters yolk and tissue FA composition and hepatic histopathology of laying hens. *Lipids*, 37(8), 751–757. doi: 10.1007/s11745-002-0957-4.
- Crespo, R. (2019). Developmental, metabolic, and other noninfectious disorders. *Diseases of Poultry*, 1286–1329. doi: 10.1002/9781119371199.ch30.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (1986). Council of Europe, Strasbourg, 53.
- Gallazzi, D., Manarolla, G., Rampin, T., Saita, M., & Sironi, G. (2007). Hepatic lipidosis in turkeys: beyond the current pathogenetic hypothesis. *Western poultry disease conferences*, 122–124.
- Gazdzinski, P., Squires, E. J., & Julian, R. J. (1994). Hepatic Lipidosis in Turkeys. *Avian Dis.*, 38(2), 379–384.
- Hermier, D. (1997). Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. *J. Nutr.*, 127(5), 805–808. doi: 10.1093/jn/127.5.805S.
- Kiceli, D. (1962). *Praktischeckaja mikpotehnika i gictohimija*. Budapesht (in Russian).
- Lee, K., Flegal, C. J., & Wolford, J. H. (1975). Factors affecting liver fat accumulation and liver hemorrhages associated with fatty liver-hemorrhagic syndrome in laying chickens. *Poult. Sci.*, 54(2), 374–380. doi: 10.3382/ps.0540374.
- Loginov, A. S., & Armin, L. I. (1985). *Klinicheskaya morfologiya pecheni*. Medicyna, Moskva (in Russian).
- Makovicky, P., Tumova, E., Rajmon, R., Bizkova, Z., & Hartlova, H. (2012). The influence of restrictive feeding of chickens on the microscopic structure of their liver. *Acta Vet. Brno*, 81, 27–30. doi: 10.2754/avb201281010027.
- Merkulov, G. A. (1953). *Mikpockopicheckaja tehnika*. Moskva: Izdatel'ctvo inostrannoj literatury (in Russian).
- Merkulov, G. A. (1969). *Kurc patologicheckoj tehniki*. L. (in Russian).
- Middendorf, L., Schmicke, M., Dünghoef, K., Sieverding, E., Windhaus, H., Mischok, D., Radko, D., & Visscher, C. (2019). Hepatic lipidosis: Liver characteristics and acute phase proteins in affected turkeys. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. doi: 10.1111/jpn.13183.
- Pearce, J., & Balnave, D. (1978). A review of biotin deficiency and the fatty liver and kidney syndrome in poultry. *Br Vet J*, 134(6), 598–609. doi: 10.1016/s0007-1935(17)33344-4.
- Polin, D., & Wolford, J. H. (1976). Various types of diets, sources of energy, and positive energy balance in the induction of fatty liver hemorrhagic syndrome. *Poult Sci.*, 55(1), 325–334. doi: 10.3382/ps.0550325.
- Popp, C., Hauck, R., Vahlenkamp, T., Lüscho, D., Kershaw, O., Hoferer, M., & Hafez, M. H. (2014). Liver Pathology Associated with Increased Mortality in Turkey Breeder and Meat Turkey Flocks. *Avian Diseases*, 58(3), 474–481. doi: 10.1637/10675-092413-case.1.
- Tufarelli, V., Bozzo, G., Perillo, A., & Laudadio, V. (2015). Effects of feeding different lipid sources on hepatic histopathology features and growth traits of broiler chickens. *Acta Histochem*, 117(8), 780–783. doi: 10.1016/j.acthis.2015.08.001.
- Uikli, B. (1975). *Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchih*. Mir, Moskva (in Russian).
- Visscher, C., Middendorf, L., Günther, R., Engels, A., Leibfacher, C., Möhle, H., Dünghoef, K., Weier, S., Haider, W., & Radko, D. (2017). Fat content, fatty acid pattern and iron content in livers of turkeys with hepatic lipidosis. *Lipids Health Dis*, 16(1), 98. doi: 10.1186/s12944-017-0484-8.
- Whitehead, C. C. (1979). Nutritional and metabolic aspects of fatty liver disease in poultry. *Vet. Q.*, 1(3), 150–157. doi: 10.1080/01652176.1979.9693738.
- Wolford, J. H., & Murphy, D. (1972). Effect of diet on fatty liver-hemorrhagic syndrome incidence in laying chickens. *Poult. Sci.*, 51(6), 2087–2094. doi: 10.3382/ps.0512087.
- Wolford, J. H., & Polin, D. (1972). Lipid accumulation and hemorrhage in livers of laying chickens. A study on fatty liver-hemorrhagic syndrome (FLHS). *Poult. Sci.*, 51(5), 1707–1713. doi: 10.3382/ps.0511707.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9911  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 577.1,612.014,636.4

## Content of lipid peroxidation products in pig meat at industrial and domestic slaughter

I. Yu. Stronskyi, M. R. Simonov, Yu. S. Stronskyi

*Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine*

### Article info

Received 07.09.2020  
Received in revised form  
06.10.2020  
Accepted 07.10.2020

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-067-969-60-30  
E-mail: [ivan1996str@gmail.com](mailto:ivan1996str@gmail.com)

**Stronskyi, I. Yu., Simonov, M. R., & Stronskyi, Yu. S. (2020). Content of lipid peroxidation products in pig meat at industrial and domestic slaughter. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 69–74. doi: 10.32718/nvlvet9911**

The nutritional value of meat, its organoleptic characteristics and therefore the shelf life depend on the content of lipid peroxidation products in it. Intermediates of peroxidation can have a toxic effect on the human body and are one of the main factors of non-microbial degradation of meat and various products. Based on this, the aim of this work was to study the content of lipid peroxidation products in pig meat of different origins. Furthermore, the aim was to establish the level of primary and secondary products of lipid peroxidation in meat, selected from different parts of the carcass. Meat samples were taken immediately after the pigs were slaughtered. A total of 3 meat samples were taken from 10 pig carcasses. One sample of meat was taken from each of the carcasses from the cervical, dorsal and femoral parts. The first 5 pigs were kept in industrial conditions and were slaughtered within the industrial slaughterhouse, and the second 5 were kept and slaughtered in personal farms. The results of the research showed that the highest level of primary and secondary products of lipid peroxidation is registered in the meat obtained from the dorsal part of pork carcass, which is primarily due to its fat-acid composition. In meat selected from the cervical and femoral parts, the level of the studied indicators is probably lower. During storage, lipid peroxidation activity increases from the first to the fourth day and decreases slightly until the seventh. The increase in the level of all studied indicators on the fourth day of meat storage is due to the fact that natural components contained in muscle tissue, such as ferrum, myoglobin, hydrogen peroxide and ascorbic acid can cause lipid oxidation, acting as catalysts or promoting the formation of reactive oxygen species. In the case of domestic keeping and slaughter, pig meat was found to have significantly higher concentrations of diene conjugates, lipid hydroperoxides and TBA-active products compared to industrial. The main prerequisite for this is an unbalanced diet, especially in terms of the content of substances that have antioxidant properties.

**Key words:** food safety, pork, quality, dietary consumption, lipid hydroperox, TBC-active products.

## Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у м'ясі свиней за промислового та домашнього забою

I. Ю. Стронський, М. Р. Сімонов, Ю. С. Стронський

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна*

Харчова цінність м'яса, його органолептичні показники, а отже і термін зберігання залежать від вмісту в ньому продуктів перекисного окиснення ліпідів. Проміжні продукти перекисидатії можуть мати токсичну дію на організм людини і є одними із основних факторів немікробної деградації м'яса та м'ясних продуктів. Виходячи з цього метою даної роботи було вивчити вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у м'ясі свиней різного походження. Крім цього, за мету ставилося встановити рівень первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів у м'ясі, відібраному з різних відділів туші. Проби м'яса відбирали

відразу після забою свиней. Всього відбирали по 3 проби м'яса від 10 туш свиней. Від кожної з туш відбирали по одній пробі м'яса з шийного відділу, спинного та зі стегової частини. Перші 5 свиней утримувалися у промислових умовах та були забитими в межах промислового забійного цеху, а інші 5 утримувалися та були забиті в особистих підсобних господарствах населення. Результати проведених досліджень показали, що найвищий рівень первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів реєструється у м'ясі, отриманому зі спинного відділу свинної туші, що обумовлено насамперед його жирнокислотним складом. У м'ясі, відібраному з шийного відділу та стегової частини, рівень досліджуваних показників є вірогідно нижчим. Протягом зберігання активність пероксидації ліпідів зростає з першої до четвертої доби та децю знижується до сьомої. Зростання рівня всіх досліджуваних показників на четверту добу зберігання м'яса пов'язано з тим, що природні компоненти, які містяться в м'язовій тканині, такі як Ферум, міоглобін, перекис гідрогену і аскорбінова кислота, можуть викликати окиснення ліпідів, діючи як каталізатори або сприяючи утворенню активних форм кисню. У м'ясі свиней, за їх домашнього утримання та забою, порівняно з промисловим, встановлено вірогідно вищі показники концентрації дієвих кон'югатів, гідроперекисів ліпідів та ТБК-активних продуктів. Основною передумовою цього є незбалансований раціон передусім щодо вмісту речовин, які володіють антиоксидантними властивостями.

**Ключові слова:** безпека продуктів харчування, свинина, якість, дієві кон'югати, гідроперекиси ліпідів, ТБК-активні продукти.

## Вступ

Перекисне окиснення ліпідів є одним із основних факторів немікробної деградації м'яса та м'ясних продуктів. На сьогодні встановлено, що харчова цінність м'яса, його органолептичні показники, а отже і термін зберігання залежать від вмісту в ньому продуктів перекисного окиснення ліпідів (Voloshyn, 2009; Lima et al., 2013; Shah et al., 2014). Окиснення ліпідів у м'ясі – це процес, за якого поліненасичена жирна кислота реагує з активними формами кисню, що призводить до ряду вторинних реакцій, що своєю чергою призводить до деградації ліпідів та розвитку окиснювальної згіркості. Цей процес є одним з основних факторів, який зумовлює поступове зниження сенсорної та харчової якості м'яса, що впливає на сприйняття споживачами (Papuc et al., 2017; Amaral et al., 2018). Розвиток окиснювальної згіркості в м'ясі починається вже під час забою тварин, коли кровообіг припиняється і обмінні процеси блокуються (Lima et al., 2013). Характер та відносні пропорції утворених шляхом окиснення ліпідів сполук залежать від характерного ліпідного складу м'яса забитої тварини, а також від багатьох інших факторів, зокрема таких, як методи обробки, умови зберігання, типи інгредієнтів, а також наявності та концентрації антиоксидантів. Важливо згадати, що ліпідний профіль м'яса тварини також змінюється залежно від ряду факторів, у тому числі раціону і способу утримання (Min & Ahn, 2005; Yin et al., 2016).

За окиснення ліпідів утворюється значна кількість різноманітних продуктів окиснення, котрі можуть мати токсичну дію на організм людини. Зокрема, вони абсорбуючись в травному каналі та кумулюючись в тканинах і клітинах, впливають на швидкість окислення субстратів в мітохондріях клітин. Окремі з них можуть мати канцерогенний ефект (Smoljar, 2008; Broncano et al., 2009; Alfaia et al., 2010; Pereira & Abreu, 2018).

Світова наукова спільнота активно працює над вирішенням проблеми підвищення безпечності та протидії погіршенню якісних характеристик м'яса тварин і птиці у результаті окиснення ліпідів. Зокрема пропонується згодовувати спеціальні раціони тваринам, які дозволять наситити м'язові волокна антиоксидантами (Cardenia et al., 2011; Arowolo et al., 2020). Успі-

шно вивчається активність перекисного окиснення ліпідів залежно від способу приготування м'яса та м'ясних продуктів (Kor & Icier, 2016). Однак даних щодо вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів у м'ясі свиней залежно від їхнього походження є обмаль.

Метою даної роботи було вивчити вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у м'ясі свиней, отриманому в результаті промислового вирощування і промислового забою та домашнього походження і домашнього забою. Крім цього, за мету ставилося встановити рівень первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів у м'ясі, відібраному з різних відділів туші.

## Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для досліджень було м'ясо свиней різного походження. Проби відбирали відразу після забою свиней. Всього відбирали по 3 проби м'яса від 10 туш свиней. Від кожної з туш відбирали по одній пробі м'яса (вагою близько 1 кг) з шийного відділу, спинного та зі стегової частини. Перші 5 свиней утримувалися у промислових умовах та були забитими в умовах промислового забійного цеху, а інші 5 утримувалися та були забиті в дрібних присадибних господарствах населення. До забою всі тварини були аналогами за породою (українська степова біла), живою масою (84–95 кг) та клінічно здоровими.

Кожну відібрану пробу розділяли на три частини. Перша частина була використана для біохімічних досліджень відразу, а друга та третя були охолоджені до температури +2 °C в товщі м'яса. На четверту добу друга частина проб була використана для повторного дослідження, а третя частина – на сьому добу.

Для підготовки проб було використано професійний гомогенізатор типу "Microtron" (Швейцарія). Гомогенізували окремо кожен пробу із додаванням фізіологічного розчину (1:10). Суспензію набирали через фільтр автоматичною піпеткою та переносили у пробірку для подальших маніпуляцій.

У підготовлених пробах досліджували вміст дієвих кон'югатів, ТБК-активних продуктів та гідроперекисів ліпідів (Vlizlo, 2012).

Одержані дані опрацьовували в програмі Excel, визначаючи середню арифметичну величину (M),

статистичну помилку середньої арифметичної величини ( $m$ ), вірогідність різниці між середніми арифметичними двох варіаційних рядів ( $P <$ ).

### Результати досліджень

Як видно з наведених на рисунку 1 даних, вищий вміст дієнових кон'югатів реєструвався у м'ясі свиней, яких утримували в дрібних особистих присадибних господарствах населення, порівняно з тваринами після промислового утримання. Так, на першу добу після забою свиней, різниця становила від 9,2 до 22,4 % ( $P < 0,5-0,05$ ), на четверту – 32 – 67,6 %

( $P < 0,05-0,01$ ), а на сьому – 22,8 – 45,7 % ( $P < 0,05-0,01$ ). Серед досліджених видів м'яса найвищу концентрацію дієнових кон'югатів встановлено у пробах, відібраних зі спинного відділу туші. Зокрема, порівняно з пробами, відібраними з шийного та стегового відділів на четверту добу зберігання, різниця становила 21,3 та 57,4 % ( $P < 0,001$ ), а на сьому – 49,5 та 75,6 % ( $P < 0,001$ ) відповідно. Подібна тенденція реєструвалася і в пробах, відібраних від свиней за “подвірного” забою. На четверту добу різниця склала 54 та 63 % ( $P < 0,01-0,001$ ) відповідно, а на сьому 77,4 та 84,9 % ( $P < 0,01$ ).

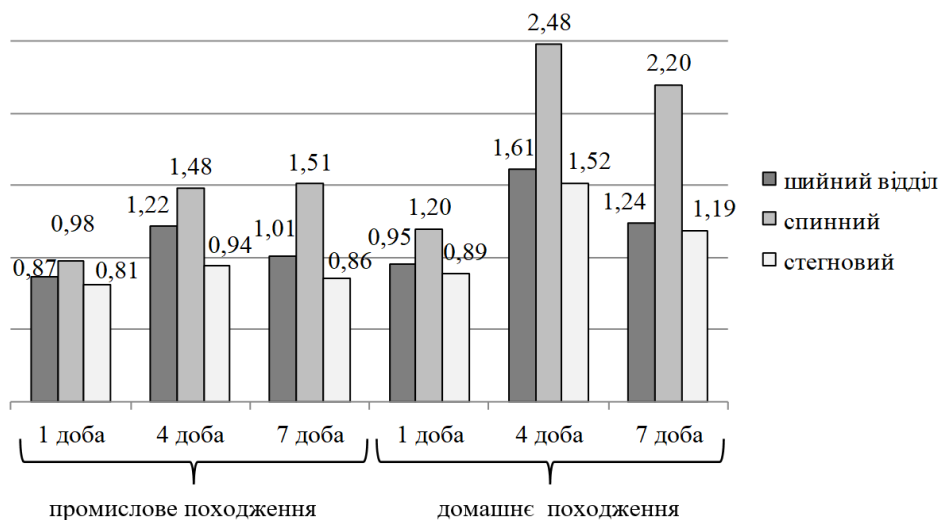


Рис. 1. Вміст дієнових кон'югатів у м'ясі свиней, мкмоль/мг;  $n = 5$

Аналізуючи вплив терміну зберігання на рівень дієнових кон'югатів у свинині, можна говорити про його зростання до четвертої доби. Особливо звертають на себе увагу проби м'яса, відібрані зі спинної частини за домашнього походження (рис. 1). Порівняно з першою добою – на четверту рівень був вищим удвічі ( $P < 0,001$ ), а на сьому – на 77,4 % ( $P < 0,01$ ).

Аналізуючи результати дослідження концентрації гідроперекисів ліпідів у досліджених пробах м'яса (рис. 2), можна стверджувати, що найвищий її рівень встановлено в пробах, відібраних зі спинного відділу свиней домашнього походження та забою. Особливу увагу привертає результат на четверту добу зберігання. У даний період показник був вищим на 49,3 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з пробами від свиней промислового походження. Протягом усього терміну зберігання, незалежно від місця відбору проб, рівень гідроперекисів ліпідів був нижчим у м'ясі свиней, вирощених та забитих у промислових умовах, порівняно зі домашніми. На першу добу різниця становила від 23,9 до 63,3 % ( $P < 0,05-0,001$ ), на четверту – від 1,5 до 2,8 разів ( $P < 0,01$ ), а на сьому – від 31,4 до 51,3 % ( $P < 0,05-0,01$ ).

Аналогічно, як і вміст дієнових кон'югатів, рівень гідроперекисів ліпідів переважно найвищим був у пробах, відібраних зі спинного відділу, порівняно зі шийним чи стеговим. Зокрема, за промислового утримання та забою, на четверту добу різниця становила відповідно 2 ( $P < 0,01$ ) та 2,5 рази ( $P < 0,001$ ), а за домашнього – 2 ( $P < 0,001$ ) та 1,8 ( $P < 0,001$ ) рази на першу добу.

Результати лабораторних досліджень вмісту ТБК-активних продуктів (рис. 3) показали зростання рівня показника у м'ясі свиней до четвертої доби та деяке зниження до сьомої. Так, за промислового забою концентрація зростала від 13,7 до 41,8 % ( $P < 0,05$ ), а за домашнього утримання та забою – від 19,5 до 39 % ( $P < 0,01$ ), залежно від місця відбору проб. Однак на сьому добу рівень ТБК-активних продуктів перевищував показники, отримані на першу добу.

Знову привертає увагу вірогідно вищий рівень вторинних продуктів пероксидації ліпідів у пробах, відібраних зі спинної частини, порівняно з шийною та стеговою (рис. 3). Зокрема, за промислового походження м'яса різниця склала від 19,6 до 39,3 % ( $P < 0,05-0,001$ ), а за домашнього – від 17,1 до 42,8 % ( $P < 0,05-0,001$ ).

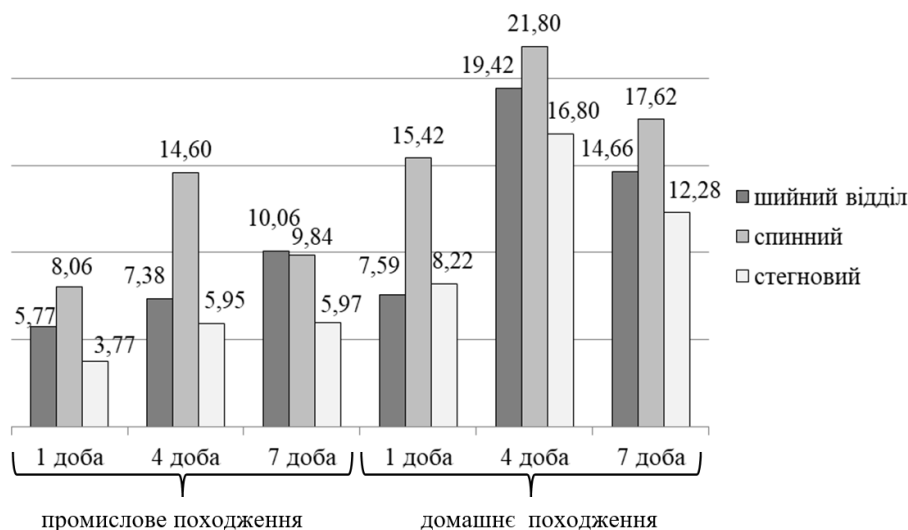


Рис. 2. Вміст гідроперекисів ліпідів у м'ясі свиней,  $OE_{480}/g$ ;  $n = 5$

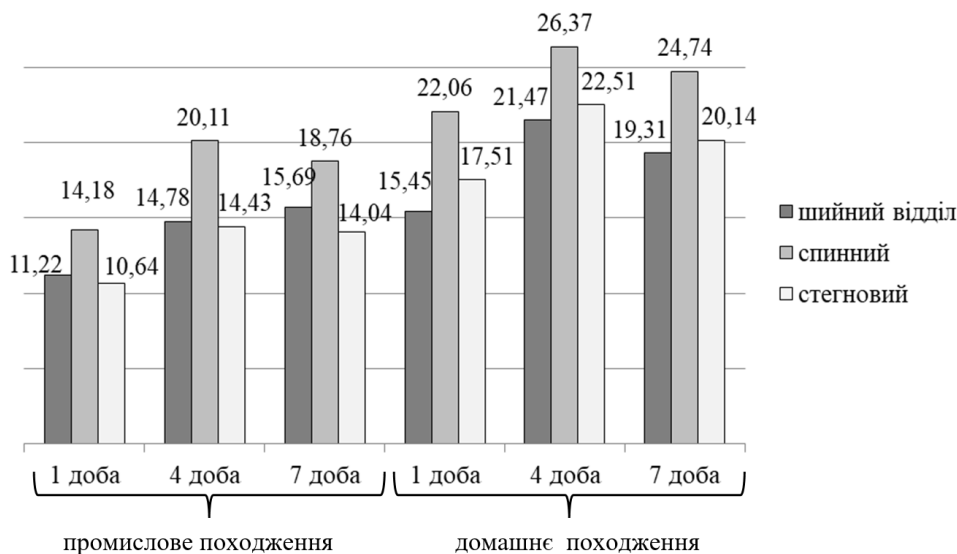


Рис. 3. Вміст ТБК-активних продуктів у м'ясі свиней,  $nmol/g$ ;  $n = 5$

Окрім цього, на всіх етапах зберігання м'яса вищою концентрацією ТБК-активних продуктів характеризувалися проби, відібрані від свиней домашнього походження та забою. Так, порівняно з пробами від свиней промислового походження, показник відрізнявся від 37,7 до 55,6 % ( $P < 0,05-0,001$ ) на першу добу зберігання, від 31,1 до 56 % ( $P < 0,01$ ) – на четверту та від 23,1 до 43,4 % ( $P < 0,05-0,01$ ) – на сьому.

### Обговорення

Ліпіди є важливими компонентами всіх видів м'яса і відповідають за багато бажаних характеристик м'яса. Вони важливі для смаку та аромату м'яса і сприяють ніжності й соковитості. В основі окиснення ліпідів, що містяться в м'ясі, лежить їхня взаємодія з киснем повітря. Відповідно стійкість ліпідів до окиснення визначається перш за все їх жирнокислотним складом. Окиснення ліпідів починається в субклітинних мембранах у фракції високоненасичених фосfolіпідів (Bal-Prylupko, 2010). На нашу думку, вірогідно вищі показники рівня первинних та вторин-

них продуктів перекисного окиснення ліпідів у пробах, відібраних у спинному відділі свиней, спричинені передусім вищим рівнем ліпідів, порівняно з пробами із шийної та стегнової частин туші.

Зростання рівня всіх досліджуваних показників на четверту добу зберігання м'яса пов'язано з тим, що природні компоненти, які містяться в м'язовій тканині, такі як Ферум, міоглобін, перекис гідрогену і аскорбінова кислота можуть викликати окиснення ліпідів, діючи як каталізатори або сприяючи утворенню активних форм кисню. Подібну думку озвучували й інші автори (Min & Ahn, 2005). Окиснювальні реакції, окрім цього, можуть бути ініційовані фізичними факторами, такими як дія сонячного світла. Згідно з літературними даними (Wójciak & Dolatowski, 2012), в біологічних системах ліпіди піддаються окисненню за допомогою трьох основних реакцій: фотоокиснення, ферментативне окиснення та автоокиснення. Механізми ферментативного окиснення та фотоокиснення відрізняються від механізмів автоокиснення лише в утворення гідропероксидів на початкових стадіях (Chaijan & Panpipat, 2017). Тенденція до зниження



вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів на сьому добу може бути пов'язана з утворенням похідних сполук нижчої метаболічної активності. Оцінка ступеня перекисного окиснення ліпідів є складною, оскільки процес складається з трьох фаз: фази ініціювання, що включає утворення вільних ліпідних радикалів та гідропероксидів як первинних продуктів реакції, фази розповсюдження, де утворені гідропероксиди розкладаються на вторинні продукти перекисного окиснення та фазу припинення, котра включає утворення третинних продуктів перекисного окиснення (Kerr, 2012).

Причину вищих показників перекисного окиснення ліпідів у м'ясі свиней за домашнього утримання та забою, порівняно з промисловими умовами, однозначно пояснити важко. Однак основною передумовою цього, на нашу думку, є незбалансований раціон насамперед щодо вмісту речовин, які володіють антиоксидантними властивостями. Також причиною може бути різний жирнокислотний склад м'яса. Виходячи з цього доцільно посилити вивчення ефективності згодовування свиням перед забоєм природних антиоксидантів у дозах, котрі можуть спричинити кумулятивний ефект не лише у печінці та нирках, а передусім у м'язових волокнах. До найперспективніших антиоксидантів, виходячи з економічної точки зору та їхньої безпечності для кінцевого споживача продукції, є ретинол, токоферол та Селен.

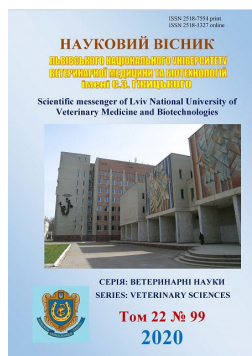
### Висновки

Результати проведених досліджень показали, що найвищий рівень первинних та вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів реєструється у м'ясі, отриманому зі спинного відділу туш свиней. Протягом зберігання активність пероксидації ліпідів зростає з першої до четвертої доби та дещо знижується до сьомої. У м'ясі свиней, за їх домашнього утримання та забою, порівняно з промисловим, встановлено вірогідно вищі показники концентрації дієвих кон'югатів, гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів. Перспектива подальших досліджень полягає у дослідженні мікробної деградації м'яса свиней різного походження. Також науковий інтерес становлять дослідження кореляційних зв'язків між вмістом речовин з антиоксидантними властивостями у раціоні свиней та рівнем перекисного окиснення ліпідів у м'ясі.

### References

- Alfaia, C. M. M., Alves, S. P., Lopes, A. F., Fernandes, M. J. E., Costa, A. S. H., Fontes, C. M. G. A., Castro, M. L. F., Bessa, R. J. B., & Prates, J. A. M. (2010). Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat. *Meat Sci.*, 84(4), 769–777. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.11.014.
- Amaral, A. B., Silva, M. V., & Lannes, S. C. (2018) Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. *Food Sci. Technol.*, 38(1), 1–15. doi: 10.1590/fst.32518.
- Arowolo, F. K., Yang, X., Blaser, M., Nicholson, A., Hosokawa, E., Booth, J., Jobsis, C., Russell, R., Meudt, J., Reichert, J., Crenshaw, T., Richards, M., & Shanmuganayagam, D. (2020). Presence of lipid oxidation products in swine diet lowers pork quality and stability during storage. *Meat Sci.*, 160, 107946. doi: 10.1016/j.meatsci.2019.107946.
- Bal-Prylypko, L. V. (2010). *Tehnologia zberigannya, konservuvannya ta pererobky myasa*. Kyiv (in Ukrainian).
- Broncano, J. M., Petrón, M. J., Parra, V. & Timón, M. L. (2009). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in *Latissimus dorsi* muscle of Iberian pigs. *Meat Sci.*, 83(3), 431–437. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.06.021.
- Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M., Cumella, F., Sardi, L., Della Casa, G., & Lercker G. (2011). Oxidative stability of pork meat lipids as related to high-oleic sunflower oil and vitamin E diet supplementation and storage conditions. *Meat Sci.*, 88(2), 271–279. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.12.034.
- Chaijan, M., & Panpipat, W. (2017). Mechanism of oxidation in foods of animal origin. Florida, USA.
- Kerr, B. J. (2012). Evaluation of lipid source and peroxidation level on digestible and metabolizable energy concentration, and the impact of lipid peroxidation on intestinal barrier function. *Animal Science – Nutritional efficiency consortium USA*.
- Kor, G., & Icier, F. (2016). Thermal imaging during infrared final cooking of semi-processed cylindrical meat product. *Infrared Physics & Technology*, 79, 242–251. doi: 10.1016/j.infrared.2016.11.002.
- Lima, D. M., Rangel, A., Urbano, S., Mitzi, G., & Moreno, G. M. (2013). Oxidação lipídica da carne ovina. *Acta Veterinaria Brasilica*, 7(1), 14–28. doi: 10.21708/avb.2013.7.1.3119.
- Min, B., & Ahn, D. U. (2005). Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products-A review. *Food Science and Biotechnology*, 14(1), 152–163.
- Papuc, C., Goran, G., Predescu, C., & Nicorescu, V. (2017) Mechanisms of Oxidative Processes in Meat and Toxicity Induced by Postprandial Degradation Products: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 96–123. doi: 10.1111/1541-4337.12241.
- Pereira, A. L. F., & Abreu, V. K. G. (2018). Lipid peroxidation in meat and meat products. In *Lipid Peroxidation [Working Title]*; Mansour, M.A., Ed.; IntechOpen: London, UK, 11, 1–14. doi: 10.5772/intechopen.81533.
- Shah, M. A., Bosco, S. J., & Mir, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1), 21–33. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.03.020.
- Smoljar, V. I. (2008). Suchasni problemy yakosti harchovyh zhyriv. *Problemy harchuvannya*, 3–4, 5–12 (in Ukrainian).

- Vlizlo, V. V. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnytstvi ta veterynarii medytsyni. Lviv, Spolom (in Ukrainian).
- Voloshyn, R. V. (2009). Vmist produktiv perekysnogo okysnennia lipidiv ta vitaminiv A i E u myasi I pechinci kurchat-broyleriv pry realizacii v oholodzenomu i zamorozenomu stani. Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S. Z. Gzyckogo, 11(2), 52–55 (in Ukrainian).
- Wójciak, K. M., & Dolatowski, Z. J. (2012). Oxidative stability of fermented meat products. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 11(2), 99–109. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22493153>.
- Yin, Y., Xing, L., Zhou, G., & Zhang, W. (2016). Antioxidative and Antibacterial Activities of Rosemary Extract in Raw Ground Pork Patties. *Journal of Food and Nutrition Research*, 4(12), 806–813. doi: 10.12691/jfnr-4-12-7.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9912

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.98-091:636.7

## Pathomorphology of certain organs of immunogenesis by experimental reproduction of coronavirus infection in dogs

N. Radzikhovskiy, I. Sokulskiy, O. Dyshkant

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

### Article info

Received 08.09.2020

Received in revised form

06.10.2020

Accepted 07.10.2020

Polissia National University,  
Stary Boulevard, 7, Zhytomyr,  
10002, Ukraine.  
Tel.: +38-067-725-65-07  
E-mail: [nickvet@ukr.net](mailto:nickvet@ukr.net)

**Radzikhovskiy, N., Sokulskiy, I., & Dyshkant, O. (2020). Pathomorphology of certain organs of immunogenesis by experimental reproduction of coronavirus infection in dogs. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 75–79. doi: 10.32718/nvlvet9912**

The article, based on the results of histological studies, presents data on the microscopic structure of the immune system – thymus, spleen, lymph nodes of dogs with experimental infection with coronavirus enteritis. Pathomorphological studies of immunocompetent organs from the dead ( $n = 5$ ) puppies crossed Labrador breeds with outbred, infected with a coronavirus field isolate cultured on heterologous cell cultures (kidney hamster (BHK-21), rabbit kidney (RK-13) and the renal mumps (SPEV)). Pathological dissection of dogs was performed by partial evisceration in the usual sequence. Prepared histological sections were stained with hematoxylin and eosin according to standard recipes. The general histological structure and microstructural changes of histo- and cytostructures of organs in histological samples were studied under a light microscope. During coronavirus enteritis in dogs, pathomorphological changes in immunocompetent organs were found, which characterize the suppression of immunogenesis function during an infectious disease of viral etiology. Thus, in the spleen there are spotted hemorrhages, lymph nodes, moderate hyperplasia, with signs of hemorrhagic inflammation. Active proliferation of lymphoid cells, which leads to hyperplasia, is one of the markers of the pathogen's effect on the macroorganism in the form of an inflammatory process in regional lymph nodes, which indicates the multiplication of the virus and the development of immunological processes. Based on our analysis of literature sources, monitoring results and our own research, it was found that viral enteritis occupies a leading place in the infectious pathology of dogs and causes significant harm to animal owners. Thus, the need for additional research to clarify, supplement and summarize data on the pathomorphology of various organs and tissues in canine coronavirus enteritis, current immunoprophylaxis and treatment can significantly reduce the incidence and mortality from infection. We found a set of histological changes in the immune system during the experimental reproduction of coronavirus infection, can be considered a characteristic criterion for pathomorphological differential diagnosis of coronavirus enteritis in dogs.

**Key words:** dogs, coronavirus, immune organs, pathomorphology, histology.

## Патоморфологія деяких органів імуногенезу за експериментального відтворення коронавірусної інфекції у собак

М. Л. Радзиховський, І. М. Сокульський, О. В. Дишкант

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

У статті, за результатами гістологічних досліджень, наведено дані щодо мікроскопічної будови органів імунного захисту – тимуса, селезінки, лімфатичних вузлів собак за експериментального зараження їх коронавірусним ентеритом. Проведено патоморфологічні дослідження імунокомпетентних органів від трупів ( $n = 5$ ) цуценят, метис лабратора з безпородною, що були заражені польовим ізолятом корона вірусу, культивованим на гетерологічних культурах клітин (СПЕВ, ВНК-21, РК-13). Патолого-анатомічний розтин собак виконували методом часткової евісцерції в загальноприйнятій послідовності. Виготовлені гістологіч-

ні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином за стандартними прописами. Загальну гістологічну будову і мікроструктурні зміни гісто- та цитоструктур органів в гістологічних препаратах вивчали під світловим мікроскопом. За коронавірусного ентериту у собак виявляли патоморфологічні зміни в імунокомпетентних органах, що характеризують пригнічення функції імуногенезу під час інфекційного захворювання вірусної етіології. Так, у селезінці спостерігали крапчасті крововиливи, лімфатичні вузли, помірно гіперплазовані, з ознаками геморагічного запалення. Встановлено активну проліферацію лімфоїдного ряду клітин, що призводить до гіперплазії та є одним з маркерів впливу інфекційного агента на макроорганізм у вигляді запального процесу в регіонарних лімфовузлах, що свідчить про репродукцію вірусу і вказує на розвиток імунологічних процесів. На основі проведеного нами аналізу літературних джерел, результатів моніторингових та власних досліджень з'ясовано, що вірусні ентерити займають провідне місце в інфекційній патології собак і наносять значні збитки власникам тварин. Тому необхідність додаткових досліджень з метою уточнення, доповнення та узагальнення даних з патоморфології різних органів і тканин за коронавірусного ентериту собак, сучасні методи імунопрофілактики та лікування дозволяють значно знизити рівень захворювання та летальність інфекції. Виявлений нами комплекс гістологічних змін в органах імунного захисту за експериментального відтворення коронавірусної інфекції можна вважати характерним критерієм патоморфологічної диференційної діагностики коронавірусного ентериту у собак.

**Ключові слова:** собаки, коронавірус, імунні органи, патоморфологія, гістологія.

## Вступ

Проблема ентеритів вірусної етіології у тварин є актуальною для сучасної ветеринарної медицини. Це пояснюється широким розповсюдженням таких інфекцій, особливо у собак, внаслідок збільшення їх популяції, що неминуче веде до загострення епізоотичної ситуації, зокрема щодо вірусних хвороб. Тому у загальній патології собак ентеровірусні інфекції посідають провідне місце (Geetha, 2015; Mira et al., 2018; Raza et al., 2018).

Після першої ідентифікації *Canine Coronavirus* від хворої собаки у 1971 році не було належним чином досліджено та визначено роль вірусу в епізоотологічній ситуації. Тільки після появи у 2002 році атипової пневмонії у людини увага була зосереджена на коронавірусі. Потім, внаслідок відносно високої частоти мутацій РНК-позитивних вірусів, ССВ набув певного розвитку і з використанням біомолекулярних методів, розроблених протягом останніх двох десятиліть вже були виявлені нові вірусні штами, серотипи й підтипи в інфікованих собаках. З огляду на поширений характер заражень ССВ серед популяцій собак було проведено кілька досліджень, в яких основну увагу приділяли епідеміологічній значущості цих вірусів і підкреслювали необхідність подальшого вивчення біології коронавірусу й патогенетичної ролі інфекцій (Erles et al., 2003; Guan et al., 2003; Pratelli et al., 2003).

Основу інфекційного захворювання складає взаємозв'язок макро- та мікроорганізму, а саме імунної системи, яка забезпечує захист організму від інфекційних агентів та біологічних речовин з антигенними властивостями. Імунна система – одна з найдосконаліших систем в організмі. За останні десятиріччя вплив імунології на інші біологічні та біохімічні науки сягнув домінуючого рівня. Вона включає в себе периферичні органи: лімфатичні вузли, мигдалини, глотки, лімфатичні фолікули у стінці кишки, лімфцити в периферичній крові, селезінка та центральні органи – тимус, кістковий мозок (Kvaratskheliya et al., 2016).

У роботах, присвячених дослідженню імунокомпетентних органів, зазначається, що імунна система, поряд із нервовою та ендокринною, є найдосконалішою, їй належить найвища інтегруюча роль. Найважливіше – захист організму, регуляція його росту і

розвитку, забезпечення гомеостазу та життєдіяльності в цілому (Dunaievska, 2016).

Враховуючи актуальність даного питання, результатом наших досліджень є уточнення, доповнення та узагальнення даних щодо патоморфології різних органів і тканин собак за експериментального відтворення коронавірусної інфекції, що дасть можливість детальніше з'ясувати вплив збудника хвороби на організм тварин за даної патології.

Метою даної роботи було з'ясувати та охарактеризувати мікроскопічні зміни в селезінці, тимусі, лімфатичних вузлах за експериментального зараження собак коронавірусною інфекцією.

## Матеріал і методи досліджень

Виконане дослідження є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії і гістології факультету ветеринарної медицини Поліського національного університету “Маркерні ознаки розвитку органів імуногенезу та нервової системи хребетних тварин в онто- і філогенезі”, № державної реєстрації 0120U102370.

Для проведення біопроби використовували 5 цуценят 45-добового віку, заражали культуральним корона вірусом, культивованим на гетерологічних перещеплювальних культурах клітин.

Розтин тварин проводили у прозекторії кафедри анатомії і гістології факультету ветеринарної медицини Поліського університету. Матеріалом дослідження був патологічний матеріал, відібраний під час патологоанатомічного розтину від цуценят (n = 5) після експериментального їх зараження і евтаназії.

Евтаназію проводили активну, використовуючи лікарські засоби, що забезпечують швидке безболісне настання смерті відповідно до Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Stekolnikov & Korobov, 2004).

Для гістологічних досліджень шматочки матеріалу (селезінка, тимус, лімфатичні вузли) відразу після відбору фіксували у 10 % водному розчині нейтрального формаліну, у подальшому проводили зневоднення у низці розчинів етилового спирту з висхідними концентраціями (від 70 до 96 °) з подальшою заливкою в ущільнююче середовище – парафін. Виготовлені гістологічні зрізи завтовшки 6–8 мкм фарбували

гематоксиліном Караці та еозином з використанням рекомендацій, які запропоновані у посібнику Л. П. Горальського, В. Т. Хомича, О. І. Кононського (Goralsky et al., 2019).

Загальну гістологічну будову і мікроструктурні зміни, виявлені на гістологічних препаратах цуценят, експериментально заражених корона вірусом, аналізували під світловим мікроскопом MC 100 LED (Micros Austria). Мікрофотографування гістологічних препаратів здійснювали за допомогою відеокамери CAM V200, вмонтованої у мікроскоп Micros MC 50.

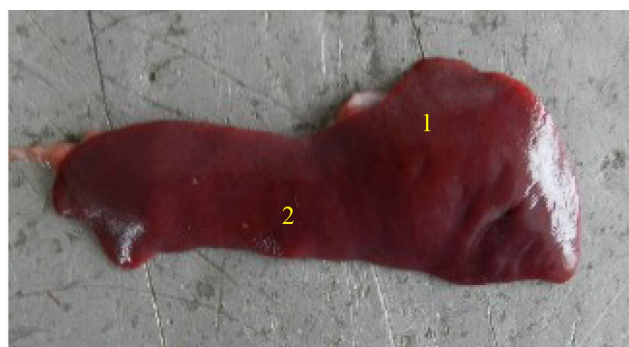
### Результати та їх обговорення

Під час проведення патологоанатомічного розтину способом неповної евісцерції цуценят, експериментально інфікованих ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин,



**Рис. 1.** Тимус цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: нерівномірна гіперемія й набряк (показано стрілкою)

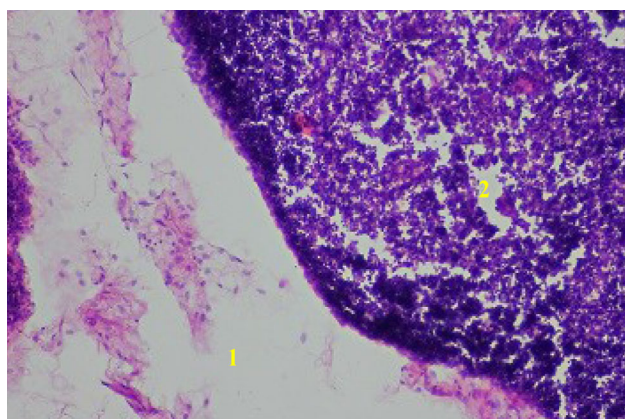
У селезінці цуценят за експериментального зараження ізолятом коронавірусу, культивованим у гетерологічній культурі клітин, морфологічні зміни в капсулі та трабекулах зареєстровані не були. Проте спостерігали набряк червоної пульпи, синуси такої пульпи були розширені, виявляли перитрабекулярні набряки і гіперплазію лімфоїдних вузликів. При цьому лімфоцити в цих вузликах зазвичай розташовувалися розріджено. Клітини їх щільної волокнистої та



**Рис. 3.** Селезінка цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – набряк селезінки; 2 – поодинокі геморагічні інфаркти

встановлено, що макроскопічні зміни в усіх тварин загалом були однаковими, хоча й мали незначні індивідуальні особливості щодо ступеня їхнього прояву. Зовнішній огляд трупів підтвердив погану вгодованість, матову, скуйовджену шерсть та сухувату шкіру, яка в ділянці анального отвору, кореня хвоста і задньої поверхні стегон була забруднена фекаліями жовтуватого кольору.

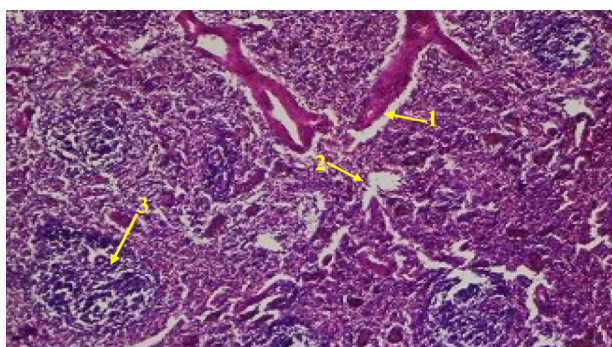
Вплив інфекційного агента на макроорганізм зазвичай несе розвиток вторинного імунодефіциту і першочерговими є структурні зміни у тимусі. За експериментального коронавірусу в собак тимус був в'ялий, набряклий, нерівномірно гіперемійований (рис. 1). Під час проведення гістологічних досліджень тимусу встановлено, що всі кровоносні судини органа були розширені, переповнені кров'ю. Сполучнотканинна строма органа та тимусні часточки були виразно набрякли (рис. 2).



**Рис. 2.** Гістологічний зріз тимуса цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – набряк строми; 2 – набряк тимусної часточки × 50

гладкої м'язової тканини помітних змін не мали. Поодинокі траплялися судини з пошкодженою стінкою, від яких просочувалися формені елементи крові в паренхіму органа.

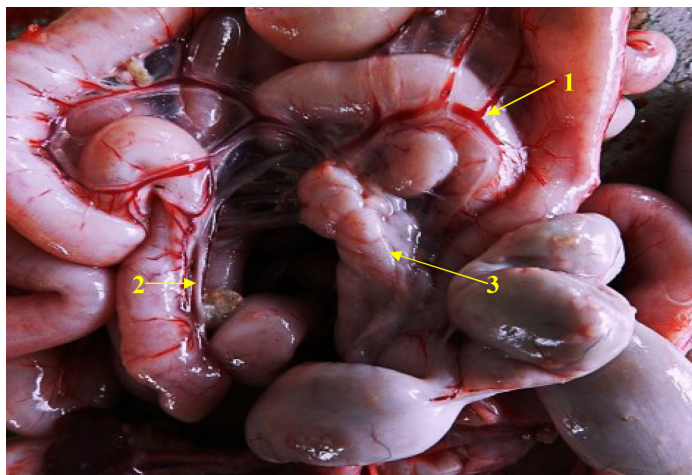
При макроскопічному дослідженні виявляли, що сам орган збільшений, в'ялої консистенції, з поодинокими геморагічними інфарктами різних розмірів, під його капсулою спостерігали крапчасті крововиливи і гіперплазію обслуговуючих його лімфовузлів (рис. 3, 4).



**Рис. 4.** Гістологічний зріз селезінки цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – перитрабекулярний набряк; 2 – набряк червоної пульпи; 3 – лімфоїдний вузлик × 100

В усіх досліджених соматичних і вісцеральних лімфовузлах макроскопічні зміни були подібними. Вони мали білуватий колір, збільшені в об'ємі (капсула напружена, сполучна тканина розпушена, часточкова будова виражена, на розрізі паренхіма блідо-рожевого

кольору, підвищеної вологості, паренхіма випиналася над капсулою). Такі макроскопічні зміни характерні для серозного лімфаденіту. Лімфатичні вузли тонкого відділу кишечника помірно збільшені, з ознаками геморагічного запалення (рис. 5).

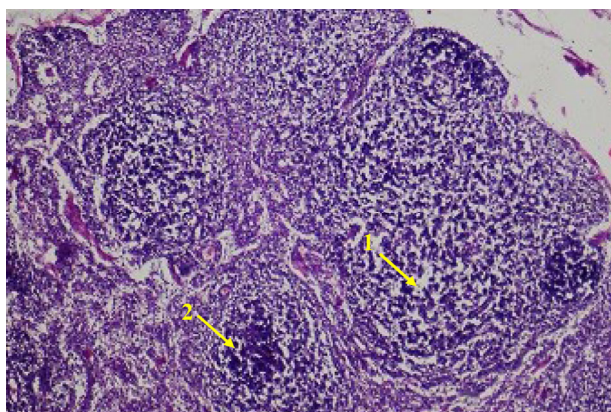


**Рис. 5.** Кишківник цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – розширені, переповнені кров'ю кровоносні судини брижі тонкої кишки; 2 – розширені, переповнені лімфою лімфатичні судини брижі тонкої кишки; 3 – збільшені, набряклі лімфовузли тонкої кишки

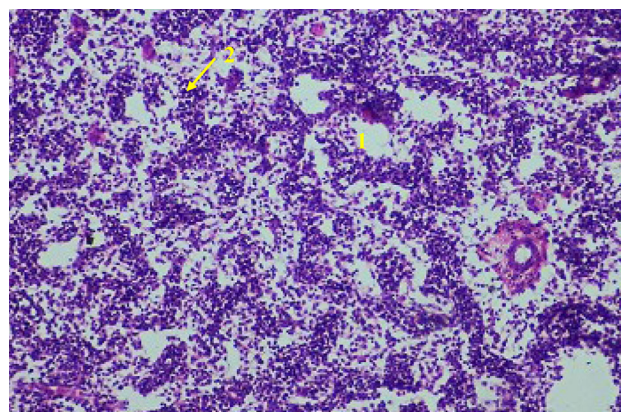
За результатами гістологічних досліджень виявляли гіперплазію та гіпертрофію поодиноких скупчень лімфоїдних вузликів підслизової основи у слизовій оболонці тонкого відділу кишечника. Лімфоцити в них розташовувалися переважно розріджено. Виявлені, на нашу думку, такі патоморфологічні зміни у тонкому відділі кишечника, можливо, пов'язані з порушенням обмінних процесів в організмі експериментально заражених коронавірусом цуценят у відповідь на дію збудника, про що свідчать наші гістохімічні дослідження (накопичення у цитоплазмі ентероцитів основних і кислих білків, гіперсекреція слизу келихоподібними клітинами, зменшення у цитоплазмі ентероцитів ШІК-позитивних речовин).

За морфологічного дослідження лімфовузлів кишечника у його кірковій речовині спостерігали гіперплазію (збільшення кількості) лімфоїдних вузликів. Лімфоцити в них розташовувалися розріджено, світлі центри зазвичай відсутні. Проте у частині цих вузликів, переважно в їхній центральній частині, виявляли осередки ущільненого розташування лімфоцитів (рис. 6). Мозкова речовина нерівномірно набрякла, лімфоцити в ній розташовувалися окремими групами, до складу яких входила різна кількість клітин (рис. 7). Серед лімфоцитів виявляли моноцити й макрофаги, розташовані поодинокі чи невеликими групами.

В деяких випадках у мозковій речовині різних лімфовузлів спостерігався спазм артерій.



**Рис. 6.** Гістологічний зріз кіркової речовини передлопаткового лімфовузла цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – розріджене розташування лімфоцитів у лімфоїдному вузлику; 2 – ущільнене розташування лімфоцитів у лімфоїдному вузлику × 50



**Рис. 7.** Гістологічний зріз мозкової речовини передлопаткового лімфовузла цуценяти, експериментально зараженого коронавірусом: 1 – набряк; 2 – лімфоцити × 100

Decaro N. (2012) зі співавторами повідомляв, що під час проведення патоморфологічних досліджень значні мікроскопічні зміни в основному спостерігали в кишечнику і лімфоїдних тканинах, хоча в деяких тварин виявили також виразні зміни і в паренхіматозних органах (Decaro et al., 2012). У результаті нашого експерименту встановлено: в усіх досліджених нами соматичних і вісцеральних лімфатичних вузлах мікроскопічні зміни були подібними. При цьому в капсулі таких змін не встановлено. Капсулярні трабекули відповідно були без морфологічних змін. Щодо вітчизняних вчених, то подібні патоморфологічні зміни у селезінці за коронавірусної інфекції реєструвала Лісова В. (2017) зі співавторами (Lisova & Dubinenko, 2017).

### Висновки

Патоморфологічні зміни за коронавірусної інфекції собак у доступній світовій літературі висвітлені вкрай поверхнево. Нами встановлено, що за експериментального відтворення коронавірусного ентериту в собак реєстрували мікроскопічні зміни в органах імуногенезу: в тимусі порушення процесів диференціації лімфоцитів у кірковій та мозковій речовині часточок, нерівномірний набряк сполучнотканинної строми органа і виразний набряк кіркової та мозкової речовин тимусних часточок, крапчасті крововиливи у селезінці й гіперплазію лімфоїдних вузликів.

При встановленому комплексі патоморфологічних змін кишечнику відмічали катарально-геморагічне запалення, а у прилеглих лімфовузлах – геморагічне запалення. Такі дані макро- та мікроскопічної оцінки свідчать про запальні зміни у лімфоїдних органах – як місце репродукції вірусу, що являє собою імунологічні процеси.

### References

Decaro, N., Mari, V., Reitzenstein, M., Lucente, M. S., Cirone, F., Elia, G., & Buonavoglia, C. (2012). Pantropic canine coronavirus genetically related to the prototype isolate CB/05. *Veterinary Microbiology*, 159(1–2), 239–244. doi:10.1016/j.vetmic.2012.03.039.

Dunaievska, O. F. (2018). Biomarkerni pokaznyky selezinky [Biomarker parameters of the spleen] *Rana Ridibunda P. Pytannya bioindykatsiyi ta ekolohiyi*, 23(1), 181–185. doi: 10.26661/2312-2056/2018-23/1-14 (in Ukrainian).

Erls, K., Toomey, C., Brooks, H. W., & Brownlie, J. (2003). Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Journal of Virology*, 310, 216–239. doi: 10.1016/s0042-6822(03)00160-0.

Geetha, M. (2015). Epidemiology, pathogenesis, clinical findings and diagnosis of canine parvo viral infection – a mini review. *International Journal of Scientific Engineering and Applied Science*, 1(9), 21–27.

Goralsky, L. P., Khomich, V. T., & Kononsky, O. I. (2019). Osnovy histolohichnoyi tekhniky i morfofunktsional'ni metody doslidzhen' u normi ta pry patolohiyi. [Fundamentals of histological technique and morphofunctional methods of research in normal and pathology]. Zhytomyr (in Ukrainian).

Guan, Y., Zheng, B. J., He, Y. Q., Zheng, B. J., He, Y. Q., Butt, K. M., & Poon, L. L. (2003). Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 302(5643), 276–284. doi: 10.1126/science.1087139.

Kvaratskheliya, A. G., Klochkova, S. V., Nikityuk, D. B., & Alexeeva, N. T. (2016). Morphological Characteristics of the Thymus and Spleen Under Different Factors of Origin. *Journal of Anatomy and Histopathology*, 5(3), 77–83. doi: 10.18499/2225-7357-2016-5-3-77-83.

Lisova, V. V., & Dubinenko, O. (2017). Histological changes in dogs at coronaviral infection. *Scientific Messenger of National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(78), 154–157. doi: 10.15421/nvlvet7831.

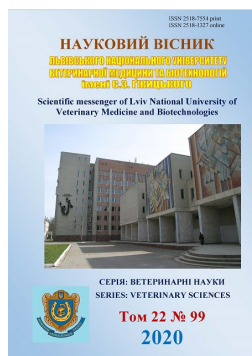
Lisova, V. V., & Dubinenko, O. (2017). Pathomorphological characteristics of coronavirus infection in dogs. *Scientific Messenger of National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(77), 7–10. doi: 10.15421/nvlvet7702.

Mira, F., Dowgier, G., Purpari, G., Vicari, D., Di Bella, S., Macaluso, G., & Guercio, A. (2018). Molecular typing of a novel canine parvovirus type 2a mutant circulating in Italy. *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases*. 18. 67–73. doi: 10.1016/j.meegid.2018.03.010.

Pratelli, A., Martella, V., Decaro, N., Tinelli, A., Camero, M., Cirone, F., & Buonavoglia, C. (2003). Genetic diversity of a canine coronavirus detected in pups with diarrhoea in Italy. *Journal of Virological Methods*, 9, 110–117.

Raza, A., Rand, J., Qamar, A. G., Jabbar, A., & Kopp, S. (2018). Gastrointestinal Parasites in Shelter Dogs: Occurrence, Pathology, Treatment and Risk to Shelter Workers. *Journals Animals*, 8(7), 1–23. doi: 10.3390/ani8070108.

Stekolnikov, A. A., & Korobov, A. V. (2004). Professional'naya etika vracha veterinarnoy meditsiny [Professional ethics of a veterinary doctor]. Saint Petersburg (in Russian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9913  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.7.09:616.441-008.64-071

## Clinical signs of hypothyroidism in domestic dogs

T. P. Lokes-Krupka<sup>1</sup>, M. I. Tsvilichovsky<sup>2</sup>, S. M. Zarytskyi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine

<sup>2</sup>National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

### Article info

Received 08.09.2020

Received in revised form

07.10.2020

Accepted 08.10.2020

Poltava State Agrarian Academy,  
Skovorody Str., 1/3, Poltava,  
36003, Ukraine.  
Tel.: +38-050-21-47-056  
E-mail: terra\_yet@ukr.net

National University of Life and  
Environmental Sciences of  
Ukraine, Heroiv Oborony Str., 15,  
Kyiv, 03041, Ukraine.

**Lokes-Krupka, T. P., Tsvilichovsky, M. I., & Zarytskyi, S. M. (2020). Clinical signs of hypothyroidism in domestic dogs. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 80–83. doi: 10.32718/nvlvet9913**

The research was conducted during 2016–2019 on the basis of veterinary clinics in Poltava - veterinary clinic at the Department of Therapy named after Professor P. Lokes of Poltava State Agrarian Academy, “Vet Line”, “Vet Comfort” and the laboratory of the Department of Therapy named after Professor P. I. Lokes of Poltava State Agrarian Academy. During the research we studied 11 dogs, which were diagnosed with hypothyroidism. The animals belonged to different breeds, had different sexes (6 females and 5 males) and age. For control we took 15 dogs without visible signs of any pathology. We compared the breed susceptibility of dogs with hypothyroidism and dogs with alimentary obesity. Thus, we found that most breeds are common to animals in both pathologies. However, in our sample for hypothyroidism there was no such breed as a pug, and outbred individuals, which accounted for a significant percentage of dogs with alimentary obesity. One of the most common clinical symptom is the presence of symmetrical alopecia on the sides on the background of dull and disheveled hair (90.9 %). Mucosal anemia was observed in a significant proportion of animals (81.8 %). The symptom of bradycardia and shortness of breath during exercise is observed in 72.7 % of experimental animals, which indicates the development of pathological changes in the cardiovascular system. It was found that all animals showed depression, weakness and fatigue (100.0 %). Polydipsia and hypothermia were much less common in 45.5 % of dogs, and corneal dystrophy in 36.4% of cases. The last clinical manifestation occurred in animals with the most severe pathology. According to the literature, it is known that hypothyroidism in dogs is often a symptom of obesity. According to our data, obesity (overweight) was registered in 63.6 % of experimental animals. With the diagnosis of “hypothyroidism” in dogs, we identified two experimental groups: 1 – animals with normal fatness; 2nd – with a clinical symptom of obesity. We can note a significant increase in adipose tissue in dogs with hypothyroidism of the 2nd experimental group ( $45.1 \pm 1.70$  %), which indicates the presence of endocrine obesity, as evidenced by visual assessment of fatness ( $4.7 \pm 0.18$  points). Such changes develop due to insufficient production of thyroid hormones. The latter play an important role in regulating metabolism in the body. Due to their deficiency, the metabolism in animals slows down and, as a result, there is a risk of obesity.

**Key words:** symptoms, hypothyroidism, endocrine obesity, overweight, dogs.

## Клінічні ознаки гіпотиреозу у свійських собак

Т. П. Локес-Крупка<sup>1</sup>, М. І. Цвіліховський<sup>2</sup>, С. М. Зарицький<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Полтавська державна аграрна академія, м. Полтава, Україна

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

Дослідження проводили впродовж 2016–2019 років на базі клінік ветеринарної медицини м. Полтава - клініки ветеринарної медицини при кафедрі терапії імені професора П. І. Локеса Полтавської державної аграрної академії, “Vet Line”, “Vet Comfort” та лабораторії кафедри терапії імені професора П. І. Локеса Полтавської державної аграрної академії. За час виконання роботи нами було досліджено 11 свійських собак, в яких за комплексного обстеження встановлений діагноз гіпотиреоз. Тварини належали до різних порід, мали різну статеву (6 самиць і 5 самців) і вікову приналежність. За контроль нами були взяті 15 свійських собак



без видимих ознак будь-якої патології. Нами проведено порівняння порідної схильності собак, які страждають на гіпотиреоз та собак із аліментарним ожирінням. В нашій виборці за гіпотиреозу була відсутня така порода свійського собаки як мопс, та безпородні особини, що склали значний відсоток собак з аліментарним ожирінням. Одним з клінічних симптомів, який найчастіше реєструвався, є наявність симетричних алопецій на боках на тлі тьмяного та скуйовдженого шерстного покриву (90,9 %). У значній частини тварин спостерігалась анемічність слизових оболонок (81,8 %). Симптом брадикардії та задишки під час фізичного навантаження відмічається у 72,7 % дослідних тварин, що свідчить про розвиток патологічних змін серцево-судинної системи. За даними літератури відомо, що за гіпотиреозу в собак часто спостерігається симптом ожиріння. За нашими даними ожиріння (надмірна вгодованість) реєстрували у 63,6 % хворих тварин. Встановлено, що у всіх тварин відмічали пригнічення, слабкість та швидку втомлюваність (100,0 %). Полідипсія і гіпотермія виявлялися значно рідше – у 45,5 % собак, а дистрофія розівки – у 36,4 % випадків. За встановленого діагнозу “гіпотиреоз” у свійських собак нами були виділені дві дослідні групи: 1-а – тварини з нормальною вгодованістю; 2-а – із клінічним симптомом ожиріння. Базуючись на даних таблиці можна відмітити значне зростання вмісту жирової тканини у собак за гіпотиреозу 2-ї дослідної групи ( $45,1 \pm 1,70$  %), що свідчить на наявність ендокринного ожиріння, що підтверджується візуальною оцінкою вгодованості ( $4,7 \pm 0,18$  балів). Такі зміни розвиваються внаслідок недостатності вироблення гормонів щитоподібної залози. Останні відіграють важливу роль у регулюванні обміну речовин в організмі. За їх дефіциту обмін речовин в організмі тварин сповільнюється і, в результаті, існує ризик розвитку ожиріння.

**Ключові слова:** симптоми, гіпотиреоз, ендокринне ожиріння, надмірна вгодованість, собаки.

## Вступ

Існує ряд ендокринних захворювань, таких як гіпотиреоз або цукровий діабет, що безпосередньо пов'язані з ожирінням. Розвиток ендокринного ожиріння обумовлений недостатнім виробленням жиरोбілізуючих гормонів: кортикотропіну, тиреотропного гормону, соматотропного гормону, тироксину та трийодтироніну, адреналіну, глюкагону. Внаслідок цього знижується ліполіз і використання жиру з депо на енергетичні потреби. У тварин з ожирінням знижуються процеси окиснення, розвивається компенсаторний гіперінсулінізм, що посилює перетворення вуглеводів корму в жири (Beaver & Haug, 2003; Rudas et al., 2005; Nel'son & Feldmen, 2008).

Найбільш вагомими факторами, що першочергово впливають на концентрацію тиреоїдних гормонів у сироватці крові, є активність їх обміну та транспортування (Scuderi et al., 2018; Ou et al., 2018). Існує тісний зв'язок між обмінами білків та тиреоїдних гормонів, оскільки  $T_4$  і  $T_3$  майже стовідсотково зв'язуються з білками. Можна зробити висновок, що всі порушення кон'югації з білками будуть у подальшому впливати на загальну концентрацію вищезазначених гормонів у сироватці крові. Тривалий період напіврозпаду  $T_4$  (10–16 годин) також обумовлений високим ступенем його зв'язування з білками. До останніх належать тироксинзв'язуючий глобулін, тироксинзв'язуючий преальбумін, альбумін та ліпопротеїн високої щільності (ЛПВЩ) і ЛПВЩ<sub>2</sub>. Щодо періоду напіврозпаду  $T_3$ , то він значно менший за попередній і триває близько 6 годин. Для  $T_3$  основними транспортними білками є альбумін та тироксинзв'язуючий глобулін. Існує думка, що лише ретельний вимір вільних гормонів забезпечує точну оцінку тиреоїдного статусу, порівняно із загальною концентрацією гормонів (Beaver & Haug, 2003; Ou et al., 2018; Störchle et al., 2018). Це можна пояснити тим, що лише незв'язаний (вільний) гормон може потрапляти у клітини та зазнавати екскреції.

Оскільки організм це цілісна система, метаболізм тварин в цілому зазнає патологічних змін внаслідок зниження рівня тироксину (Graham et al., 2007; Mooney, 2011; Nel'son & Feldmen, 2008; Lokes-Krupka, 2014). Зменшення інтенсивності обміну речовин призводить до зменшення оксигенації тканин, чим провокує гіпотермію. Оскільки подібні зміни відбуваються

відносно всіх видів обміну речовин, не виключенням стає і обмін ліпідів (зростання в сироватці крові холестеролу, ТГ, фракції ліпопротеїнів низької та дуже низької густини), що у свою чергу призводить до клінічного прояву – збільшення вгодованості хворих тварин як основи симптому ожиріння (Daminet & Ferguson, 2003; Zimmermann, 2016; Ou et al., 2018).

Саме тому метою роботи є означення клінічних проявів гіпотиреозу у свійських собак із за нормальною так і за надмірною вгодованістю.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили впродовж 2016–2019 років на базі клінік ветеринарної медицини м. Полтава - клініки ветеринарної медицини при кафедрі терапії імені професора П. І. Локеса Полтавської державної аграрної академії, “Vet Line”, “Vet Comfort” та лабораторії кафедри терапії імені професора П. І. Локеса Полтавської державної аграрної академії..

За час виконання роботи нами було досліджено 11 свійських собак, в яких за комплексного обстеження встановлений діагноз гіпотиреоз. Тварини належали до різних порід, мали різну статеву (6 самиць і 5 самців) і вікову приналежність. За контроль нами були взяті 15 свійських собак без видимих ознак будь-якої патології.

Зареєстрованих тварин, які надходили до клінік ветеринарної медицини досліджували за загальною схемою: проводили збір анамнезу, визначали габітус, стан шкірного покриву, видимих слизових оболонок, проводили термометрію, зважування, морфометричні заміри та розрахунки, досліджували функціональний стан органів і систем (Szatmari et al., 2004; Ou et al., 2018).

## Результати та їх обговорення

Нами проведено порівняння порідної схильності собак, які страждають на гіпотиреоз та собак із аліментарним ожирінням. Так нами виявлено, що більшість порід є спільними для тварин за обох патологій. Проте в нашій виборці за гіпотиреозу була відсутня така порода свійського собаки як мопс та безпородні особини, що склали значний відсоток собак з аліментарним ожирінням.

Результати клінічного стану свійських собак за гіпотиреозу наведені у таблиці 1. Встановлено, що у всіх тварин відмічали пригнічення, слабкість та швидку втомлюваність (100,0 %).

**Таблиця 1**

Клінічні симптоми гіпотиреозу у свійського собаки

Клінічні симптоми	Хворі собаки, n = 11	
	тварини	%
Пригнічення	11	100
Слабкість та швидка втомлюваність	11	100
Алопеції	10	90,9
Тьмяність та скуйовдження шерсті	10	90,9
Анемічність слизових оболонок	9	81,8
Задишка під час фізичного навантаження	8	72,7
Брадикардія	8	72,7
Надмірна вгодованість / ожиріння	7	63,6
Нормальна вгодованість	4	36,4
Гіпотермія	5	45,5
Полідипсія	5	45,5
Хвороби очей (дистрофії рогівки)	4	36,4

Одним з клінічних симптомів, який найчастіше реєструвався, є наявність симетричних алопецій на бо-

ках на тлі тьмяного та скуйовдженого шерстного покриття (90,9 %). У значної частини тварин спостерігалась анемічність слизових оболонок (81,8 %). Симптом брадикардії та задишки під час фізичного навантаження відмічається у 72,7 % дослідних тварин, що свідчить про розвиток патологічних змін серцево-судинної системи.

За даними літератури відомо, що за гіпотиреозу в собак часто спостерігається симптом ожиріння (Rudas et al., 2005; Mooney, 2011). За нашими даними ожиріння (надмірну вгодованість) реєстрували у 63,6 % хворих тварин (рис. 1).

Полідипсія і гіпотермія виявлялися значно рідше – у 45,5 % собак, а дистрофія рогівки – у 36,4 % випадків. Останній клінічний прояв виникав у тварин з найтяжчим перебігом патології.

За встановленого діагнозу “гіпотиреоз” у свійських собак нами були виділені дві дослідні групи: 1-а – тварини з нормальною вгодованістю; 2-а – із клінічним симптомом ожиріння. Критерії оцінки ступеню вгодованості наведені в таблиці 2.



**Рис. 1.** Загальний вигляд собаки за гіпотиреозу, спаніель, вік – 5 років

**Таблиця 2**

Критерії оцінки ступеню вгодованості свійського собаки, хворого на гіпотиреоз,  $M \pm m$

Критерій оцінки	Клінічно здорові собаки, n = 15	Собаки з аліментарним ожирінням, n = 30	Гіпотиреоз, 1-а група, n = 4	Гіпотиреоз, 2-а група, n = 7
Вміст жирової тканини в організмі, %	26,8 ± 0,38	41,7 ± 0,75***	21,8 ± 1,38	45,1 ± 1,70***
Бальна система оцінювання	2,9 ± 0,06	4,9 ± 0,06***	2,5 ± 0,29	4,7 ± 0,18***

Примітка: \*\*\* –  $P \leq 0,001$  порівняно з клінічно здоровими собаками

Базуючись на даних таблиці можна відмітити значне зростання вмісту жирової тканини у собак за гіпо-

тиреозу 2-ї дослідної групи (45,1 ± 1,70 %), що свідчить на наявність ендокринного ожиріння, що підтве-

рджуються візуальною оцінкою вгодованості ( $4,7 \pm 0,18$  балів).

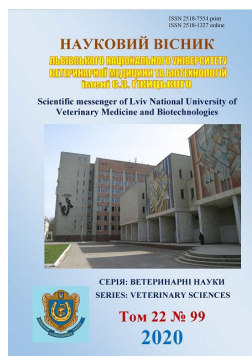
### Висновки

Внаслідок захворювання на гіпотиреоз у тварин недостатньо виробляються гормони щитоподібної залози. Останні відіграють важливу роль у регулюванні обміну речовин в організмі. За їх дефіциту обмін речовин в організмі тварин сповільнюється і, в результаті, існує ризик розвитку ожиріння. За нашими дослідженнями встановлено у більшості тварин дослідної групи (63,6 %) надмірну вгодованість, решта кількість тварин залишалась у межах нормальної вгодованості. Основним клінічним проявом є дерматологічні порушення, а саме алопеції на тлі тьмяного та скуйовдженого шерстного покриву (90,9 %). У значної частини тварин спостерігалась анемічність слизових оболонок (81,8 %). Симптом брадикардії та задишки під час фізичного навантаження відмічається у 72,7 % дослідних тварин, що свідчить про розвиток патологічних змін серцево-судинної системи. У близько половини тварин реєстрували полідипсію та гіпотермію (45,5 %).

*Перспективи подальших досліджень.* У подальших дослідженнях нами буде проведений порівняльний аналіз функціональних та структурних змін внутрішніх органів у свійських собак за ендокринного ожиріння. Важливим є означення диференційної характеристики від аліментарного ожиріння тварин-компаньонів.

### References

- Beaver, B. V., & Haug, L. I. (2003). Canine behaviors associated with hypothyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc*, 39(5), 431–437. doi: 10.5326/0390431.
- Damiet, S., & Ferguson, D. C. (2003). Influence of drugs on thyroid function in dogs. *J Vet Intern Med*, 17, 463–472. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02467.x>.
- Graham, P. A., Refsal, K. R., & Nachreiner, R. F. (2007). Etiopathologic findings of canine hypothyroidism. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 37(4), 617–631. doi: 10.1016/j.cvsm.2007.05.002.
- Lokes-Krupka, T. P. (2014). Aktyvnist fermentiv syrovatky krovi za hepatolipidozu sviyskykh kotiv u protsesi likuvannya. *Naukovyy visnyk LNUVMBT im. S. Z. Gzhytskoho*, 16, 2(59), 194–198 (in Ukrainian).
- Mooney, C. (2011). Canine hypothyroidism: A review of aetiology and diagnosis. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(3), 105–114. doi: 10.1080/00480169.2011.563729.
- Nel'son, R., & Feldmen, E. (2008). Endokrinologiya i reproduktsiya sobak i koshek. *Sofion*, 1256 (in Russian).
- Ou, X. H., Zhu, C. C., & Sun, S. C. (2018). Effects of obesity and diabetes on the epigenetic modification of mammalian gametes. *Journal of Cellular Physiology*, 234(6), 7847–7855. doi: 10.1002/jcp.27847.
- Rudas, P., Rónai, Z. S., & Bartha, T. (2005). Thyroid hormone metabolism in the brain of domestic animals. *Domest Anim Endocrinol*, 29(1), 88–96. doi: 10.1016/j.domaniend.2005.02.032.
- Scuderi, M. A., Ribeiro Petito, M., Unniappan, S., Waldner, C., Mehain, S., McMillian, C. J., & Snead, E. C. (2018). Safety and efficacy assessment of a GLP-1 mimetic: insulin glargine combination for treatment of feline diabetes mellitus. *Domest Anim Endocrinol*, 65, 80–89. doi: 10.1016/j.domaniend.2018.04.003.
- Shiel, R. E., Acke, E., Puggioni, A., Cassidy, J. P., & Mooney, C. T. (2007) Tertiary hypothyroidism in a dog. *Irish Veterinary Journal*, 60(2), 88–93. doi: 10.1186%2F2046-0481-60-2-88.
- Störchle, P., Müller, W., Sengeis, M., Lackner, S., Holasek, S., & Fürhapter-Rieger, A. (2018). Measurement of mean subcutaneous fat thickness: eight standardised ultrasound sites compared to 216 randomly selected sites. *Sci Rep*, 8, 16268. doi: 10.1038/s41598-018-34213-0.
- Szatmari, V., Rothuizen, J., & Voorhout, G. (2004). Standard planes for ultrasonographic examination of the portal system in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224, 713–716. doi: 10.2460/javma.2004.224.713.
- Zimmermann, K. A. (2016). Digestive System: Facts, Function & Diseases. *Live Scienc*. URL: <https://www.livescience.com/22367-digestive-system.html>.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9914  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619.611.018.51:621.928.3:591.111.1:636

## Histological characteristics of Platelet-Rich Fibrin clots obtained under various modes of blood centrifugation

S. N. Shevchenko, M. V. Rublenko

*Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine*

### Article info

Received 08.09.2020  
Received in revised form  
08.10.2020  
Accepted 09.10.2020

Bila Tserkva National Agrarian  
University, pl. Soborna 8/1,  
Bila Tserkva, 09117 Ukraine.  
Tel.: +38-097-859-58-11  
E-mail:  
svilana.shevchenko@btsau.edu.ua

**Shevchenko, S. N., & Rublenko, M. V. (2020). Histological characteristics of Platelet-Rich Fibrin clots obtained under various modes of blood centrifugation. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 84–93. doi: 10.32718/nvlvet9914**

Autologous products of the first and second generation, namely platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin, are considered promising for regenerative medicine. They differ from each other in physical properties, as well as in the way they are obtained. The key procedure of all techniques is centrifugation; changing its parameters affects the biological properties of these biomaterials. The aim of the work is to determine and histologically characterize the area of concentration cells of autologous fibrin enriched with platelets, depending on the change in centrifugation parameters. The studies were carried out on rabbits. Blood was collected and platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) were obtained using different values of relative centrifugal force: 100 g, 400 g, 735 g, 906 g, 1843 g. Due to the fact that it is impossible to determine the number of platelets in PRF clots, the counting was performed in platelet-rich plasma obtained by a single centrifugation with the corresponding parameters that were used to obtain PRF. The length of the formed clots was compared and a histological assessment of the cell composition in different layers (lower, middle and upper) was carried out. The highest platelet concentrations were observed in PRP obtained at 100 g and 400 g. Application of different values of centrifugal force showed obvious differences in the formation of platelet-rich fibrin clots. After preparation of I-PRF, its volume was significantly less than that of standard PRF, and the border between erythrocytes was less distinct. During the histological examination of fibrin clots, a change in the distribution of cellular elements in different parts was found with a change in the centrifugation parameters. With an increase in the parameter of relative centrifugal force, the length of the fibrin clot significantly increases, but the concentration of platelets in it significantly decreases. That is, it was found that the most optimal value of the relative centrifugal force for obtaining platelet mass is 100 g, which makes it possible to achieve the number of platelets greater than  $800 \times 10^9/L$ .

**Key words:** centrifuges, fibrin, platelet mass, relative centrifugal force, blood cells.

## Гістологічна характеристика згустків фібрину, збагачених тромбоцитами і одержаних за різних режимів центрифугування крові

С. М. Шевченко, М. В. Рубленко

*Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна*

Аутологічні продукти першого та другого покоління, а саме плазма та фібрин, збагачені тромбоцитами, вважаються перспективними для регенеративної медицини. Вони відрізняються одне від одного за фізичними властивостями, а також за способами їх одержання. Ключова процедура усіх методик – центрифугування, зміна його параметрів впливає на біологічні властивості зазначених біоматеріалів. Мета роботи – визначити та гістологічно охарактеризувати ділянки концентрування клітин аутологічного фібрину, збагаченого тромбоцитами, залежно від зміни параметрів центрифугування. Дослідження виконували на кролях. Відбирали кров та одержували плазму (PRP) і фібрин (PRF), збагачені тромбоцитами, використовуючи різні величини відносної

відцентрової сили: 100 g, 400 g, 735 g, 906 g, 1843 g. У зв'язку з тим, що у згустках PRF визначити кількість тромбоцитів неможливо, підрахунок проводили у плазмі, збагаченій тромбоцитами, отриманій шляхом одноразового центрифугування з відповідними параметрами, які використали для одержання PRF. Порівнювали довжину сформованих згустків та проводили гістологічну оцінку клітинного складу в різних їх шарах (нижньому, середньому і верхньому). Найвищі концентрації тромбоцитів виявляли у PRP, одержаній за 100 g та 400 g. Застосування різних величин відцентрової сили показали очевидні відмінності у формуванні згустків фібрину, збагачених тромбоцитами. Після приготування I-PRF його об'єм був значно меншим, порівняно зі стандартним PRF, а межа між еритроцитами – мени чіткою. Під час гістологічного дослідження фібринових згустків виявили зміну розподілу клітинних елементів у різних частинах за зміни параметрів центрифугування. При підвищенні відносної відцентрової сили суттєво збільшується довжина фібринового згустку, але суттєво зменшується в ньому концентрація тромбоцитів. Тобто встановлено, що найбільш оптимальною величиною відносної відцентрової сили для отримання тромбоцитарної маси є 100 g, що дозволяє досягти кількості тромбоцитів, більшої за  $800 \times 10^9/\text{л}$ .

**Ключові слова:** центрифуги, фібрин, тромбоцитарні маси, відносна відцентрова сила, клітини крові.

## Вступ

Широковживане нині поняття регенеративної медицини та її розвиток зумовлені лавиноподібною розробкою новітніх біотехнологій генної і клітинної терапії та інжиніринга тканин, що забезпечують неповну (субституцію) та повну (реституцію) регенерацію тканин і органів (Gillman et al., 2020; Davenport Huyer et al., 2020).

При цьому одним із пріоритетних напрямів у регенеративній медицині є застосування біотехнологій для прискорення процесів регенерації за пошкодження кісток і м'яких тканин. Зокрема, це використання тромбоцитарних технологій для лікування патологій опорно-рухового апарату та прискорення регенерації тканин (Dohan Ehrenfest et al., 2009; Bielecki & Dohan Ehrenfest, 2012; Rublenko et al., 2014).

На сучасному етапі практикують застосування декількох поколінь тромбоцитарних концентратів, які вважаються перспективними для регенеративної медицини. До першого зараховують плазму, збагачену тромбоцитами (PRP – Platelet-Rich Plasma) (Dohan et al., 2006; Douglas et al., 2018; Shevchenko et al., 2019). Удосконалення технологій отримання речовин, концентруючих тромбоцити, сприяло розвитку другого покоління цих біоматеріалів, а саме фібрину, збагаченого тромбоцитами (PRF – Platelet-Rich Fibrin) (Dohan Ehrenfest et al., 2012; Tina Roshini et al., 2019; Chernyshenko et al., 2019). Аутологічні продукти першого та другого покоління відрізняються один від одного за фізичними властивостями, а також за способами їх одержання, в тому числі за кількістю ступенів центрифугування (Pazzini et al., 2016; Khalaf & Salih, 2018; Yaltirik et al., 2018). Плазму, збагачену тромбоцитами, виготовляють шляхом відбору зразка крові з різними антикоагулянтами та наступним одночи двоступеневим центрифугуванням, у результаті чого отримують очищену плазму, збагачену тромбоцитами, або плазму, збагачену лейкоцитами та тромбоцитами. Проте присутність антикоагулянтів і необхідність додавання різних речовин як активаторів тромбоцитів можуть викликати негативні реакції організму як неаутологічні продукти (Franklin et al., 2017; Chicharro et al., 2018; Etulain, 2018; Maia et al., 2019). З огляду на це, до переваг PRF зараховують нескладну та швидку техніку його одержання, відсутність необхідності додавання сторонніх речовин, біохімічних обробок, імунних реакцій, передачі інфекційних захворювань, а також поступовий екстрацелю-

лярний вихід із тромбоцитів факторів росту протягом семи діб (Kiran et al., 2011; Ayswaria et al., 2018). У зв'язку з цим багато дослідників зосереджують свою увагу саме на фібрині, збагаченому тромбоцитами.

До складу PRF входять 97 % тромбоцитів та 50 % (Kiran et al., 2011; Kossev & Sokolov, 2015; Yaltirik et al., 2018) лейкоцитів, які розміщені у тривимірному структурованому фібриновому каркасі та здатні впливати на проліферацію і міграцію інших клітин, що беруть участь у репаративних процесах (Choukroun & Ghanaati, 2018).

PRF вважається достатньо ефективним у використанні як ізольовано, так і в комбінації з різноманітними матеріалами (Zhang et al., 2012). Його застосування пропонують з метою стимуляції регенерації різних тканин, яка прискорюється за рахунок екскреції активованими альфа-гранулами тромбоцитів факторів росту: тромбоцитарний фактор росту (PDGF), трансформуючий фактор росту (TGF- $\beta$ 1), судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), інсуліноподібний фактор росту (IGF-1) та інші. Вони володіють індуктивними властивостями щодо клітин різних тканин організму (Oryan et al., 2014; De Pascale et al., 2015; Arora & Agnihotri, 2017).

Водночас неповна характеристика протоколів приготування PRF, відсутність чіткої їх класифікації і стандартизації значно ускладнює (навіть порівняно з PRP, у якій можна підрахувати кількість клітин (de Almeida et al., 2018), систематизацію та порівняння існуючих результатів досліджень, що зумовлює дискусію щодо біологічної ефективності кожного фактора росту за певних нозологічних форм патології (Bansal et al., 2017).

Дотепер розроблена значна кількість методик приготування фібрину, збагаченого тромбоцитами, з використанням комерційно доступних автоматичних приладів чи за допомогою лабораторних центрифуг, що зумовило виникнення безлічі форм фібрину, збагаченого тромбоцитами: P-PRF (Pure platelet-rich fibrin), L-PRF (Leukocyte and platelet-rich fibrin), A-PRF (Advanced platelet-rich fibrin), I-PRF (Injectable platelet-rich fibrin), T-PRF (Titanium platelet-rich fibrin) (Yaltirik et al., 2018). Їхня основна відмінність полягає у зміні часу центрифугування, його швидкості та матеріалах пробірок, у які відбирають зразки крові (Peck et al., 2016; Choukroun & Ghanaati, 2018).

Ключова процедура усіх методик – центрифугування, параметри якого впливають на біологічні властивості зазначених біоматеріалів. Здебільшого фіб-

рин, збагачений тромбоцитами, застосовують у гуманній медицині, переважно в стоматології та щелепо-лицевій хірургії. При цьому відбирають кров об'ємом не менше 10 мл та центрифугують 8–12 хв. Проте I-PRF (ін'єкційний) готують за низької відносної відцентрової сили центрифугування – у межах 100 g протягом 2–3 хв, у результаті чого утворюється рідка фракція, що поступово протягом декількох хвилин полімеризується. Властивості цих біологічних продуктів відрізняються, а тому по-різному впливають на процеси регенерації (Wang et al., 2017; Choukroun & Ghanaati, 2018; Thanasisuebwong et al., 2019). При цьому об'єктивність їх оцінки ускладнена недостатньою інформативністю.

У ветеринарній медицині постає необхідність модифікації методів підготовки тромбоцитарних мас у зв'язку з обмеженим об'ємом крові у дрібних тварин (собаки малих порід та коти), оскільки нерідко відбір 10 мл за певних умов може бути критичним для здоров'я пацієнтів (Ghanaati et al., 2018).

Ще одна причина необхідної модифікації протоколів – використання центрифуг з різними радіусами роторів, які за однакової швидкості обертання приладів мають різні величини відносної відцентрової сили та відповідно ступінь розподілу клітин у згустку PRF. Центрифуги з фіксованим кутом та горизонтальні теж можуть мати вплив на розподіл клітин у згустку (Ghanaati et al., 2018; Chernyshenko et al., 2019). Все це може впливати на клінічну ефективність фібрину, збагаченого тромбоцитами.

Мета роботи – визначити та гістологічно охарактеризувати ділянки концентрування клітин аутологічного фібрину, збагаченого тромбоцитами, залежно від зміни параметрів центрифугування.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження виконувалися на базі кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського НАУ відповідно до закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” від 28.03.2006 р., правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р., та Наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. “Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах”. Схему проведення досліджень було затверджено Етичним комітетом БНАУ протокол № 1 від 23 січня 2019.

Для дослідження використовували клінічно здорових кролів з масою тіла 2,5 кг, яких утримували у виварії Білоцерківського НАУ в індивідуальних клітках. Вони мали необмежений доступ до води, годівлю забезпечували комбікормом для кролів із розрахунку 200 г на одну голову за добу. Напередодні дослідження провели морфологічне дослідження крові за загальноприйнятими методиками для виключення можливих відхилень у коливанні кількості еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів. Кількість останніх становила  $208,2 \pm 7,78 \times 10^9/\text{л}$ .

У зв'язку з тим, що у згустках PRF підрахувати кількість тромбоцитів неможливо, попередньо приготували плазму, збагачену тромбоцитами, шляхом одноразового центрифугування з відповідними величинами відносної відцентрової сили, які використали для одержання PRF (рис 1.).

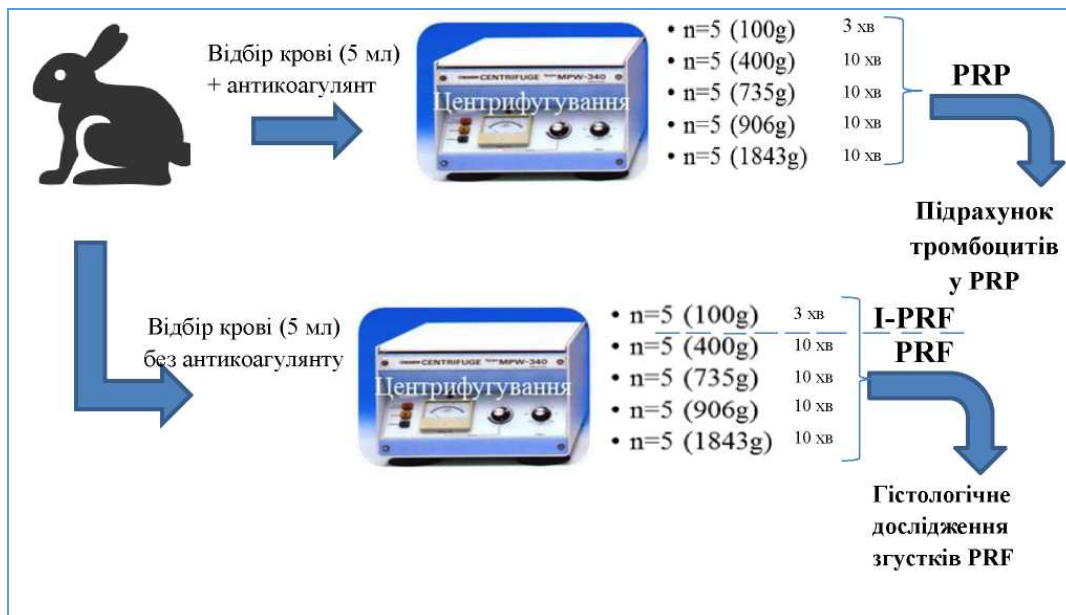


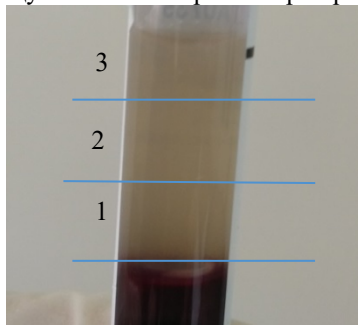
Рис. 1. Одержання плазми та фібрину, збагачених тромбоцитами

У кролів ( $n = 25$ ) з яремної вени відбирали кров об'ємом 5 мл, використовуючи як антикоагулянт 3,8 % цитрат натрію. Центрифугування проводили за відносної відцентрової сили 100 g протягом 3 хв, а за

400, 735, 906 та 1843 g – 10 хв. Після розподілу крові на фракції (у нижній частині містилися еритроцити, над ними розміщувався лейкоцитарний шар, а ще вище – плазма, збагачена тромбоцитами, над нею –

безклітинна плазма). При одержанні PRP відбирали шприцом шар плазми над лейкоцитарним концентратом і проводили підрахунок тромбоцитів за допомогою камери Горяєва. Для кожної величини відцентрової сили використали по 5 зразків нативної крові. Статистичну обробку проводили за допомогою програми Stat POL Roms.

Для одержання щільного фібрину, збагаченого тромбоцитами, у кролів (n = 25) відбирали кров об'ємом 5 мл у пробірки без антикоагулянту, яку відразу центрифугували протягом 10 хв на центрифугі MPW-340 (виробник Польща). Усі маніпуляції виконувалися із дотриманням правил асептики та антисептики. Використовували чотири різні величини відносної відцентрової сили: 400 g, 735 g, 906 g, 1843 g. Сформовані згустки фібрину, збагаченого тромбоцитами, відділяли від еритроцитарної маси та візуально ділили на 3 частини для подальшого дослідження: 1 межувала з еритроцитарною масою, 2 у центральній частині PRF, 3 – розміщувалася біля верхівки пробірки (рис. 2).



**Рис. 2.** 1 – нижня, 2 – центральна, 3 – верхня частини згустків PRF, які використовувалися для подальшого гістологічного дослідження

Паралельно одержали ін'єкційний фібрин, збагачений тромбоцитами. З метою недопущення полімеризації фібрину (тобто його згортання) час центрифугування складав 3 хв, а величина відцентрової сили 100 g. Для проведення гістологічного дослідження плазму в стані полімеризації, яка розділилася на дві фракції жовту(власне I-PRF – 2/3 об'єму) та червону (межа розподілу між еритроцитами та жовтою ділянкою 1/3 об'єму) відбирали пошарово за допомогою піпетки відразу після приготування, розливали у 3 окремі пластикові пробірки для полімеризації з рідкої фракції у щільні згустки та подальшої гістологічної оцінки клітинного складу в різних шарах (нижньому, середньому і верхньому).

Згустки обох форм фібрину фіксували у 10 % розчині формаліну, після чого промивали водою, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та заливали у парафін, лінійкою вимірювали їхню довжину. Парафінові зрізи отримували на ротаційному мікромомі та фарбували гематоксиліном і еозинном. Далі їх аналізували за допомогою мікроскопа фірми ZEISS з цифровим фотоапаратом Canon G5 та комп'ютерної програми Zoom Browser.

### Результати дослідження

Підрахунок тромбоцитів у зразках PRP, одержаних за різних величин відносної відцентрової сили показав наступні результати (табл. 1).

**Таблиця 1**

Кількість тромбоцитів у плазмі, збагаченій тромбоцитами за різних величин відносної відцентрової сили

Відносна відцентрова сила	Час центрифугування	Кролі, № п/п	Кількість тромбоцитів у PRP ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Середня кількість тромбоцитів у PRP ( $\times 10^9/\text{л}$ ), $M \pm m$
100 g	3 хв	1	780	824 ± 30,4
		2	920	
		3	870	
		4	790	
		5	760	
400 g	10 хв	6	550	550 ± 21,2
		7	490	
		8	520	
		9	580	
		10	610	
735 g	10 хв	11	310	322 ± 18,8
		12	280	
		13	380	
		14	350	
		15	290	
906 g	10 хв	16	90	150 ± 23,5
		17	150	
		18	220	
		19	180	
		20	110	
1843 g	10 хв	21	30	20 ± 4,5
		22	10	
		23	20	
		24	30	
		25	10	

Примітка: значення  $P < 0,001$  порівняно з попередніми параметрами центрифугування

Зі збільшенням величини відцентрової сили від 100 g і до 1843 g відбувалося осідання тромбоцитів на лейкоцитарний шар, їхня кількість була щоразу вірогідно нижчою ( $P < 0,001$ ). При цьому лише випадки центрифугування за 100 g та 400 g дозволяли одержати концентрацію тромбоцитів, яка вважається достатньою для досягнення лікувальних ефектів тромбоцитарних мас. Проте вірогідно найвищою виявилася концентрація тромбоцитів у плазмі за відносної відцентрової сили 100 g.

Застосування різних величин відцентрової сили показали очевидні відмінності у формуванні згустків фібрину, збагачених тромбоцитами (табл. 2, рис. 4). З підвищенням цього параметра збільшувався і об'єм утвореного біоматеріалу. Після приготування I-PRF його об'єм був значно меншим, порівняно зі стандартним PRF, а межа між еритроцитами – менш чіткою (рис. 3).

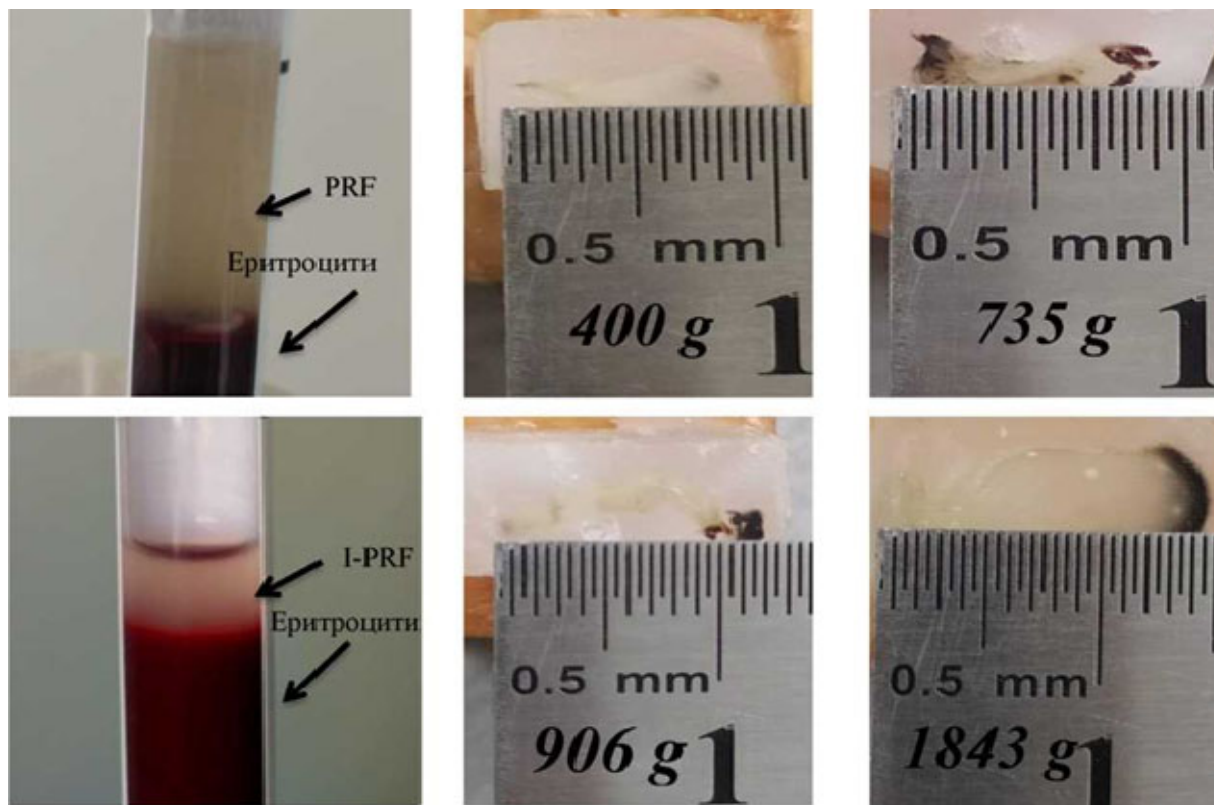


Рис. 3. Об'єми та лінійні розміри PRF та I-PRF

Таблиця 2

Довжина (см) згустків PRF та I-PRF за різних величин відносної відцентрової сили

№ п/п	Величини відносної відцентрової сили				
	100 g	400 g	735 g	906 g	1843 g
1	0,3	0,8	0,9	1,2	1,45
2	0,25	0,75	0,85	1,3	1,5
3	0,34	0,7	0,95	1,35	1,4
4	0,28	0,75	0,95	1,25	1,5
5	0,39	0,85	1,0	1,3	1,55
M ± m	0,31 ± 0,02	0,77 ± 0,03**	0,93 ± 0,03*	1,28 ± 0,03**	1,48 ± 0,03*

Примітка: значення P – \* < 0,01; P – \*\* < 0,001, порівняно з попереднім згустком PRF, одержаним за меншої величини відносної відцентрової сили

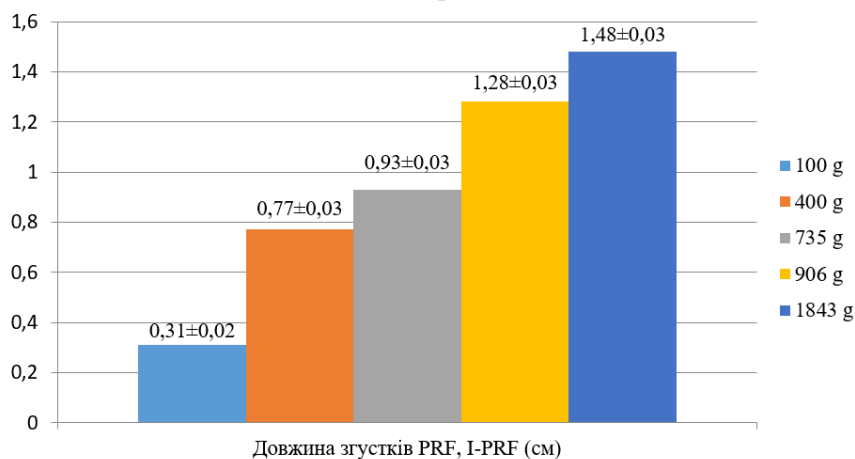
Шляхом лінійного вимірювання PRF та I-PRF одержаних за різних режимів центрифугування було визначено, що збільшення відцентрової сили забезпечує формування згустку з вірогідно більшою довжиною, але надзвичайно низькою концентрацією тромбоцитів.

Встановлено (рис. 5), що за центрифугування крові з використанням відносної відцентрової сили 400 g лейкоцити розміщуються по всьому згустку, але їх основна маса перебуває в нижній його частині. При

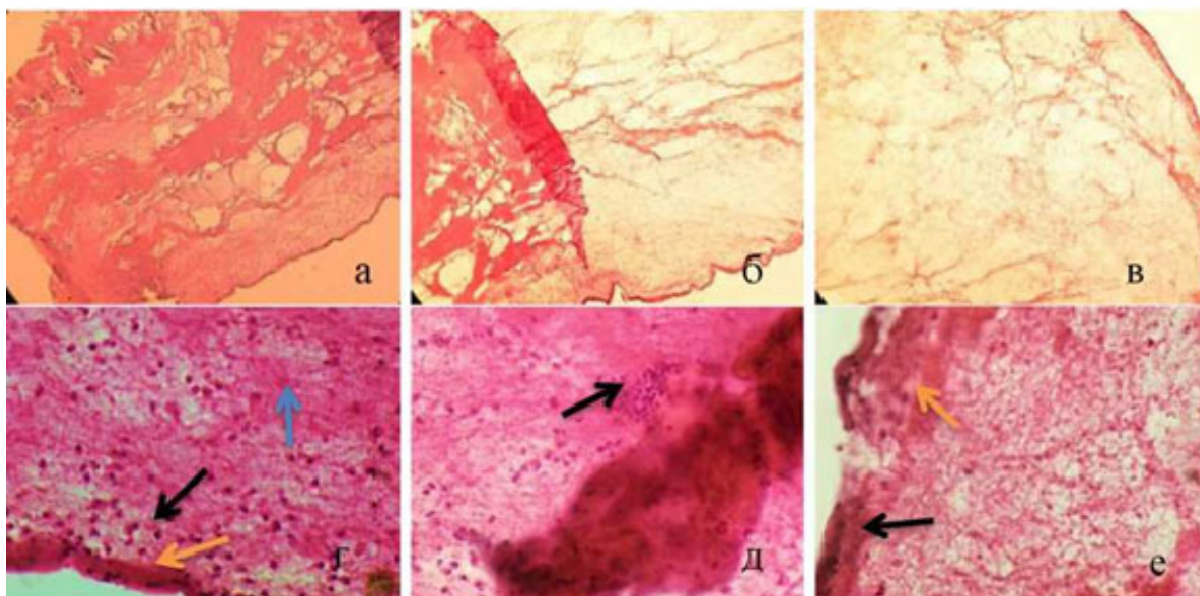
цьому тромбоцити розміщені в усіх ділянках практично рівномірно.

За центрифугування зразка крові при 735 g (рис. 6) переважна більшість лейкоцитів та еритроцитів розміщується в нижній частині згустку, в невеликій кількості лейкоцити містяться в центральній, а у верхній – лише тромбоцити. Біля стінок пробірки у верхній частині спостерігали незначну кількість еритроцитів.



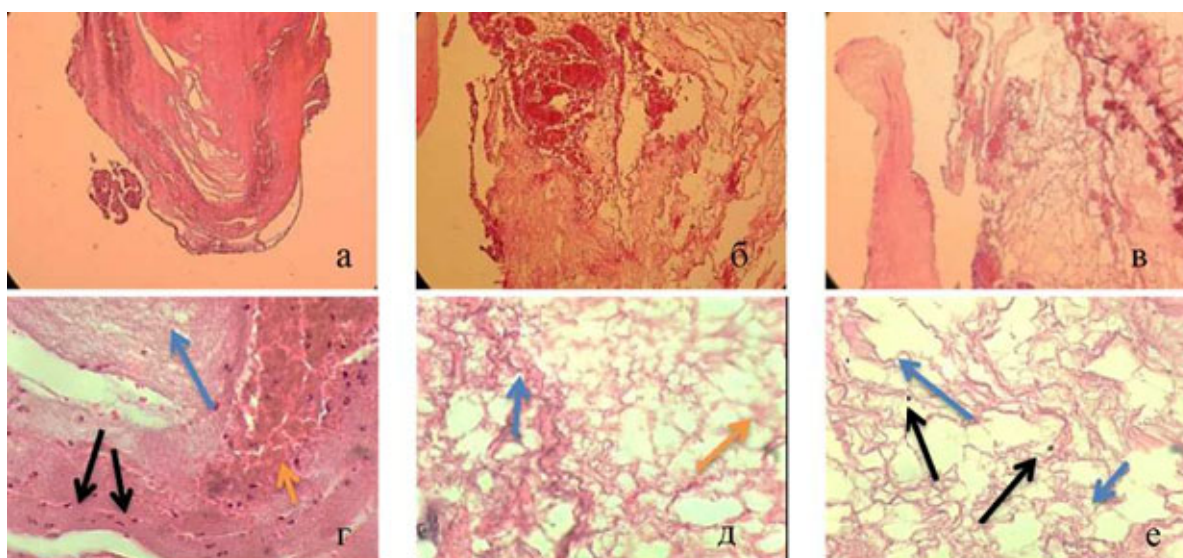


**Рис. 4.** Залежність довжини згустків PRF та I-PRF від величини відцентрової сили



**Рис. 5.** Гістокартина фібринових згустків гематоксилін/еозин за 400 g

*Примітки:* 1) Нижня (а), центральна (б), верхня (в) їх частини,  $\times 100$ ; 2) Нижня (г), центральна (д), верхня (е) їх частини,  $\times 400$  (лейкоцити – чорна стрілка, скупчення тромбоцитів – синя, еритроцити – помаранчева)

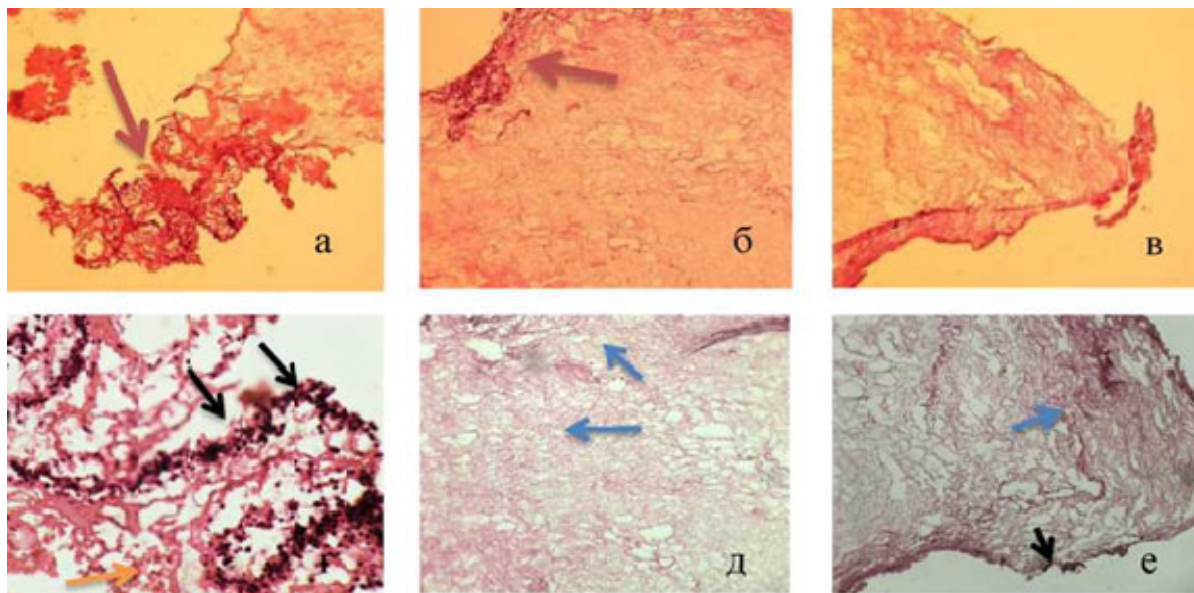


**Рис. 6.** Гістокартина фібринових згустків гематоксилін/еозин за 735 g

*Примітки:* 1) Нижня (а), центральна (б), верхня (в) їх частини,  $\times 100$ ; 2) Нижня (г), центральна (д), верхня (е) їх частини,  $\times 400$  (лейкоцити – чорна стрілка, скупчення тромбоцитів – синя, еритроцити – помаранчева)

За центрифугування зразка крові при 906 g (рис. 7) встановлено розміщення еритроцитів та лейкоцитів лише у нижній частині за значної кількості тромбоцитів у вигляді скупчень, а у центральній та верхній

частинах згустку були скупчення тромбоцитів з поодинокими еритроцитами на периферії біля стінок пробірки.

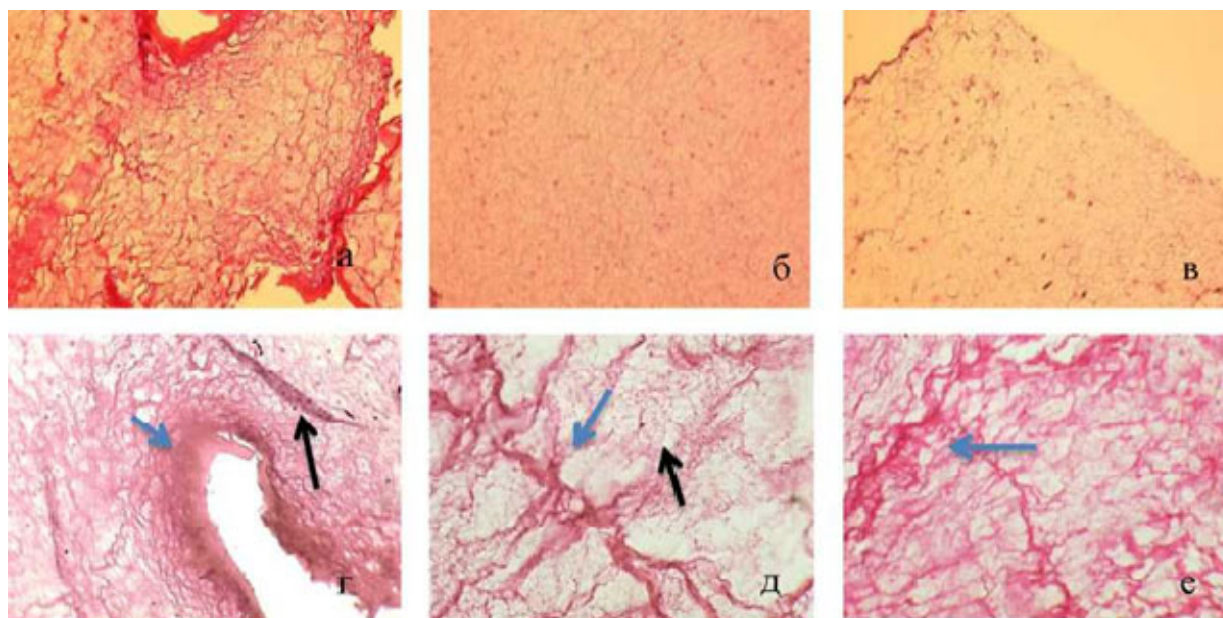


**Рис. 7.** Гістокартина фібринових згустків гематоксилін/еозин за 906 g

*Примітки:* 1) Нижня (а), центральна (б), верхня (в) їх частини,  $\times 100$ ; 2) Нижня (г), центральна (д), верхня (е) їх частини,  $\times 400$  (лейкоцити – чорна стрілка, скупчення тромбоцитів – синя, еритроцити – помаранчева)

Під час центрифугування зразка крові з параметрами відцентрової сили 1843 g (рис. 8) в нижній частині згустку виявлено в невеликій кількості еритроцити та лейкоцити, але переважна більшість останніх зосередилася поза його межами, а саме в еритроцитарному шарі. При цьому значна кількість тромбоцитів розміщувалася майже на межі з основною масою ери-

троцитів. У центральній та верхній частинах згустку містилася невелика кількість тромбоцитів у вигляді скупчень, розташованих на периферії згустку. Тобто за таких умов центрифугування основна маса тромбоцитів міститься поза межами фібринового згустку, який відповідно не має біологічних властивостей, притаманних тромбоцитам.

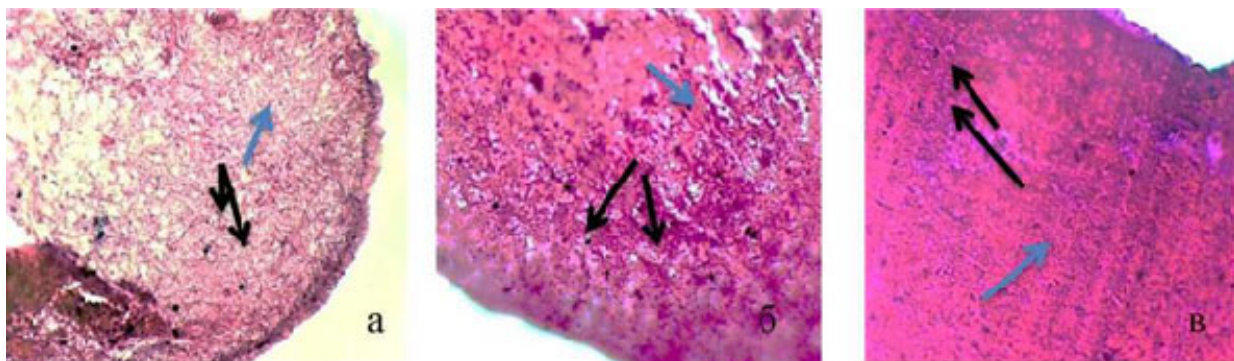


**Рис. 8.** Гістокартина фібринових згустків гематоксилін/еозин за 1843 g

*Примітки:* 1) Нижня (а), центральна (б), верхня (в) їх частини,  $\times 100$ ; 2) Нижня (г), центральна (д), верхня (е) їх частини,  $\times 400$  (лейкоцити – чорна стрілка, скупчення тромбоцитів – синя, еритроцити – помаранчева)

За центрифугування з відносно відцентровою силою 100 g (рис. 9) у нижньому шарі I-PRF (червона межа розподілу) виявляли велику кількість еритроцитів, лейкоцити, які були присутні майже у

всіх ділянках, а основна маса тромбоцитів у вигляді фіолетових скупчень розміщена у середньому та верхньому шарах.



**Рис. 9.** Гістокартина згустків полімеризованого фібрину, збагаченого тромбоцитами, одержаного за 100 g гематоксилін/еозин

Примітки: 1) Нижня (а), центральна (б), верхня (в) їх частини,  $\times 400$

Таким чином, при підвищенні параметра відносно відцентрової сили суттєво збільшується довжина фібринового згустку, але суттєво зменшується в ньому концентрація тромбоцитів. Тобто встановлено, що найбільш оптимальною величиною відносно відцентрової сили для отримання тромбоцитарної маси є 100 g, що дозволяє досягти кількості тромбоцитів, більшої за 800 Г/л.

### Обговорення

На початку розвитку другого покоління тромбоцитарних концентратів не надавалося особливого значення відмінностям між центрифугами, хоч це могло бути ключовим чинником у співвідношенні клітинних елементів фібрину, збагаченого тромбоцитами.

Центрифугування – це процес, який унаслідок взаємодії різних сил – гравітаційної, сили тяжіння частинок (клітин) та відцентрової сили, приводить до розподілу клітин залежно від їх розміру і маси (Choukroun & Ghanaati, 2018).

Відомо (Kossev & Sokolov, 2015; Öncü et al., 2016), що кількість тромбоцитів у PRP здатна впливати на репаративні процеси таким чином: стимулюючи у кількості від  $800\text{--}1500 \times 10^9/\text{л}$  та інгібуючи, коли цей показник перевищує  $5000 \times 10^9/\text{л}$ .

Проведене дослідження демонструє, що PRP, одержана при 100 g, хоч і мала доволі незначний об'єм, все ж містила необхідну кількість клітин для індукції репаративного потенціалу. Ймовірно, що PRF при отриманні його за такого ж режиму теж матиме відповідне число тромбоцитів.

Фібрин, збагачений тромбоцитами, являє собою мережу фібринових ниток, серед яких залежно від застосованої відцентрової сили у різних ділянках розташовуються еритроцити, лейкоцити та тромбоцити у вигляді скупчень. Зважаючи на те, що I-PRF перебуває в рідкій формі, все ж через деякий час відбувається процес його полімеризації і перетворення у щільний згусток, схожий за зовнішнім

виглядом на PRF, хоч і за меншого об'єму. Значимо, що в результаті аналізу гістологічних зразків, саме у цій формі з усіх досліджуваних речовин було виявлено найвищі концентрації лейкоцитів та тромбоцитів, які майже рівномірно розподілилися в різних шарах біоматеріалу.

Дослідження зарубіжних вчених (Ghanaati et al., 2018), які проводили визначення кількості клітин у згустках PRF (перешкоджаючи їх згортанню) за різних режимів центрифугування та визначення концентрації судинно-ендотеліального фактора росту, показали, що зі зниженням відносно відцентрової сили відбувається підвищення рівня лейкоцитів і концентрації судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) (Ghanaati et al., 2018). Проте ці результати не верифікують ділянок розподілу клітин у згустках.

Наведені результати дають розуміння того факту, що застосування різних ділянок згустків PRF або невеликої кількості I-PRF для регенерації однакових тканин по-різному буде впливати на репаративні процеси, оскільки його частини будуть значно відрізнятися за складом і концентрацією лейкоцитів та тромбоцитів і, як наслідок, різною концентрацією та ступенем екскреції факторів росту. Існує припущення (Lesche et al., 2016), що величина відносно відцентрової сили здатна впливати на вихід біоактивних речовин з альфа-гранул тромбоцитів.

Проте варто врахувати, що лейкоцити, які також потрапляють у I-PRF, теж є джерелом VEGF та інших факторів росту (Yaltirik et al., 2018), а нейтрофіли забезпечують випуск протеаз та інших речовин, спрямованих на боротьбу зі шкідливими мікроорганізмами. Не виключено, що їх потраплення в тканини у великій концентрації з частиною згустку фібрину, збагаченого тромбоцитами, може викликати додаткові реакції у тканинах.

У зв'язку з цим в подальшому необхідно ретельно дослідити вплив окремо взятих ділянок фібринових матриць, виготовлених за різних значень відцентрової сили (Lesche et al., 2016; Ghanaati et al., 2018) та

залежність клітинного співвідношення у них на різні типи тканин. Після чого, можливо, адаптувати протоколи PRF для оптимізації репаративних процесів у різних тканинах.

### Висновки

1. Різні величини відносної відцентрової сили центрифугування крові та його час суттєво впливають на розподіл клітинних елементів у згустках фібрину. Її зниження зумовлює збільшення кількості не лише тромбоцитів, а й лейкоцитів з утворенням меншого об'єму аутологічного PRF. Скорочення часу центрифугування до 3 хв дає змогу одержати рідку форму фібрину, збагачену тромбоцитами.

2. За умов центрифугування при 100 g у I-PRF концентрація тромбоцитів і лейкоцитів досягає максимального рівня з майже рівномірним розподілом клітин у фібриновому згустку.

3. Перспектива подальших досліджень полягає в оцінці впливу PRF та I-PRF з різною концентрацією і складом клітин на регенерацію різних типів тканин.

**Конфлікт інтересів.** Представлені дослідження виконані відповідно до затвердженої теми дисертаційної роботи “Застосування гідроксиапатитних композитів з фібрином, збагаченим тромбоцитами, за кісткової патології опорно-рухового апарату в тварин” (протокол № 4 від 13 грудня 2018 р.) та виконання Держбюджетної тематики “Доклінічні дослідження виробів зі зроблених біоматеріалів” № 48/1 від 27. 08. 2019) в рамках виконання науково-дослідної роботи “Розробка та доведення до впровадження в клінічну практику кісткових імплантів різного призначення з новітніх біоматеріалів для відновлення кісткової тканини та функції кісток після поранень в бойових діях” (Договір № 515 від 17 квітня 2019 р.) відповідно до цільової науково-технічної програми НАН України “Дослідження і розробки з проблем підвищення обороноздатності і безпеки держави” та розпорядження НАН України від 16.04.2019 № 255.

### References

Arora, S., & Agnihotri, N. (2017). Platelet Derived Biomaterials for Therapeutic Use: Review of Technical Aspects. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 33(2), 159–167. doi: 10.1007/s12288-016-0669-8.

Ayswaria, B., Sarath, C., & Seema, G. (2018). An Overview of Platelet Rich Fibrin in Periodontal Therapy. *Journal of Indian Dental Association Attingal Branch*, 8(2), 49–53.

Bansal, S., Garg, A., Khurana, R., & Chhabra, P. (2017). Platelet-rich fibrin or platelet-rich plasma – Which one is better? An opinion. *Indian J Dent Sci*, 9(5), 49–52. doi: 10.4103/IJDS.IJDS\_55\_17.

Bielecki, T., & Dohan Ehrenfest, D. M. (2012). Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): Surgical Adjuvants, Preparations for In Situ Regenerative Medicine and Tools for Tissue

Engineering. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1121–1130. doi: 10.2174/138920112800624292.

Chernyshenko, V., Steinberg, K., Lugovska, N., Ryzhykova, M., Platonova, T., Korolova, D., & Lugovskoy, E. (2019). Preparation of highly-concentrated autologous platelet-rich plasma for biomedical use. *Ukr. Biochem. J.*, 91(2), 19–27. doi: 10.15407/ubj91.02.019.

Chicharro, D., Carrillo, J. M., Rubio, M., Cugat, R. et al. (2018). Combined plasma rich in growth factors and adipose-derived mesenchymal stem cells promotes the cutaneous wound healing in rabbits. *BMC Veterinary Research*, 14, 288. doi: 10.1186/s12917-018-1577-y.

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*, 44, 87–95. doi: 10.1007/s00068-017-0767-9.

Davenport Huyer, L., Pascual-Gil, S., Wang, Y., Mandla, S., Yee, B., & Radisic, M. (2020). Advanced Strategies for Modulation of the Material–Macrophage Interface. *Adv. Funct. Mater*, 30(44), 1909331. doi: 10.1002/adfm.201909331.

de Almeida, V. H., de Araujo, R. F., Vasconcelos, R. C., Garcia, V. B., de Souza, L. B., & de Araujo, A. A. (2018). Histological Preparation Technique of Blood Derivative Injectable Platelet-Rich Fibrin (I-Prf) for Microscopic Analyzes. *J Cytol Histol*, 9(3). 1000506. doi: 10.4172/2157-7099.1000506.

De Pascale, M. R., Sommese, L., Casamassimi, A., & Napoli, C. (2015). Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfusion Medicine Reviews*, 29, 52–61. doi: 10.1016/j.tmr.2014.11.001.

Dohan Ehrenfest, D. M., Bielecki, T., Mishra, A., Borzini, P. et al. (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*, 12, 1131–1137.

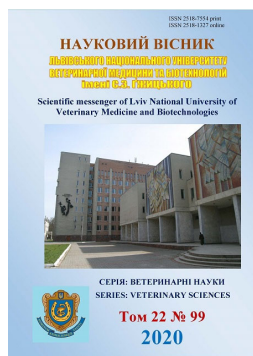
Dohan Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*, 27(3), 158–167. doi: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009.

Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L. et al. (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*, 101, 37–44.

Douglas, T. E. L., Vandrovcová, M., & Kročilová, N. (2018). Application of whey protein isolate in bone regeneration: Effects on growth and osteogenic differentiation of bone-forming cells. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 28–36. doi: 10.3168/jds.2017-13119.

Etulain, J. (2018). Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets*, 29(6), 556–568. doi: 10.1080/09537104.2018.1430357.

- Franklin, S. P., Birdwhistell, K. E., & Strelchik, A. (2017). Influence of Cellular composition and Exogenous Activation of Growth Factor and Cytokine Concentrations in Canine Platelet-Rich Plasmas. *Frontiers in Veterinary Science*, 4, 40. doi: 10.3389/fvets.2017.00040.
- Ghanaati, S., Al-Maawi, S., Herrera-Vizcaino, C., Alves, G.G., Calasans-Maia, M.D., Sader, R., Kirkpatrick, C.J., Choukroun, J., Bonig, H., & Mourão, C. F. A. B. (2018). A proof of the low speed centrifugation concept in rodents: new perspectives for in vivo research. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 24(11), 659–670. doi: 10.1089/ten.TEC.2018.0236.
- Gillman, N., Lloyd, D., Bindra, R., Ruan, R., & Zheng, M. (2020). Surgical applications of intracorporal tissue adhesive agents: current evidence and future Development. *Expert Review of Medical Devices*, 17(5), 443–460. doi: 10.1080/17434440.2020.1743682.
- Khalaf, F. H., & Salih, S. I. (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*, 11(5), 337–341. doi: 10.22159/ajpcr.2018.v11i5.24105.
- Kiran, N. K., Mukunda, K. S., & Tilak Raj, T. N. (2011). Platelet Concentrates: A Promising Innovation In Dentistry. *Journal of Dental Sciences & Research*, 2(1), 50–61.
- Kossev, P., & Sokolov, T. (2015). Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. *Immunopathology and Immunomodulation*, 173–195. doi: 10.5772/61326.
- Lesche, D., Geyer, R., Lienhard, D., Nakas, C. T., Diserens, G., Vermathen, P., & Leichtle, A. B. (2016). Does centrifugation matter? Centrifugal force and spinning time alter the plasma metabolome. *Metabolomics*, 12, 159. doi: 10.1007/s11306-016-1109-3.
- Maia, F. R., Correlo, V. M., Oliveira, J. M., & Reis, R. L. (2019). Chapter 32– Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. *Principles of Regenerative Medicine (Third Edition)*, Academic Press, 2019, 535–558. doi: 10.1016/B978-0-12-809880-6.00032-1.
- Öncü, E., Bayram, B., Kantarcı, A., Gülsever, S., & Alaaddinoğlu, E. E. (2016). Positive effect of platelet rich fibrin on osseointegration. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 21(5), e601–e607. doi: 10.4317/medoral.21026.
- Oryan, A., Alidadi, S., Moshiri, A., & Bigham-Sadegh, A. (2014). Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 40(5), 459–481. doi: 10.1002/biof.1177.
- Pazzini, J. M., De Nardi, A. B., Huppel, R. R., & Gering, A. P. (2016). Method to obtain platelet-rich plasma from rabbits. *Pesq. Vet. Bras.*, 36(1), 39–44. doi: 10.1590/S0100-736X2016000100007.
- 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*, 71(7), 298–302.
- Rublenko, M. V., Andriec', V. G., Lugovs'koj, E. V., Platonova, T. M., & Chernishenko, T. M. (2014). Kliniko-rentgenologichna karakteristika eksperimental'nogo zastosuvannja fibrinovogo gelju dlja optimizacii reparativnogo osteogenezu v kroliv. *Naukovij visnik veterinarnoї medicini*, 14(114), 130–134 (in Russian).
- Shevchenko, S., Rublenko, M., & Bonkovsky, O. (2019). Technologies for producing platelet masses for regenerative medicine. *Naukovij visnyk veterinarnoї medycyny*, 2, 105–117. doi: 10.33245/2310-4902-2019-152-2-105-117.
- Thanasisuebwong, P., Surarit, R., Bencharit, S., & Ruangsawasdi, N. (2019). Influence of Fractionation Methods on Physical and Biological Properties of Injectable Platelet-Rich Fibrin: An Exploratory Study. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(7), 1657. doi: 10.3390/ijms20071657.
- Tina Roshini, S., Arunprasad, A., Justin William, B., Jeyaraja, K., & Priyadharshini, K. (2019). Autologous platelet rich plasma for regeneration of tendon injuries in horses. *Indian journal of animal research*, 2019(53), 1354–1360. doi: 10.18805/ijar.B-3653.
- Wang, X., Zhang, Y., Choukroun, J., Ghanaati, S. et al. (2017). Behavior of Gingival Fibroblasts on Titanium Implant Surfaces in Combination with either Injectable-PRF or PRP. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 331. doi: 10.3390/ijms18020331.
- Yaltirik, M., Koray, M., Kocaelli, H., & Ofluoglu, D. (2018). Platelet-Rich Plasma in Trauma Patients. *Trauma in Dentistry*. doi: 10.5772/intechopen.79966.
- Zhang, Y., Tangl, S., Huber, C. D., Lin, Y. et al. (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*, 40(4), 321–328. doi: 10.1016/j.jcms.2011.04.020.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9915

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.5–002:636.2

## Features of cows treatment with purulent pododermatitis complicated by keratomycetes

N. M. Khomyn, A. R. Mysak, S. V. Tsisinska, V. V. Pritsak, N. V. Nazaruk, Yu. M. Lenjo

*Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine*

### Article info

Received 09.09.2020

Received in revised form

08.10.2020

Accepted 09.10.2020

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-067-894-17-12  
E-mail: [nadiakhomyn@ukr.net](mailto:nadiakhomyn@ukr.net)

**Khomyn, N. M., Mysak, A. R., Tsisinska, S. V., Pritsak, V. V., Nazaruk, N. V., & Lenjo, Yu. M. (2020). Features of cows treatment with purulent pododermatitis complicated by keratomycetes. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 94–100. doi: 10.32718/nvlvet9915**

One of the main branches of agricultural production in Ukraine was and remains animal husbandry. Under modern conditions of cattle breeding, the hooves of cows deserve special attention of a veterinarian, which are often exposed to various adverse factors, which, for the most part, leads to the development of inflammatory processes in the area of the base of the sole skin, sometimes of septic genesis complicated by keratomycetes. It is known that for the treatment of orthopedically ill animals there is enough wide arsenal of medicinal substances and developed methods of therapy, however, most of the proposed means exhibit only antibacterial properties, act in the lesions superficially, poorly penetrate into the depths of the tissues and do not always give the desired result. Therefore, the aim of the work was to develop an effective method of treatment of such animals with the use of medicinal substances with a wide range of antibacterial, antimycotic action, which have the ability to penetrate into tissues and promote their regeneration. For research, two groups of cows were formed, 5 animals in each, selected on the principle of analogues in terms of the nature and location of the pathological process. For therapeutic purposes, the cows of both groups after anesthesia were corrective cleaning, formed a funnel-shaped hole in the area of purulent pododermatitis and irrigated with 10 % hypertonic sodium chloride solution. On the affected area, the animals of the control group was applied a finely grated (separately) mixture of potassium permanganate and boric acid, and the control – a mixture of nanoclusters of aquachelates Ag, Cu, Zn, impregnated with a cotton swab and pantevenoli. A bandage and a protective cover were applied to the affected hooves of animals of both groups. It is defined that the proposed method of treatment makes it possible to promote the recovery of animals and reduce the treatment period by 6 days, confirmed by the results of clinical, biochemical, bacteriological, mycological and statistical studies.

**Key words:** cows, hoof horn, pododermatitis, aquachelates, keratomycetes, corrective cleaning, treatment.

## Особливості лікування корів, хворих на гнійний пододратит, ускладнений кератоміцетами

Н. М. Хомин, А. Р. Мисак, С. В. Цісінська, В. В. Прицак, Н. В. Назарук, Ю. М. Леньо

*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна*

Однією з основних галузей сільськогосподарського виробництва в Україні було і залишається тваринництво. За сучасних умов ведення скотарства особливої уваги лікаря ветеринарної медицини заслуговують копитця корів, які нерідко зазнають дії різних несприятливих факторів, що призводить здебільшого до розвитку запальних процесів у ділянці основи шкіри підкови, інколи й септичного генезу, ускладненого кератоміцетами. Відомо, що для лікування ортопедично хворих тварин є достатньо широким арсенал лікарських речовин і розроблених методів терапії, однак більшість запропонованих засобів проявляють лише антибакте-

ріальні властивості, діють у вогнищах ураження поверхнево, погано проникають у глибину тканин і не завжди дають бажаний результат. Тому метою роботи була розробка ефективного методу лікування таких тварин з використанням лікарських речовин широко спектру антибактеріальної, антимікотичної дії, які мають здатність пенетрувати у тканини та сприяти їх регенерації. Для проведення досліджень було сформовано дві групи корів по 5 тварин в кожній, підібраних за принципом аналогів щодо характеру та місця локалізації патологічного процесу. З лікувальною метою коровам обох груп після знеболювання проводили коректуючу розчистку, формували лікоподібний отвір у ділянці гнійного пододерматиту та зрошували 10 %-ним гіпертонічним розчином натрію хлориду. На уражену ділянку тваринам контрольної групи наносили тонкотерту (нарізно) суміш калію перманганату і борної кислоти та лінімент синтоміцину, а дослідної – суміш нанокластерів аквахелатів Ag, Cu, Zn, просочивши нею ватнобинтовий тампон, а у подальшому – пантєвенол (гель). На уражені копитця тварин обох груп накладали бинтову пов'язку та захисний чохол. Встановлено, що запропонований метод лікування дає можливість сприяти одужанню тварин та скоротити період лікування на 6 діб, що підтверджується результатами клінічних, біохімічних, біофізичних, бактеріологічних, мікроскопічних та статистичних досліджень.

**Ключові слова:** корови, копитцевий ріг, пододерматит, аквахелати, кератоміцети, коректуюча розчистка, лікування.

### Вступ

Однією з основних галузей сільськогосподарського виробництва в Україні було і залишається тваринництво (Lavryshyn et al., 2019; Mazur et al., 2020; Roman et al., 2020). За сучасних умов ведення скотарства особливої уваги лікаря ветеринарної медицини заслуговує стан копитець худоби, які нерідко зазнають дії різних негативних чинників, пов'язаних, зокрема, у стійловий період за прив'язного утримання тварин з похибками годівлі, догляду за копитцями, а у пасовищний – з механічними ушкодженнями підошви копитець гострими предметами при перебуванні худоби на непідготовлених пасовищах. Як зазначають вчені, хвороби копитець в окремих господарствах становлять 30–87 % (Khomyn et al., 2017; 2019). Вони завдають значних економічних збитків господарствам за рахунок зниження молочної продуктивності, вгедованості худоби, розладів репродуктивної функції та неповного використання генетичного потенціалу породи внаслідок передчасного вибракування корів (Panko et al., 1998; Kozij et al., 2000; Borysevych et al., 2004; Borysevych et al., 2007).

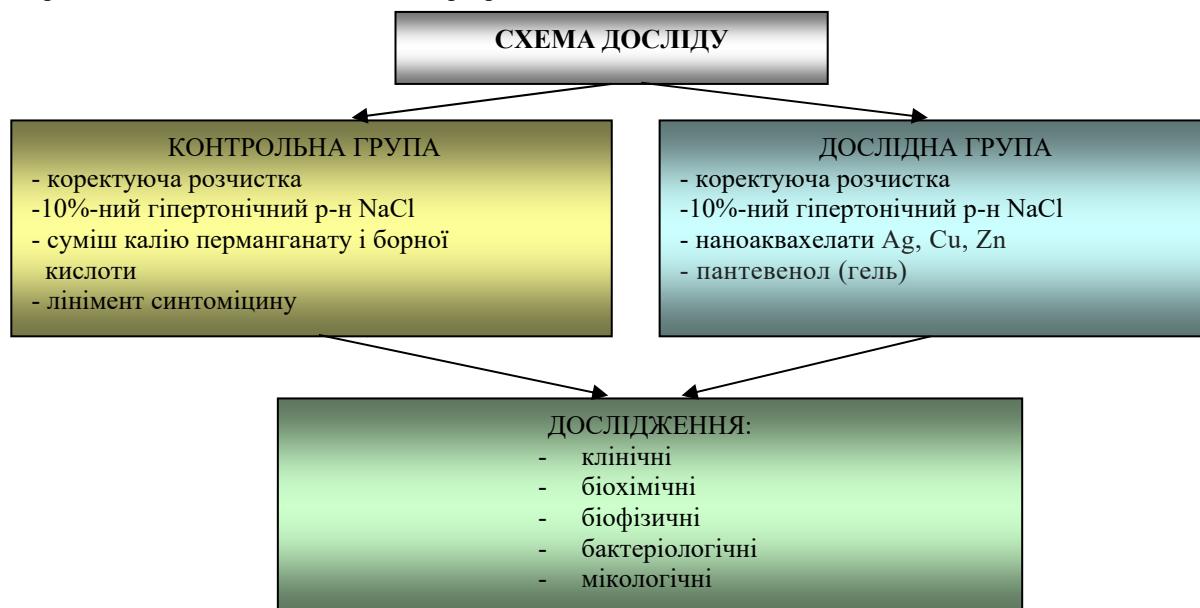
Для лікування ортопедично хворих тварин фармацевтична промисловість пропонує широкий спектр лікарських речовин, а вітчизняними вченими розроб-

лені різні методи лікування, однак вони, здебільшого, проявляють однонаправлену дію, погано проникають у глибину тканин і не завжди дають бажані результати, тоді як багато ефективнішим, на нашу думку, може бути комплексне лікування корів із застосуванням препаратів різнонаправленої дії.

Тому метою нашої роботи було розроблення ефективного методу лікування корів, хворих на гнійний пододерматит, ускладнений кератоміцетами з використанням лікарських речовин, які глибоко проникають у ділянку локалізації гнійного запального процесу, діють антисептично, протизапально, антимікотично та регенеруюче.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили у господарствах Львівської області на коровах чорно-рябої породи у стійловий період за прив'язного утримання тварин. Було сформовано 2 групи корів (контрольна і дослідна) по 5 тварин у кожній, підібраних за принципом аналогів щодо віку, маси тіла, продуктивності; контрольна група – хворі на гнійний пододерматит, дослідна – хворі на гнійний пододерматит, ускладнений кератоміцетами (схема досліді).



З лікувальною метою коровам обох груп після знеболювання проводили коректуючу розчистку; тваринам контрольної групи формували лейкоподібний отвір (діаметр 2,1 см<sup>2</sup>) у місці локалізації гнійного ексудату, а дослідної – знімали весь зруйнований ріг. Поверхню дефект зрошували 10 %-ним гіпертонічним розчином натрію хлориду.

На ділянку ураження коровам контрольної групи протягом перших 3-х днів наносили тонкотерту (окремо) суміш калію перманганату і борної кислоти, а починаючи з 4-ої доби і до одужання – лінімент синтоміцину, а дослідної – протягом 7 днів розчин наноаквахелатів Ag, Cu, Zn, просочивши ним ватно-бинтовий тампон та до одужання – пантєвенол (гель). На уражені копитця тварин обох груп накладали бинтову пов'язку та захисний чохол. Таку пов'язку знімали через добу. Третя і наступні обробки проводилися з інтервалом 5 днів. Розчин наноаквахелатів Ag, Cu, Zn володіє вираженою протизапальною, протинабряковою, бактерицидною, протигрибковою активністю, вираженим кератопластичним ефектом поряд з пенетруючими властивостями, що зумовлює його універсальність і ефективність при багатьох захворюваннях зовнішніх покривів.

Пантєвенол чинить венотонічний, капіляротонічний, антиоксидантний, антиексудативний, гемостатичний ефекти. Препарат ефективно стимулює процеси регенерації тканин.

Клінічні дослідження полягали у визначенні загального стану тварин і характеру місцевого запального процесу проводили шляхом огляду та пальпації (пробні щипці).

Бактеріологічні дослідження проводили шляхом мікроскопії препаратів, які фарбували за Грамом. Ідентифікацію і класифікацію проводили відповідно до "Определителя бактерий Берджи". Проводили мікроскопію зруйнованого рогу та висівання на живильні середовища з метою встановлення видового складу мікроскопічних грибів. Крім того проводили біохімічні та біофізичні дослідження копитцевого рогу. Так, вміст вологи визначали стабільним висушуванням зразка до постійної ваги, кількість золи – шляхом озолення зразка у муфельній печі, вміст жиру – на апараті Соксклета, шляхом екстрагування жиру з досліджуваного матеріалу за допомогою органічних розчинників та білка – на апараті Кьельдаля (Lebedev & Usovich, 1976). Кератози визначали за методом Корфілда у модифікації І. А. Макара (Makar, 1977). Визначення SH-груп та Сульфуру проводили хімічними методами, вмісту Кальцію, Купруму та Цинку – методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії (Lvov, 1966), а Фосфору – фотоколориметричним методом за А. Т. Усовичем (Lebedev & Usovich, 1976). Крім того, щільність копитцевого рогу визначали шляхом гідростатичного зважування, а твердість – за методом Бернеля (Iveronova, 1967).

Отримані числові дані обробляли за допомогою стандартного пакету статистичних програм Microsoft EXCEL.

## Результати та їх обговорення

Як показали результати досліджень загальний стан тварин, хворих на гнійний пододерматит був пригнічений, температура, пульс та дихання знаходилися у межах норми. Спостерігалась сильна кульгавість опираючої кінцівки, мала місце сильна больова реакція у ділянці підшви, яку виявляли за допомогою пробних щипців.

Підвищена місцева температура була виявлена у ділянці вінчика м'якуша, міжпальцевого склепіння та підшви та стінки копитець. Яскраво проявлялася пульсація пальцевих артерій. Здебільшого у зачіпній частині копитець після проведеної місцевої анестезії та коректуючої розчистки виявляли прокол підшви, нанесений гострим предметом.

У тварин дослідної групи у ділянці підшви, здебільшого тазових кінцівок виявляли заглиблення та порожнини, заповнені зруйнованим рогом, який мав вигляд сироподібної крихкої маси, а також дефекти з різнорівневими краями і дном та сліпокінцевими ходами (рис. 1–4).

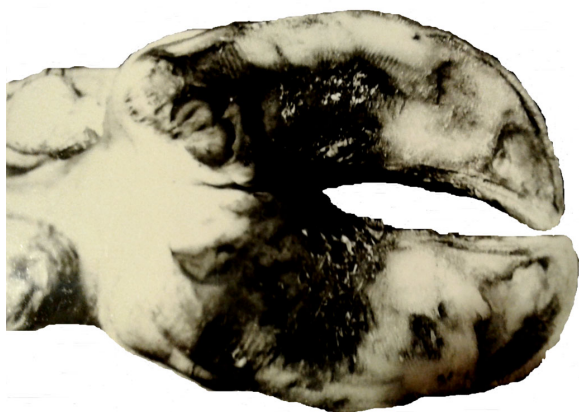
Мікрофлора вмісту, отриманого з підшви копитець тварин обох груп була представлена *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Diplococcus septicus*, а у корів дослідної – ще й мікроскопічними грибами видів *A. flavus*, *C. hordei*, *T. viridae*, *T. honingii*, що свідчить про характер руйнувань епідермісу копитець, оскільки, як відомо (Kulynych, 2012), представники цих видів мікроскопічних грибів володіють яскраво вираженими кератолітичними властивостями.

До початку лікування були проведені дослідження окремих біохімічних та біофізичних показників копитцевого рогу. Так, вміст вологи в епідермісі копитець тварин обох груп знаходився у межах  $33,1 \pm 0,68 - 39,3 \pm 1,72$  %, тобто у корів дослідної групи цей показник був вірогідно вищий на 6,2 % за нижчої концентрації ( $P < 0,05$ ) золи і білка (табл. 1).

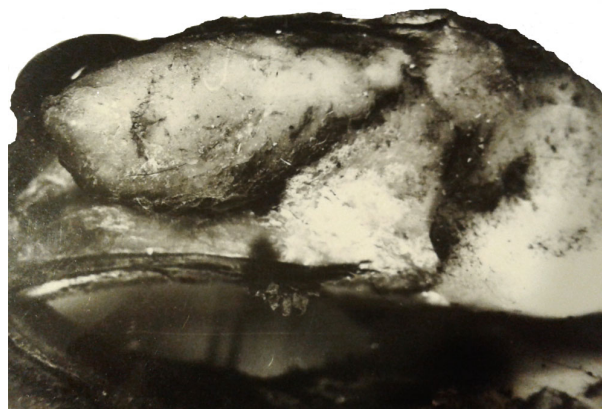
Натомість кількість SH-груп у копитцевому розі корів дослідної групи була на 30,5 % вищою, що на тлі підвищення вмісту вологи та зменшення концентрації золи та білка свідчить про погіршення якості епідермісу копитець.

Спостерігалися зміни і щодо кератоз (рис. 5). Так, концентрація  $\alpha$ -кератоз була на 1,7 вищою, а  $\gamma$ -кератоз – на 2,5 нижчою, що складає відповідно  $67,5 \pm 0,39$  проти  $65,8 \pm 0,21$  та  $17,1 \pm 0,51$  проти  $19,6 \pm 0,38$  %. За цих обставин, співвідношення  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ - кератоз становить  $67,5 : 15,4 : 17,1$  %, тоді як у контрольній групі –  $65,8 : 14,6 : 19,6$  %.





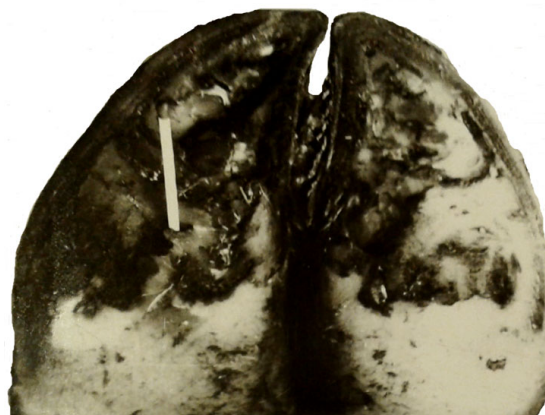
**Рис. 1.** Вогнищеве гниття поверхні копитцевої підшви з утворенням дефектів, які призводять до порушення статичних навантажень на копито



**Рис. 2.** Деформована підшва копита. Статичне навантаження концентрується на 30–40 % поверхні підшви



**Рис. 3.** Гниття підшви копита з утворенням різнорівневих країв і дна дефекту



**Рис. 4.** Вогнищеве гниття зачіпної частини підшви з розшаруванням рогової субстанції і утворенням сліпокінцевих ходів

**Таблиця 1**

Біохімічні показники копитцевого рогу корів за гнійного пододерматиту та ускладненого кератоміцети,  $M \pm m, n = 5$

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Волога, %	33,1 ± 0,68	39,3 ± 1,72*
Зола, %	1,10 ± 0,04	0,92 ± 0,05*
Жир, %	0,05 ± 0,007	0,03 ± 0,007
Білок, %	88,7 ± 0,98	85,1 ± 2,35*
SH-групи, мкмоль/г	34,1 ± 1,42	44,5 ± 1,93**

*Примітка:* у цій та подальших таблицях \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$  – вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи

Кератози – поліпептиди, з'єднані дисульфідними зв'язками. Причиною хімічної відмінності різних кератинів є різне співвідношення фракцій кератоз. Особливе значення мають  $\gamma$ -кератози, тобто лабільний білок з високим вмістом Сульфуру. Встановлено, що  $\gamma$ -кератози включаються у матрикс, тоді як  $\alpha$ -фракція входить у структуру фібрилярного білка.

Відомо, що Сульфур у фракціях кератоз розміщений у нерівних кількостях. Так,  $\gamma$ -кератози містять майже втричі більше Сульфуру, ніж дві інші фракції разом узяті і тому можуть бути інтегральним показником забезпеченості сіркою копитцевого рогу та

нормального протікання у нього процесів кератиногенезу. Вважається, що  $\gamma$ -кератози, які входять до складу цементуючої речовини є сульфатованими мукополісахаридами, які беруть безпосередню участь у кератоутворенні.

Встановлено, що у копитцевому розі тварин дослідної групи концентрація Сульфуру була вірогідно нижчою від контрольного показника на 19,5 % , що складає  $13,75 \pm 0,690$  г/кг (рис. 6). Крім того, на стан копитцевого рогу впливає вміст у ньому таких макроелементів, як Кальцій і Фосфор. Як показали дослідження вірогідні зміни спостерігались і щодо концен-

трації Кальцію в епідермісі копитець. Так у тварин дослідної групи цей показник становить  $1,51 \pm 0,048$  г/кг, що на 14,2 % вірогідно нижче показ-

ника контролю і свідчить про зниження міцності і твердості копитцевого рогу.

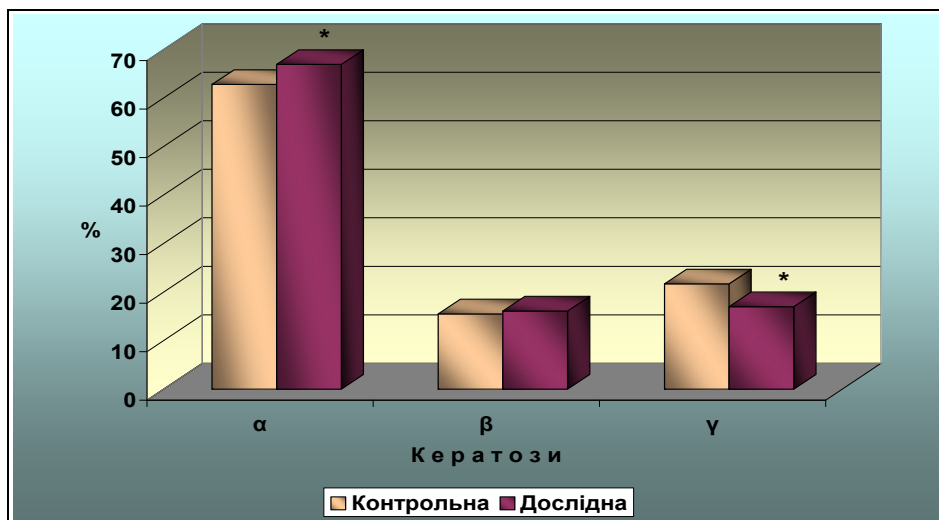


Рис. 5. Вміст кератоз у копитцевому розі корів за гнійного пододерматиту та ускладненого кератоміцетами,  $M \pm m$ ,  $n = 5$

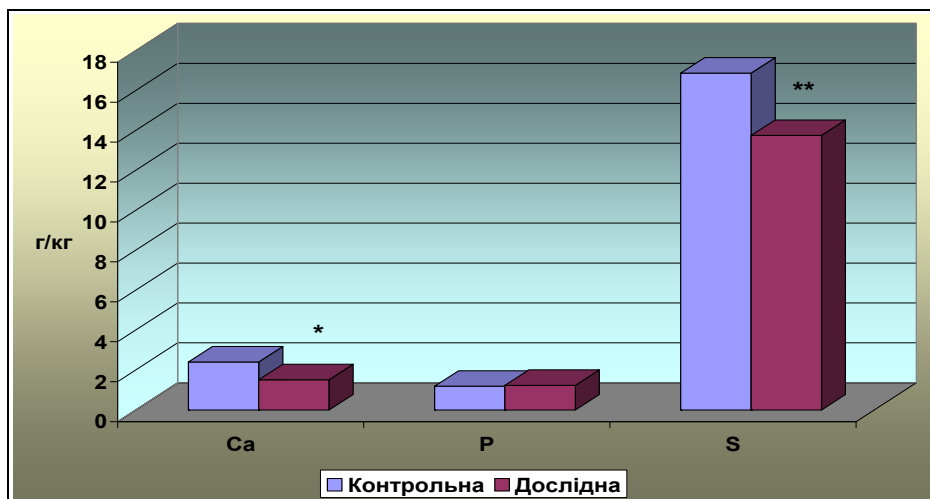


Рис. 6. Вміст макроелементів у копитцевому розі корів за гнійного пододерматиту та ускладненого кератоміцетами,  $M \pm m$ ,  $n = 5$

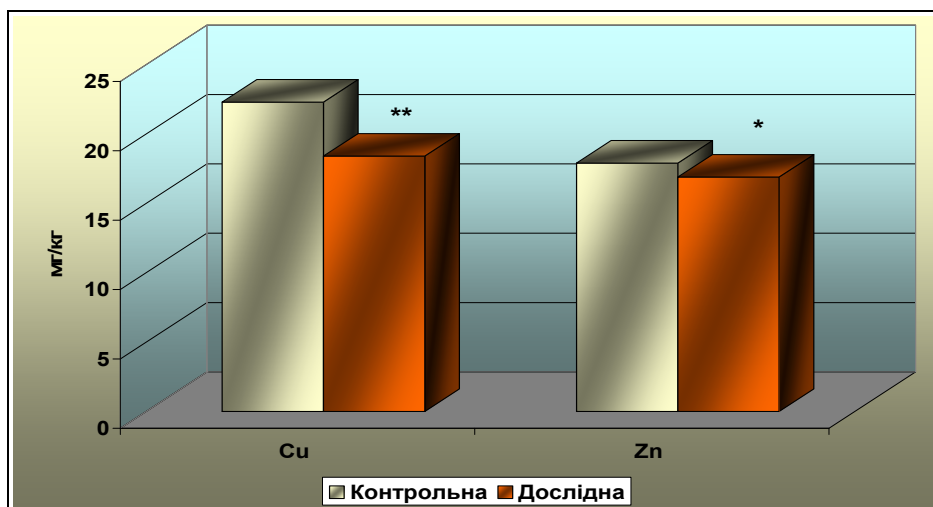


Рис. 7. Вміст Купруму та Цинку у копитцевому розі корів за гнійного пододерматиту та ускладненого кератоміцетами,  $M \pm m$ ,  $n = 5$

Згідно результатів досліджень виявлено зміни у копитцевому розі корів стосовно окремих мікроелементів, зокрема Купруму і Цинку (рис. 7).

Так, вірогідно нижча концентрація Купруму у копитцевому розі на 19,7 %, що становить  $13,75 \pm 0,690$  мг/кг, очевидно, впливає на якість епідермісу копитець завдяки її здатності каталізувати окиснення сульфгідрильних груп прекератину у дисульфідні зв'язки кератину, про що свідчить зменшення SH-груп в епідермісі копитець, а вірогідно нижчий на 8,4 % вміст Цинку (до  $16,88 \pm 0,296$  мг/кг) свідчить про розвиток незавершеного кератиногенезу; рогоутворення порушується внаслідок втрати клітинами здатності утворювати кератогіалін і ріг стає менш щільним.

Це підтверджується біофізичними показниками, зокрема зміною величини щільності та твердості епідермісу копитець (табл. 2).

Як показали результати досліджень щільність копитцевого рогу на 17,6 %, а твердість – на 12 % нижча від аналогічного показника тварин контрольної групи і свідчить про низьку якість епідермісу копитець підтвержену біохімічними дослідженнями, зокрема підвищеним вмістом у розі копитець вологи, сульфгідрильних груп та  $\alpha$ -кератоз на тлі зменшення концентрації золи, білка,  $\gamma$ -кератоз, Кальцію, Сульфуру, Купруму і Цинку.

**Таблиця 2**

Щільність та твердість копитцевого рогу корів за гнійного пододерматиту та ускладненого кератоміцетами,  $M \pm m$ ,  $n = 5$

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Щільність, г/см <sup>3</sup>	$1,086 \pm 0,015$	$0,895 \pm 0,050^{**}$
Твердість, гс/см <sup>2</sup>	$157,8 \pm 2,61$	$138,9 \pm 5,84^*$

Таким чином, у корів дослідної групи встановлено низьку якість копитцевого рогу, що, очевидно, сприяло руйнуванню епідерміса підшви мікроскопічними грибами завдяки їх кератолітичним властивостям.

Третя доба лікування характеризувалася покращенням загального стану тварин дослідної групи та зменшенням ознак місцевого запального процесу. На поверхні тампона, знятого з ділянки ураження ще залишався гнійний ексудат, що свідчить про неповне очищення дефекту від гнійної мікрофлори. У тварин зберігалася слабка кульгавість опираючої кінцівки.

На сьому добу лікування корови вільно опиралися на кінцівку, ознаки запального процесу місцевого характеру були відсутні. На поверхні тампонів відсутній гнійний ексудат, що вказує на завершення стадії очищення.

У подальші дні лікування спостерігалася вірогідне зменшення діаметру луночкоподібного отвору, зокрема на 12 та 20 добу відповідно на 12,5 та 55 % шляхом закриття луночкоподібного отвору молодим трубчастим рогом.

Тривалість лікування тварин контрольної групи складає 34 доби, а застосування розчину наноаквахелатів Ag, Cu, Zn поєднано з пантєвенолом у корів дослідної групи сприяло скороченню періоду лікування гнійного пододерматиту, ускладненого кераміцетами (виповнення дефектів молодим трубчастим рогом) на 6 діб і складає 28 діб, вказує на високу терапевтичну ефективність застосованих препаратів.

## Висновки

1. У корів, хворих на гнійний пододерматит, ускладнений кератоміцетами встановлено низьку якість копитцевого рогу, що підтверджується підвищеним вмістом вологи на 6,2, SH-груп – на 30,5, та  $\alpha$ -кератоз 1,7 % за зниженої концентрації золи, білка, а також  $\gamma$ -кератоз на – 2,5 %, Сульфуру на – 19,5 %, Кальцію – на 14,2, Купруму на – 19,7 та Цинку – на 8,4 %, що позначилося і на біофізичних властивостях рогу підшви, зокрема його щільності та твердості, величина яких була нижчою відповідно на 17,6 та 12 %.

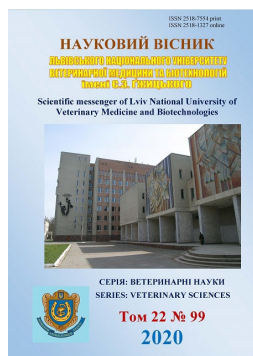
2. Лікування хворих корів полягає у застосуванні, після зняття зруйнованого рогу, зрошування поверхні дефекту 10 %-ним гіпертонічним розчином натрію хлориду, протягом 7 діб розчину наноаквахелатів Ag, Cu, Zn, просочивши ним ватно-бинтовий тампон та до одужання – пантєвенолу (гель); на уражені копитця тварин накладати бинтову пов'язку та захисний чохол.

*Перспективи подальших досліджень.* Дослідження будуть направлені на розробку нових заходів профілактики гнійного пододерматиту у корів, ускладненого кераміцетами.

## References

- Borysevych, V. B., Kogut, N. V., & Khomyn, N. M. (2004). Poverhnevuj ta glybokyj gnijnyj pododermatyt u koriv. Visnyk Bilocerkiv. derzh. agrar. un-tu. Bila Cerkva, 28, 8–14 (in Ukrainian).
- Borysevych, V. B., Borysevych, B. V., Petrenko, O. F., & Khomyn, N. M. (2007). Veterynarna ortopediya: Hovoroby kopyt i kopytecz. Kyiv: TOV "Ukrzolo-topostach" (in Ukrainian).
- Iveronova, V. I. (1967). Mehanika i molekulyarnaya fizika: Fizicheskij praktikum. M.: Vysshaya shkola (in Russian).
- Khomyn, N., Mysak, A., Iglitskej, I., & Pritsak, V. (2017). Prevalance and causes of diseases occurrence of cows hooves. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 19(77), 22–26. doi: 10.15421/nvlvet7706.
- Khomyn, N., Mysak, A., Tsisisinska, S., Pritsak, V., Lenyo, Y., & Khomyn, M. (2019). The influence of conditions of detention the hoof and the development of aseptic inflammation of the producing layer of the base of the skin soles hooves in the cows. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and

- Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 21(94), 179–183. doi: 10.32718/nvlvet9433.
- Kozij, V. I., Ivchenko, V. M., & Stadnyk, P. O. (2000). Deyaki pytannya etiologiyi zahvoryuvan u dilyanci palcy u vysokoproduktyvnyh koriv. Visnyk BCz-DAU. Bila Cerkva, 13(I), 49–53 (in Ukrainian).
- Kulynych, S. M. (2012). Urazhennya kopytecz u koriv sprychyneni keratomicetamy. Avtoref. dys. d-ra vet. nauk. Kyiv, 37 (in Ukrainian).
- Lavryshyn, Y. Y., Gutyj, B. V., Paziuk, I. S., Levkivska, N. D., Romanovych, M. S., Drach, M. P., & Lisnyak, O. I. (2019). The effect of cadmium loading on the activity of the enzyme link of the glutathione system of bull organism. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 21(95), 107–111. doi: 10.32718/nvlvet9520.
- Lebedev, P. T., & Usovich, A. T. (1976). Metody issledovaniya kormov, organov i tkanej zhivotnyh. M.: Rosselhozizdat (in Russian).
- Lvov, B. M. (1966). Atomno-absorbcionnyj spektralnyj analiz. M.: Nauka (in Russian).
- Makar, I. A. (1977). Izuchenie struktury i himicheskogo sostava shersti: Metodicheskie rekomendacii. Lvov (in Ukrainian).
- Mazur, N. P., Fedorovych, V. V., Fedorovych, E. I., Fedorovych, O. V., Bodnar, P. V., Gutyj, B. V., Kuziv, M. I., Kuziv, N. M., Orikhivskiy, T. V., Grabovska, O. S., Denys, H. H., Stakhiv, N. P., Hudyma, V. Yu., & Pakholkiv, N. I. (2020). Effect of morphological and biochemical blood composition on milk yield in Simmental breed cows of different production types. Ukrainian Journal of Ecology, 10(2), 61–67. doi: 10.15421/2020\_110.
- Panko, I. S., Tyhonyuk, L. A., & Nagornyj, V. V. (1998). Osoblyvosti diagnostyky ta likuvannya pry gnijno-nekrotychnykh procesah dilyanky palcy u vysokoproduktyvnyh koriv. Visnyk BCzDAU, 5(2), 190–192 (in Ukrainian).
- Roman, L., Broshkov, M., Popova, I., Hierdieva, A., Sidashova, S., Bogach, N., Ulizko, S., Gutyj, B. (2020). Influence of ovarian follicular cysts on reproductive performance in the cattle of new Ukrainian red dairy breed. Ukrainian Journal of Ecology, 10(2), 426–434. doi: 10.15421/2020\_119.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9916  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 631.8:638.19

## Application of biochemical typing in veterinary medicine in bee enterobacterioses to determine *Klebsiella Pneumoniae*

O. Ye. Galatiuk, T. A. Romanishina, A. R. Lakhman, V. L. Behas, A. M. Andriichuk, L. O. Solodka

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

### Article info

Received 09.09.2020

Received in revised form

09.10.2020

Accepted 12.10.2020

Polissia National University,  
Stary Boulevard, 7, Zhytomyr,  
10008, Ukraine.  
Tel.: +38-097-356-27-07  
E-mail: [tveterinar@gmail.com](mailto:tveterinar@gmail.com)

**Galatiuk, O. Ye., Romanishina, T. A., Lakhman, A. R., Behas, V. L., Andriichuk, A. M., & Solodka, L. O. (2020). Application of biochemical typing in veterinary medicine in bee enterobacterioses to determine *Klebsiella Pneumoniae*. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 101–106. doi: 10.32718/nvlvet9916**

The article presents laboratory diagnostics (in vitro), namely, identification of pure culture of pathogenic bacteria of *Klebsiella Pneumoniae* species in case of enterobacteriosis in bees in winter-spring and summer-autumn times. The purpose of the study was the biochemical typification of bacteria of the species *Klebsiella Pneumoniae* with humane medicine methods, that isolated in the case of dysbacteriosis of bees which have a characteristic symptomatic complex of a decrease in the strength of bee families, which leads to a decrease in the resistance of the bee family, their diarrhea, crawling, and then swarming or death of bees. Contamination of beehive frames and walls of beehive by fecation leads to sharp deterioration of the apiary's veterinary and sanitary condition and significant economic damage for beekeepers. Pure culture of pathogenic bacteria served as an object for experiment. The Family of the bacteria was established earlier – Enterobacteriaceae, and was confirmed by “Zhytomyr Regional State Laboratory of the State Service of Ukraine for Food Safety and Consumer Protection”. Laboratory diagnostics of dysbiosis in bees caused by enterobacteria was performed in such a sequence: 1. Sowing of pathological material taken from sick bees on selective nutrient media for enterobacteria and extraction of pure culture; 2. Microscopy of typical colonies; 3. Determination of bacteria genus; 4. Determination of bacteria motor activity; 5. Urease test; 6. Indole test; 7. Phenylalanine test; 8. Study of basic enzymatic properties of bacteria. In a series of laboratory biochemical studies of pure culture microorganisms isolated from mixed culture from diseased bees the isolated bacterial strain belongs to the Family Enterobacteriaceae, Genus *Klebsiella*, Species *Klebsiella pneumoniae*. The novelty of the application of the algorithm for determining the species of *Klebsiella pneumoniae* enterobacteriae allows to diagnose dysbacterioses in winter-spring and summer-autumn times clearly and economically. The isolated *Klebsiella pneumoniae* bacteria serve as experimental cultures for testing drugs of various directions and actions in laboratory conditions and are kept at the Department of Microbiology, Pharmacology and Epizootology, Faculty of Veterinary Medicine of Polissya National University (formerly Zhytomyr National Agroecological University). Further application of complex diagnostics of enterobacteriosis of bees, including methods of biochemical typification, will allow to expand etiological factors of bee family collapse.

**Key words:** *Klebsiella pneumoniae*, bee colonies, laboratory diagnostics, biochemical typing.

## Застосування біохімічного типування у ветеринарній медицині при ентеробактеріозах бджіл для визначення *Klebsiella Pneumoniae*

О. Є. Галатюк, Т. О. Романишина, А. Р. Лахман, В. Л. Бегас, А. М. Андрійчук, Л. О. Солодка

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

В статті висвітлена лабораторна діагностика (*in vitro*), а саме ідентифікація чистої культури патогенних бактерій бджіл виду *Klebsiella Pneumoniae*, при виникненні ентеробактеріозів бджіл у зимово-весняний та літньо-осінній періоди. Ціль дослідження полягала у біохімічній типізації методами гуманної медицини бактерій виду *Klebsiella Pneumoniae*, виділених при дисбактеріозах бджіл, які мають характерний симптомокомплекс зниження сили бджолиних сімей, що своєю чергою призводить до зниження резистентності бджолиної сім'ї їх оплодюванню, повзанню, а згодом, роїнням чи смерті. Забруднення рамок та стінок вуликів випорожненнями призводить до різкого погіршення ветеринарно-санітарного стану пасіки та значних економічних збитків для пасічників. Чиста культура патогенних бактерій слугувала об'єктом для експерименту. Попередньо встановлено родинну належність бактерій – *Enterobacteriaceae*, що було підтверджено “Житомирською регіональною державною лабораторією Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів”. Лабораторна діагностика дисбактеріозів бджіл, викликаних ентеробактеріями, проведена у такій послідовності: 1. Висів патологічного матеріалу, відібраного від хворих бджіл, на елективні поживні середовища для ентеробактерій та виділення чистої культури; 2. Мікроскопія типових колоній; 3. Визначення родової належності; 4. Визначення рухової активності бактерій; 5. Тест на уреазу; 6. Тест на індол; 7. Фенілаланіновий тест; 8. Дослідження основних ферментативних властивостей бактерій. За серією лабораторних біохімічних досліджень чистої культури мікроорганізмів, виділеної із змішаної культури від хворих на ентеробактеріоз бджіл, ізольований штамп належить до родини *Enterobacteriaceae*, роду *Klebsiella* та виду *Klebsiella pneumoniae*. Новизна застосування алгоритму визначення видової належності ентеробактерій бджіл виду *Klebsiella pneumoniae* дозволяє чітко та економічно доцільно діагностувати дисбактеріоз у зимово-весняний та літньо-осінній періоди. Виділені бактерії виду *Klebsiella pneumoniae* слугують експериментальними культурами для проведення випробування препаратів різних напрямів та дій в лабораторних умовах та зберігаються на кафедрі мікробіології, фармакології та епізоотології Поліського національного університету (раніше Житомирський національний агро-екологічний університет). Подальше застосування комплексної діагностики ентеробактеріозів бджіл, включаючи методи біохімічної типізації, дозволить розширити етіологічні фактори виникнення колапсу бджолиних сімей.

**Ключові слова:** *Klebsiella Pneumoniae*, бджолині сім'ї, лабораторна діагностика, біохімічне типування.

## Вступ

В останні роки у світі та в Україні зокрема періодично реєструється масова загибель бджіл (Cornman et al., 2012; Glennly et al., 2017; Galatiuk et al., 2019). Домінуючою єдиною, визнаною науковцями, причиною зниження резистентності та сили медоносних бджолиних сімей не існує (Tentcheva et al., 2004; Cox-Foster et al., 2007; Evans et al., 2011; Traynor et al., 2016; Seitz et al., 2016). Вдосконалення стратегії управління та розведення, спрямованої на поліпшення здоров'я бджіл, дозволить зрозуміти біологічні причини втрати у запиленні природних та керованих екосистем (Genersch et al., 2010; Runckel et al., 2011). З 2006 року щорічні втрати медоносних бджолиних колоній у США в середньому складають ~ 33 % та мають тенденцію до експресивного динамічного зростання, що становить інтерес для пасічників, виробників різної продукції та вчених (Lee et al., 2015; Traynor et al., 2016).

Аналізуючи кількісно-якісний склад мікробіоти кишечника бджоли та вулика у різні пори року, можна твердити про різноманіття умовно-патогенної мікрофлори (бактерії родів *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Providencia*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Pantoea*, *Morganella*, *Serratia*, яка при сприятливих для неї умовах може мати і негативний вплив на бджолиний організм та на санітарний стан пасічного господарства (Chechotkina et al., 2011; Serdyuchenko, 2017).

Останнім часом зросла кількість випадків ураження верхніх дихальних шляхів та кишечника за захворювання великої рогатої худоби та свиней ентеробактеріозами (Rivera et al., 2018; Chang et al., 2019).

У нашому дослідженні розглянуті сучасні актуальні питання щодо виділення та ідентифікації патогенних ентеробактерій (*Klebsiella Pneumoniae*) у медоносних бджіл при виникненні масових ентеробактеріозів у зимово-весняний та літній період, а також злітання бджолиних колоній в осінню пору року (Evans et al., 2011; Galatiuk et al., 2019).

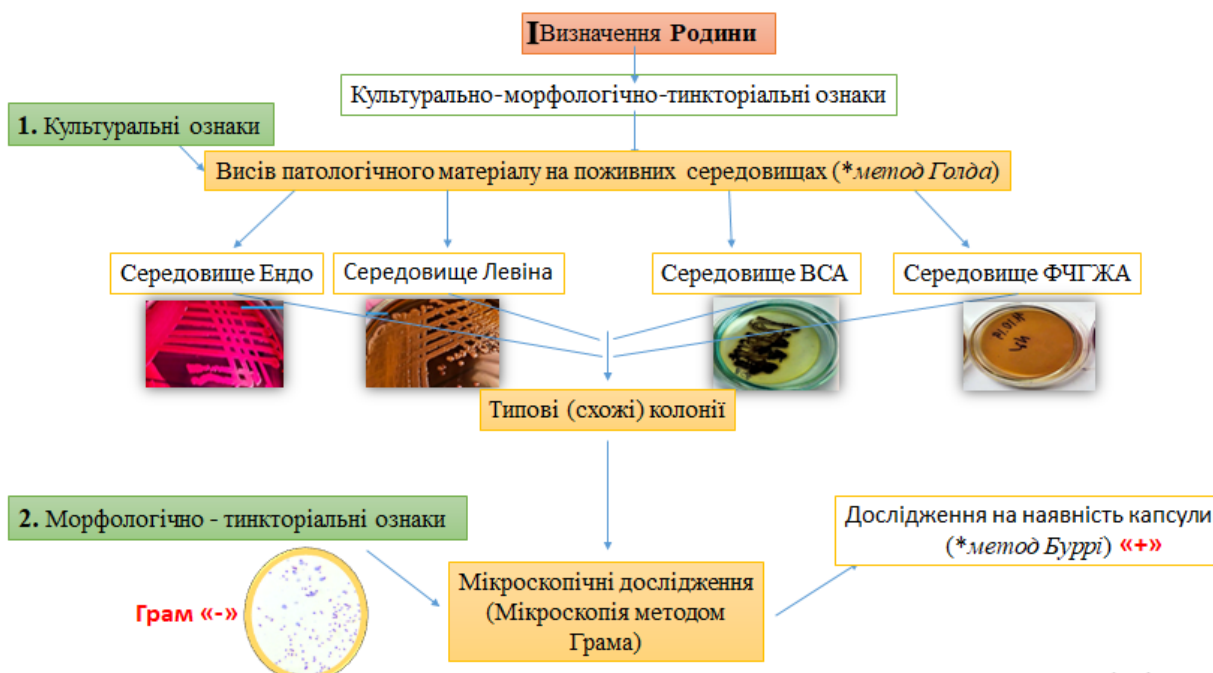
В доступних нам літературних джерелах ми не знайшли повідомлень щодо індикації та ідентифікації збудників, які зумовлюють захворювання бджіл ентеробактеріозами.

Одним зі складних завдань в мікробіологічній практиці є безпомилкове виявлення окремих видів мікроорганізмів, зважаючи на виражену біологічну своєрідність представників різних груп бактерій. Тому діагностика та тестування цілого спектра біологічних і фізіологічних характеристик інфекційних агентів є основним критерієм при постановці діагнозу.

**Мета роботи** – провести лабораторну ідентифікацію бактерій виду *Klebsiella Pneumoniae*, виділених при ентеробактеріозах бджіл методами біохімічного типування, які застосовуються у гуманній медицині.

## Матеріал і методи досліджень

Об'єктом для дослідження була чиста культура бактерій виду *Klebsiella Pneumoniae*, виділена методом Голда на середовищі Ендо (дослідні штами мікроорганізмів були виділені зі змішаної культури від бджіл, уражених ентеробактеріями з типовими клінічними ознаками) (рис. 1). Належність бактерій до родини *Enterobacteriaceae* була підтверджена “Житомирською регіональною державною лабораторією Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів” (культивування на елективних середовищах, виділення типових колоній та їх мікроскопія методом Грама, визначення наявності капсули методом Буррі, тест на оксидазну активність) (рис. 2). Визначення рухової активності проводили шляхом висіву уколом у м'ясопептонну желатину (МПЖ) – *Klebsiella Pneumoniae* – не здатна до руху – росте тільки по ходу укола у стовпчик МПЖ (рис. 2). Встановлення родової та видової приналежності культур визначали біохімічним типуванням з лікарями-бактеріологами Державної установи “Житомирський обласний лабораторний центр міністерства охорони здоров'я України”.



**Рис. 1.** Етап 1 – Визначення родинної належності бджолиних ентеробактерій виду *Klebsiella Pneumoniae*  
Примітка: ВСА – вісмут-сульфідний агар; ФЧГЖА – фіолетово-червоний глюкозо-жовчний агар

### Результати та їх обговорення

Першочерговим чинником інфекційного процесу травної системи в організмі бджоли виступає один або декілька етіологічних факторів одночасно, після чого стає можливим розвиток вторинної бактеріальної інфекції – дисбіозів бджіл (Ravoet et al., 2013; Lee et al., 2015). Дуже важливо серед усіх причин порушення роботи травної системи бджіл виділити домінуючу, яка є рушійною силою початку інфекційного процесу в організмі комахи. Це значно полегшить своєчасну та ефективну організацію лікування, зробить можливим профілактику та сприятиме оздоровленню пасік. Завдяки вдалій діагностиці та безпосередньому виділенню збудника можна суттєво зменшити витрати на терапію, а також забезпечити благополуччю зимівлю бджіл, запобігаючи можливим хворобам при зниженні резистентності, що спричиняє порушення кількісного та якісного складу мікрофлори середньої кишки бджіл (Chechotkina et al., 2011). Тому для практикуючого пасічника принциповим є питання проведення лікувально-профілактичних заходів на пасіці до початку зимівлі, виконання яких є можливим при правильній постановці діагнозу – визначення видової належності збудника захворювання.

Як відомо, належність мікроорганізмів до певної таксономічної одиниці визначають аналізом сукупності генетичних, морфологічних, фізіологічних та культуральних ознак типових для кожного збудника хвороби. Для визначення виду ентеробактерій у ветеринарній медицині для ссавців та птахів найчастіше використовують серологічні та молекулярно-генетичні методи діагностики (Chang et al., 2019). Натомість у галузі бджільництва ідентифікацію *Klebsiella Pneumoniae*, виділену від хворих бджіл

шляхом біохімічного типування, вважаємо найдоцільнішою.

Визначення видової та родинної належності досліджуваної чистої культури – одного з етіологічних чинників ентеробактеріозів бджіл проводили за схемою (рис. 2).

Зміна кольору індикатора середовища з жовтого на малиновий свідчить про зміну рН внаслідок здатності бактерій виділяти фермент уреазу, який гідролізує сечовину з утворенням лужних продуктів реакції – аміаку (рис. 2–5) (Łopieńska-Biernat et al., 2017).

Досліджувана *Klebsiella Pneumoniae* здатна розщеплювати продукти неповного гідролізу білка – проявляє пептолітичні властивості, колір парадиметиламідобензальдегіда (індикатора) змінився з безбарвного на рожево-бузковий внаслідок виділення індолу (рис. 2–6) (Rivera et al., 2018).

При дослідженні даної культури щодо дезамінування фенілаланіну фенілпірроиноградна кислота не утворювалась, тому вона не могла взаємодіяти з хлорним залізом, утворюючи сполуку зеленого кольору – *Klebsiella Pneumoniae*, не здатна дезамінувати фенілаланін (рис. 2–7) (Marievskiy, 2011).

При висіві на скошений агар середовища Клігера колір середовища не змінювався і чорне кільце не утворювалось, чим можемо інтерпретувати інертність бактерій до лактози та глюкози (рис. 2–8) (Rivera et al., 2018).

Мікроорганізми здатні використовувати цитрат гідрофосфату аммонію як єдине джерело вуглецю із середовища Сімонса з продукцією лугів, що підвищує рН і змінює колір з зеленого на синій (рис. 2–9). Властивість мікроорганізмів утилізувати вуглець малонату та ацетату натрію зумовлює аналогічну зміну кольору середовищ на синій. (рис. 2–10, 11) (Pulcherovskaya et al., 2017).

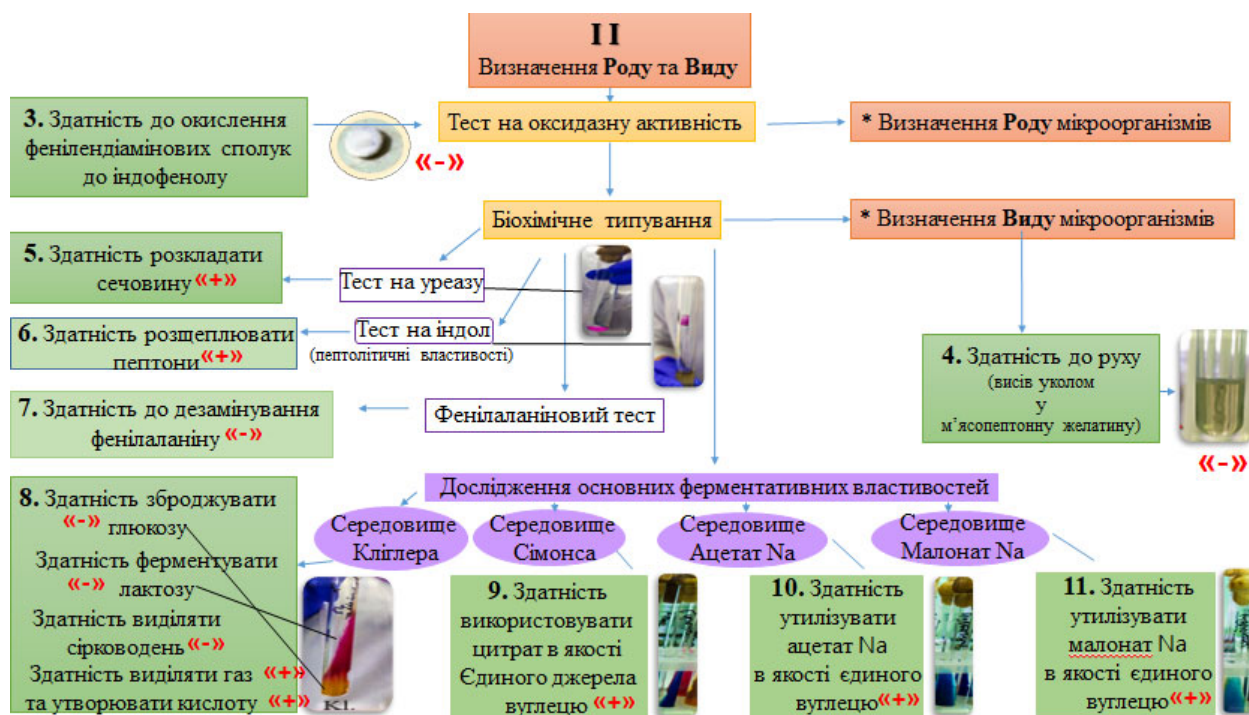


Рис. 2. Етап 2 – Визначення родової та видової належності бджолиних ентеробактерій виду *Klebsiella Pneumoniae*

Як свідчать результати біохімічних досліджень чистої культури мікроорганізмів, виділеної нами зі змішаної культури від хворих на ентеробактеріоз бджіл (рис. 1, 2), досліджуваний ізолюваний штамп належить до родини *Enterobacteriaceae*, роду *Klebsiella* та виду *Klebsiella pneumoniae*.

Групування представників родини *Enterobacteriaceae* проводять за сукупністю ряду подібних властивостей та морфологічно-культуральних, ферментативних властивостей (Rivera et al., 2018).

Внутрішньовидові відмінності ентеробактерій базуються на генетичному рівні, що можна виявити у молекулярно-біологічних дослідженнях, інтерпретуючи секвенування нуклеотидної послідовності, які, формуючи триплети, спричинюють значущість вірулентності ізоляту (Miró et al., 2013; Seeley et al., 2015).

Основною складовою при постановці діагнозу є лабораторне дослідження патологічного матеріалу економічно доступними та достовірними методами в лабораторних центрах. Тому для нашої роботи використовували загальноприйняті біохімічні тести гуманної медицини (Marievskiy, 2011).

Поширення хвороб шлунково-кишкового тракту трапляються у людей і тварин, причому вагому частину становлять інфекції бактеріального походження, зумовлені активізацією умовно-патогенної мікрофлори кишечника (Chang et al., 2019). Зустрічається багато повідомлень щодо виникнення у людей кишкових проносів, зумовлених бактеріями роду *Klebsiella* (Miró et al., 2013).

*Klebsiella pneumoniae* – факультативний пантропний патоген організму людей та тварин (у т. ч. і бджіл) (Ripabelli et al., 2018). Згідно з даними, наданими китайської системою спостереження за антимік-

робною резистентністю (CARSS), *Klebsiella pneumoniae* займає друге місце за поширеністю (20,2 %) серед ізолюваних грамнегативних патогенів. Більшість авторів вказує, що *Klebsiella pneumoniae* також викликає різні захворювання тварин, включаючи пневмонію, бактеріємію і септицемію (He et al., 2017; Bidewell et al., 2018; Chong et al., 2018). *Klebsiella pneumoniae* набула високої стійкості до багатьох антибіотиків у зв'язку з широким використанням антимікробних препаратів для стимуляції росту та лікування хвороб у тварин, а саме: поява штамів панхромії, гіпервірулентних ізолятів та штамів з множинною лікувальною стійкістю викликає великі труднощі у профілактиці та лікуванні інфекцій, зумовлених бактеріями виду *Klebsiella pneumoniae* (Oliva et al., 2015; Prokesch et al., 2016; Catalán-Nájera et al., 2017; Sonnevend et al., 2017; Xu et al., 2018).

Тому виділення високовірулентних та ідентифікація окремих штамів *Klebsiella pneumoniae* від хворих бджіл звужить пошук ефективних препаратів для боротьби з полірезистентними збудниками кишкових дисбіозів бджіл.

## Висновки

1. Серією послідовних лабораторних досліджень фізіологічних властивостей бактерій чистої культури мікроорганізмів, виділених зі змішаної культури від хворих на ентеробактеріоз бджіл, доведено що ізолюваний штамп належить до виду *Klebsiella pneumoniae*.

2. Запропонований алгоритм визначення видової належності ентеробактерій у галузі бджільництва



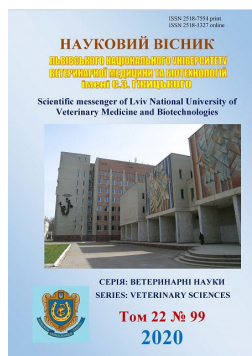
дозволяє виявляти збудників бактерій, які належать до родини *Enterobacteriaceae*.

3. Ідентифікована нами *Klebsiella Pneumoniae* може бути використана як спеціально-випробувальна культура для вивчення напрямку дії засобів лікування та профілактики кишкових інфекцій у бджіл (*in vitro*), зумовлених бактеріями виду *Klebsiella Pneumoniae*.

### References

- Bidewell, C. A., Williamson, S. M., Rogers, J., Tang, Y., Ellis, R. J., Petrovska, L., & Abuoun, M. (2018). Emergence of *Klebsiella pneumoniae* subspecies *pneumoniae* as a cause of septicemia in pigs in England. *PLoS one*, 13(2). doi: 10.1371/journal.pone.0191958.
- Catalán-Nájera, J. C., Garza-Ramos, U., & Barrios-Camacho, H. (2017). Hypervirulence and hypermucoviscosity: two different but complementary *Klebsiella spp.* phenotypes? *Virulence*, 8(7), 1111–1123. doi: 10.1080/21505594.2017.1317412.
- Chang, M. H., Chen, G. J., & Lo, D. Y. (2019). Chromosomal locations of *mcr-1* in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* from dogs. *Taiwan Veterinary Journal*, 45(03), 79–84. doi: 10.1142/S168264851972003X.
- Chechotkina, U. E., Evteeva, N. I., Rechkin, A. I., & Radaev, A. A. (2011). *Enterobacterium* as part of the microflora of the digestive system of honey bees in different seasons. *N.I. Lobachevsky Bulletin of Nizhny Novgorod University*, 2–2, 149–153 (in Russian).
- Chong, Y., Shimoda, S., & Shimono, N. (2018). Current epidemiology, genetic evolution and clinical impact of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Infection, Genetics and Evolution*, 61, 185–188. doi: 10.1016/j.meegid.2018.04.005.
- Cornman, R. S., Tarpy, D. R., Chen, Y., Jeffreys, L., Lopez, D., Pettis, J. S., & Evans, J. D. (2012). Pathogen webs in collapsing honey bee colonies. *PLoS one*, 7(8). doi: 10.1371/journal.pone.0043562.
- Cox-Foster, D. L., Conlan, S., Holmes, E. C., Palacios, G., Evans, J. D., Moran, N. A., Quan, P. L., Briese, T., Hornig, M., Geiser, D. M., Martinson, V., van Engelsdorp, D., Kalkstein, A. L., Drysdale, A., Hui, J., Zhai, J., Cui, L., Hutchison, S. K., Simons, J. F., Egholm, M., Pettis, J. S., & Lipkin, W. I. (2007). A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318, 283–287. doi: 10.1126/science.1146498.
- Evans, J. D., & Schwarz, R. S. (2011). Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. *Trends in microbiology*, 19(12), 614–620. doi: 10.1016/j.tim.2011.09.003.
- Galatyuk, O., Romanishina, T., Lakhman, A., Lysenko, O., & Shimanska, V. (2020). Stiykist' patohennykh enterobakteriy bzhil do eksperymental'noho yodovmisnoho dezinfektantu "Yodis Dez № 2", *Naukovi horyzonty*, 1(86), 71–78. doi: 10.33249/2663-2144-2020-86-1-71-78 (in Ukrainian).
- Genersch, E., von der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., Bu"chler, R., Berg, S., Ritter, W., Mühlen, W., Gisder, S., Meixner, M., Liebig, G., & Rosenkranz, P. (2010). The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 41(3), 332–352. doi: 10.1051/apido/2010014.
- Glenny, W., Cavigli, I., Daughenbaugh, K. F., Radford, R., Kegley, S. E., & Flenniken, M. L. (2017). Honey bee (*Apis mellifera*) colony health and pathogen composition in migratory beekeeping operations involved in California almond pollination. *PLoS one*, 12(8). doi: 10.1371/journal.pone.0182814.
- He, T., Wang, Y., Sun, L., Pang, M., Zhang, L., & Wang, R. (2016). Occurrence and characterization of bla NDM-5-positive *Klebsiella pneumoniae* isolates from dairy cows in Jiangsu, China. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 90–94. doi: 10.1093/jac/dkw357.
- Lee, K. V., Steinhauer, N., Rennich, K., Wilson, M. E., Tarpy, D. R., Caron, D. M., Rose, R., Delaplane, K. S., Baylis, K., Lengerich, E. J., Pettis, J., Skinner, J. A., Wilkes, J. T., Sagili, R., & van Engelsdorp, D. (2015). A national survey of managed honey bee 2013–2014 annual colony losses in the USA. *Apidologie*, 46, 292–305. doi: 10.1007/s13592-015-0356-z.
- Lopińska-Biernat, E., Sokół, R., Michalczyk, M., Żółtowska, K., & Stryński, R. (2017). Biochemical status of feral honey bees (*Apis mellifera*) infested with various pathogens. *Journal of Apicultural Research*, 56(5), 606–615. doi: 10.1080/00218839.2017.1343020.
- Marievskiy, V. F. (2011). *Medical Microbiology, Virology and Immunology: A Textbook for Students of Higher Medical Education* (4), Vinnytsia, New book (in Ukrainian).
- Miró, E., Grünbaum, F., Gómez, L., Rivera, A., Mirelis, B., Coll, P., & Navarro, F. (2013). Characterization of aminoglycoside-modifying enzymes in *enterobacteriaceae* clinical strains and characterization of the plasmids implicated in their diffusion. *Microb. Drug Resist.*, 19(2), 94–99. doi: 10.1089/mdr.2012.0125.
- Oliva, A., Mascellino, M. T., Cipolla, A., D'Abbramo, A., De Rosa, A., Savinelli, S., Rosa Ciardi, M., Mastroianni, M. C., & Vullo, V. (2015). Therapeutic strategy for pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* severe infections: short-course treatment with colistin increases the in vivo and in vitro activity of double carbapenem regimen. *International Journal of Infectious Diseases*, 33, 132–134. doi: 10.1016/j.ijid.2015.01.011.
- Prokesh, B. C., Tekippe, M., Kim, J., Raj, P., TeKippe, E. M., & Greenberg, D. E. (2016). Primary osteomyelitis caused by hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(9), 190–195. doi: 10.1016/S1473-3099(16)30021-4.
- Pulcherovskaya, L. P., Vasilev, D. A., & Zolotuhin, S. N. (2017). Isolation of the genus *Citrobacter bacteria*. *Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy*, 3(39), 83–87. doi: 10.18286/1816-4501-2017-3-83-87.
- Ravoet, J., Maharramov, J., Meeus, I., De Smet, L., Wenseleers, T., Smagghe, G., & de Graaf, D. C. (2013). Comprehensive Bee Pathogen Screening in Belgium Reveals *Crithidia mellificae* as a New Contributory Factor to Winter Mortality. *Plos One*, 8. doi: 10.1371/journal.pone.0072443.

- Ripabelli, G., Tamburro, M., Guerrizio, G., Fanelli, I., Flocco, R., Scutellà, M., & Sammarco, M. L. (2018). Tracking multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* from an Italian hospital: molecular epidemiology and surveillance by PFGE, RAPD and PCR-based resistance genes prevalence. *Current microbiology*, 75(8), 977–987. doi: 10.1007/s00284-018-1475-3.
- Rivera, A., Cedillo, L., Perez, J., Hernandez, F., Romero, O., & Rodriguez, N. (2018). Isolation of *Enterobacteria* and *Spiroplasmas* from *Apis mellifera*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(3), 900–902.
- Runckel, C., Flenniken, M. L., Engel, J. C., Ruby, J. G., Ganem, D., Andino, R., & DeRisi, J. L. (2011). Temporal analysis of the honey bee microbiome reveals four novel viruses and seasonal prevalence of known viruses, *Nosema*, and *Crithidia*. *PLoS One*, 6. doi: 10.1371/journal.pone.0020656.
- Seeley, T. D., Tarpy, D. R., Griffin, S. R., Carcione, A., Delaney, D. A. (2015). A survivor population of wild colonies of European honey bees in the northeastern United States: Investigating its genetic structure. *Apidologie*, 46, 654–666. doi: 10.1007/s13592-015-0355-0.
- Seitz, N., Traynor, K. S., Steinhauer, N., Rennich, K., Wilson, M. E., Ellis, J. D., Rose, R. L., Tarpy, D. R., Sagili, R. R., Caron, D. M., Delaplane, K. S., Rangel, Ju. K., Lee, K. M., Baylis, K. T., Wilkes, J. T., Skinner, J., Pettis, J. S., & Engelsdorp, D. S. (2016). A national survey of managed honey bee 2014–2015 annual colony losses in the USA. *Journal of Apicultural Research*, 54, 292–304. doi: 10.1080/00218839.2016.1153294.
- Serdyuchenko, I. V. (2017). Quantitative evaluation of the digestive tract microflora of the bees before and after wintering, 2, 286–289 (in Russian).
- Sonnevend, A., Ghazawi, A., Hashmey, R., Haidermota, A., Girgis, S., Alfaresi, M., Omar, M., Paterson, D., Zowawi, H. M., & Pál, T. (2017). Multihospital occurrence of pan-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 147 with an ISEcp1-directed blaOXA-181 insertion in the mgrB gene in the United Arab Emirates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(7). doi: 10.1128/AAC.00418-17.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Zappulla, N., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M., & Bergoin, M. (2004). Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 7185–7191. doi: 10.1128/AEM.70.12.7185-7191.2004.
- Traynor, K. S., Rennich, K., Forsgren, E., Rose, R., Pettis, J., Kunkel, G., Madella, S., Evans, J., Lopez, D., & Engelsdorp, D. (2016). Multiyear survey targeting disease incidence in US honey bees. *Apidologie*, 47, 325–347. doi: 10.1007/s13592-016-0431-0.
- Xu, M., Li, A., Kong, H., Zhang, W., Chen, H., Fu, Y., & Fu, Y. (2018). Endogenous endophthalmitis caused by a multidrug-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain belonging to a novel single locus variant of ST23: first case report in China. *BMC infectious diseases*, 18(1), 669. doi: 10.1186/s12879-018-3109-6.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9917  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.4.082.35.09:615.38:616.155.194

## Research antianemic action of the iron (IV) clathrochelate complexes on the sickling piglets

V. B. Dukhnitskyi<sup>1</sup>, I. M. Derkach<sup>1</sup>, S. S. Derkach<sup>1</sup>, I. O. Fritsky<sup>2</sup>, M. O. Plutenko<sup>2</sup>, V. M. Lozovyi<sup>1</sup>,  
V. V. Kostrub<sup>1</sup>, Y. V. Losa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### Article info

Received 10.09.2020

Received in revised form

12.10.2020

Accepted 13.10.2020

National University of Life and  
Environmental Sciences of  
Ukraine, Heroyiv Oborony Str., 15,  
Kyiv, 03041, Ukraine.  
Tel.: +38-066-772-41-94  
E-mail: irina1215@ukr.net

Taras Shevchenko National  
University of Kyiv,  
Volodymyrska Str., 64,  
Kyiv, 01601, Ukraine.  
Tel.: +38-097-060-82-98  
E-mail: plutenkom@gmail.com

**Dukhnitskyi, V. B., Derkach, I. M., Derkach, S. S., Fritsky, I. O., Plutenko, M. O., Lozovyi, V. M., Kostrub, V. V., & Losa, Y. V. (2020). Research antianemic action of the iron (IV) clathrochelate complexes on the sickling piglets. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 107–115. doi: 10.32718/nvlvet9917**

A lot of antianemic drugs for animals are presented on the modern pharmaceutical market of veterinary medicine, but they have several drawbacks. So finding new drugs with goal to treat ill animals by anemia and to prevent the iron deficiency anemia is a pressing issue. We previously reported the results of preclinical studies of iron in rare high valence IV. This allowed us to determine, supplement, and generalize the data on clinical studies of the new drugs with the active substance iron (IV) clathrochelate. Therefore, the article presents the results of studies of its antianemic effect on sickling piglets. Experiments were carried out on piglets-analogues neonates, which were divided into three groups: control and two experimental groups. Piglets were kept with sows on suckling. For the purpose of prevention iron deficiency anemia the traditional solution of iron dextran was administered once intramuscularly to piglets of I control group. The aqueous solution of iron (IV) clathrochelate complexes was administered once intramuscularly to piglets of II experimental group. Iron (IV) clathrochelate complexes were dissolved in a solvent of rheopolyglucin and administered once intramuscularly to piglets of III experimental group. 1 mL of test solutions contained 100 mg of active substance. The investigative material were the samples of blood and serum of piglets, their liver and spleen. The experiment lasted during a 30-day period since birth of piglets. According to the results of the experiments, iron (IV) clathrochelate complexes which was dissolved in a water for injection and rheopolyglucin had higher antianemic activity compared to the control. This is evidenced by the dynamics of probable changes in the number of erythrocytes, hemoglobin content and hematocrit, Iron content in serum and its mass fraction in the blood, liver and spleen of piglets. The effectiveness of the action of iron (IV) clathrochelate complexes is explained by the full supply of piglets with iron and its higher bioavailability.

**Key words:** iron deficiency anemia, clinical studies, iron (IV), piglets, morphological parameters, biochemical indicators.

## Дослідження протианемічної дії клатрохелату Феруму (IV) на поросятах

В. Б. Духницький<sup>1</sup>, І. М. Деркач<sup>1</sup>, С. С. Деркач<sup>1</sup>, І. О. Фрицький<sup>2</sup>, М. О. Плутенко<sup>2</sup>, В. М. Лозовий<sup>1</sup>,  
В. В. Коструб<sup>1</sup>, Ю. В. Лоза<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

<sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна

У статті наведені результати досліджень протианемічної дії Феруму (IV) у формі клатрохелатного комплексу в організмі поросят. Дослідження проведено на новонароджених поросятах-аналогах, яких розподілили у три групи – контрольну та дві дос-

лідні. Поросят утримували зі свиноматками на підсосі. З метою профілактики ферумдефіцитної анемії поросятам контрольної групи одноразово внутрішньом'язово ін'єкували по 2 мл традиційного ферумовмісного препарату. У такому ж об'ємі поросятам дослідних груп внутрішньом'язово вводили: поросятам II дослідної групи – клатрохелат Феруму (IV), розчинений у реополіглокіні; поросятам III дослідної групи – водний розчин клатрохелату Феруму (IV). В 1 мл досліджуваних розчинів містилося 100 мг діючої речовини. Матеріалом для досліджень були зразки крові та сироватки крові поросят, а також їхня печінка та селезінка. Дослід тривав 30 діб. Встановлено, що клатрохелат Феруму (IV), розчинений у воді для ін'єкцій та реополіглокіні, мав вищу протианемічну активність порівняно з контролем, про що свідчить динаміка вірогідних змін кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну та величини гематокриту, вмісту Феруму у сироватці крові та його масової частки у крові, печінці та селезінці поросят. Ефективність дії клатрохелату Феруму (IV) пояснюється повноцінним забезпеченням організму поросят Ферумом та його вищою біологічною доступністю. Отже, вперше виконано комплексні клінічні дослідження щодо вивчення протианемічної дії клатрохелату Феруму (IV) на організм поросят.

**Ключові слова:** ферумдефіцитна анемія, клінічні дослідження, Ферум (IV), поросята, морфологічні показники, біохімічні показники.

## Вступ

Забезпечення засобами для профілактики і діагностики хвороб та лікування тварин є обов'язковою умовою успішного ведення тваринництва і базується не лише на значних капіталовкладеннях з боку держави, а й на високому рівні вітчизняного наукового потенціалу. Тож розробка нових ефективних, порівняно з існуючими, лікарських засобів не втрачає актуальності.

Хоча анемія є симптомокомплексом, який супроводжує численні патологічні процеси у молодняку, що завдають значних економічних збитків, насамперед виділяють аліментарну анемію (Bonkovsky & Herbert, 1991; Camaschella, 2013; Knight & Dilger, 2018). Це клініко-гематологічний синдром, який є наслідком дефіциту в їхньому організмі незамінних для життя Феруму, Купруму, Кобальту, Цинку, вітамінів С і В<sub>12</sub>, що своєю чергою спричиняє порушення синтезу гемоглобіну та зменшення кількості еритроцитів (Walter et al., 1997; Svoboda et al., 2008; Ganz, 2013; Leyshon et al., 2016; Wang et al., 2019; Shero et al., 2019).

У поросят, на противагу молодняку тварин інших видів, даний вид анемії є самостійним захворюванням disease (Killip & Bennett, 2008; Li et al., 2019). В організмі новонародженого поросяти міститься достатня кількість Феруму, який надійшов через плаценту під час внутрішньоутробного розвитку. Проте вони є найнезрілішими з усіх сільськогосподарських тварин. Їхня маса тіла не досягає 1 % маси тіла свиноматки, а інтенсивний ріст значно випереджає формування кровотворних органів та досконалість їх функціональної діяльності. З молозивом чи молоком свиноматки надходить 1 мг за добової потреби 7–10 мг (21 мг на 1 кг приросту маси тіла). До 3-тижневого віку поросята потребують вже від 114 до 200 мг Феруму, а з молоком вони одержують лише 23–24 мг (Levchenko, 2005). Результатом вищеописаного є те, що гемоцитопоз відстає від потреб організму.

За інтенсивного ведення свинарства профілактика цієї хвороби є особливою необхідною (Sjaastad et al., 1996; Batrakov et al., 2005; Kim et al., 2018). Встановлено, що після лікування тварин з цією патологією організм, який перехворів, не здатний реалізувати власну потенційну продуктивність, а м'ясо втрачає поживні якості та має обмеження щодо реалізації. У таких тварин спостерігається блідість слизових обо-

лонок, зменшення маси тіла та зниження імунітету, а це своєю чергою призводить до інфекційної патології та навіть загибелі, яка може досягати 60–70 % (Egeli et al., 1998; Klem et al., 2010; Cooper et al., 2014).

У сучасній ветеринарній медицині для лікування тварин за ферумдефіцитної анемії та її профілактики застосовують препарати Феруму (II) або Феруму (III): пероральне введення солей Феруму (Maes et al., 2011; Svoboda et al., 2015) та парентеральне введення ферумодекстранових препаратів (Meier et al., 2011; Peña-Rosas et al., 2015; Pillay et al., 2018). Їхнім недоліком є низький відсоток всмоктування, що не забезпечує необхідного фармакологічного ефекту (Ma et al., 2017). Водночас вартість ферумодекстранових препаратів є досить високою.

Отже, нині на фармацевтичному ринку ветеринарних препаратів стоїть важливе завдання: у достатній мірі забезпечити його ефективними вітчизняними антианемічними засобами та мінімізувати залежність країни від закордонного виробника (Kalynovska, 2014; Derkach, 2017; Derkach et al., 2018). Науковці своєю чергою повинні працювати над розробленням таких ветеринарних препаратів, які б не мали недоліків, не володіли токсичною дією, а впливаючи на різні ланки патогенезу, забезпечували ефективну і недорогу профілактику ферумдефіцитної анемії поросят (Diel et al., 2018; Dos Santos Vieira et al., 2018).

Нами раніше повідомлялося про результати доклінічних досліджень нової органічної сполуки Феруму – клатрохелату Феруму в рідкісній валентності IV, синтез якої вперше описаний Tomy et al., (2017) (Dukhnitsky et al., 2018; 2019; 2020). Дана речовина може бути запропонована у складі ефективного протианемічного засобу для поросят.

Метою нашої роботи було оцінити ефективність застосування клатрохелату Феруму (IV) з метою профілактики ферумдефіцитної анемії поросят і визначити його вплив на динаміку їхньої маси тіла, вміст гемоглобіну та морфологічні показники крові, біохімічні показники сироватки крові, масові частки Феруму у крові, печінці та селезінці.

## Матеріал та методи дослідження

Для виконання поставленої мети на свинокомплексі (Кагарлицький район Київської області) було відібрано 30 новонароджених поросят (гібриди порід ландрас та велика біла) у період їхнього утримання

під свиноматками. Тварин розподілили на 3 групи (по 10 поросят у кожній) за принципом аналогів (вік та маса тіла), яких відповідно утримували в однакових умовах.

На другу добу життя для профілактики ферумодефіцитної анемії поросят І контрольної групи вводили традиційний ферумодекстрановий препарат у дозі 2 мл для тварини. У такому ж об'ємі внутрішньом'язово вводили: поросят ІІ дослідної групи – клатрохелат Феруму (IV), розчинений у реополіглюкіні; поросят ІІІ дослідної групи – водний розчин клатрохелату Феруму (IV). В 1 мл розчинили 100 мг діючої речовини.

Досліджуваний нами металокомплекс Феруму у формі клатрохелату та з рідкісною валентністю IV – це макробіциклічна координаційна сполука, у якій іон металу “упакований” у нанокапсулу, яка перешкоджає взаємодії з переважною більшістю реагентів, зокрема, біолігандами, а також екранує метал від інших факторів навколишнього середовища. Вперше про синтез унікальних клатрохелатних сполук Феруму (IV), які самочинно утворюються у водних розчинах за наявності Оксигену повітря, було повідомлено Tomyn et al. (2017). Ми провели ряд доклінічних досліджень їхньої гострої та хронічної токсичності, кумулятивних властивостей тощо (Dukhnitsky et al., 2018; 2019; 2020).

Розчинник реополіглюкіні є плазмозамінним колоїдним розчином декстрану (полімеру глюкози), фармакологічна дія якого проявляється поліпшенням реологічних властивостей крові, зниженням її в'язкості, відновленням мікроциркуляторного кровотоку, запобіганням та усуненням агрегації формених елементів, нормалізацією артеріального і венозного кровообігу. Період напіввиведення становить 6 годин. Виводиться в основному нирками: за перші 6 годин – близько 60 %, за 24 години – 70 %. Решта надходить у ретикулоендотеліальну систему і печінку, де поступово розщеплюється альфа-глюкозидазою до глюкози, проте не є джерелом вуглеводного живлення. До того ж реополіглюкіні містить Натрію хлорид, який після

резорбції бере участь в обміні речовин та регуляції метаболізму води.

Протягом 30 діб за поросятами вели спостереження, методом зважування на 7, 14 та 30 добу після народження визначали динаміку змін маси тіла поросят контрольної та дослідної груп; для досліджень умісту гемоглобіну та морфологічних показників крові, біохімічних показників сироватки крові відбирали зразки крові на 7, 14, та 30 добу життя; на 30 добу відбирали проби крові, печінки та селезінки поросят для визначення у них масової частки Феруму.

### Результати та їх обговорення

Відомо, що хелатні комплекси мікроелементів мають низку переваг над іншими препаратами відповідних груп, оскільки складаються з іонів металів та лігандів, володіють високою біологічною активністю, а їхня засвоюваність становить 95–100 %. За рахунок поступового розриву хелатних зв'язків препарати проявляють пролонговану дію. Після відщеплення мікроелементів деякі ліганди здатні ефективно використовуватися організмом. Все це дає можливість зменшувати дози мікроелементів, що є дуже важливим за застосування важких металів як діючих речовин лікарських засобів, а також вирішувати низку проблем (економічні, екологічні, біологічні тощо). Результати проведених нами досліджень підтверджують ефективність препаратів на основі клатрохелату Феруму (IV).

Зміна маси тіла тварин порівняно з контролем, є дуже важливим показником, порушення якого свідчить про ступінь ураження організму. Зміни маси тіла особливо важливі для молодих тварин; зі збільшенням віку приріст маси відбувається значно повільніше. Нами встановлено, що динаміка змін маси тіла поросят контрольної та дослідних груп відрізняється протягом періоду дослідження, але на 30 добу експерименту показник маси тіла поросят І контрольної та ІІІ дослідної були однаковими, а показник маси тіла поросят ІІ дослідної групи – найвищим (табл. 1).

**Таблиця 1**

Маса тіла поросят за впливу препаратів Феруму у валентностях ІІІ та ІV, г ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Час зважування	Група поросят		
	І контрольна	ІІ дослідна	ІІІ дослідна
До застосування препаратів	1795,0 ± 30,95	1788,0 ± 25, 60	1779,0 ± 60,41
На 7 добу	2950,0 ± 38,64	3526,4 ± 66,71***	3680,0 ± 67,36***
На 14 добу	3627,0 ± 53,36	3920,0 ± 142,63**	3892,0 ± 33,36***
На 30 добу	6500,0 ± 164,24	6683,2 ± 47,53	6500,0 ± 47,14

Примітка: ступінь вірогідності – \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$

Результати досліджень (табл. 1) засвідчують, що маса тіла поросят ІІ та ІІІ дослідних груп на 7 добу після застосування препаратів була більшою від показника в контролі на 20 та 25 % відповідно; на 14 добу – на 8 та 7 % відповідно, а через 30 діб – маса тіла поросят ІІІ дослідної групи не відрізнялася від маси тіла поросят контрольної групи, а маса тіла поросят ІІ дослідної групи була більшою від показника в контролі на 3 % відповідно.

Система крові є однією з найбільш мобільних та швидко реагує на зміни гомеостазу організму, що особливо важливо для новонароджених поросят за “фізіологічного” дефіциту Феруму у перші доби життя.

Морфологічні показники крові поросят дослідних груп порівнювали з контролем, аналізували динаміку змін кількості еритроцитів, умісту гемоглобіну та показника гематокриту крові (табл. 2).

**Таблиця 2**

Уміст гемоглобіну та морфологічні показники крові поросят за впливу препаратів Феруму у валентностях III та IV ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Показники	I контрольна	II дослідна	III дослідна
	14 доба		
Еритроцити RBC, Т/л	4,0 ± 0,05	6,7 ± 0,10***	6,6 ± 0,03***
Середній об'єм еритроцитів MCV, мкм <sup>3</sup>	62,9 ± 0,31	67,1 ± 1,03**	64,2 ± 0,34
Ширина розподілу еритроцитів, %	14,7 ± 0,08	15,3 ± 0,19*	15,2 ± 0,08***
Гемоглобін HGB, г/л	79,6 ± 0,96	102,0 ± 6,00**	123,5 ± 0,58***
Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті MCH, пкг	18,7 ± 0,08	19,2 ± 0,48	18,4 ± 0,09*
Концентрація гемоглобіну в еритроцитах MCHC, г/дл	29,5 ± 0,13	28,7 ± 0,11***	28,6 ± 0,21*
Гематокрит HCT, %	37,5 ± 0,97	42,8 ± 1,38***	41,5 ± 0,53***
Лейкоцити WBC, тис./мкл	8,0 ± 0,38	10,0 ± 0,48**	12,6 ± 0,50***
Тромбоцити PLT, тис./мм <sup>3</sup>	419,0 ± 4,27	427,9 ± 10,25	464,2 ± 4,54***
Середній об'єм тромбоцитів MPV мкм <sup>3</sup>	9,0 ± 0,47	9,1 ± 0,17	8,8 ± 0,13
ШОЕ	4,0 ± 0,15	3,3 ± 0,15**	3,0 ± 0,21**
30 доба			
Еритроцити RBC, Т/л	6,9 ± 0,05	7,54 ± 0,10***	6,9 ± 0,07
Середній об'єм еритроцитів MCV, мкм <sup>3</sup>	58,6 ± 0,73	62,2 ± 0,82**	62,0 ± 0,81
Ширина розподілу еритроцитів, %	13,3 ± 0,14	13,6 ± 0,05*	13,2 ± 0,03
Гемоглобін HGB, г/л	121,6 ± 0,73	132,0 ± 0,50***	127,0 ± 0,50***
Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті MCH, пкг	17,2 ± 0,08	17,9 ± 0,13***	17,6 ± 0,21*
Концентрація гемоглобіну в еритроцитах MCHC, г/дл	29,3 ± 0,22	29,7 ± 0,25	29,1 ± 0,09
Гематокрит HCT, %	42,0 ± 0,42	45,9 ± 0,38***	42,7 ± 0,18
Лейкоцити WBC, тис./мкл	10,6 ± 0,98	11,6 ± 0,46	13,3 ± 0,71*
Тромбоцити PLT, тис./мм <sup>3</sup>	458,4 ± 1,97	441,4 ± 10,85	468,7 ± 6,05*
Середній об'єм тромбоцитів MPV мкм <sup>3</sup>	9,8 ± 0,43	9,8 ± 0,11	10,2 ± 0,34
ШОЕ	4,0 ± 0,14	3,0 ± 0,15***	3,5 ± 0,16*

Примітка: ступінь вірогідності: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$

З даних, наведених у таблиці 2, випливає, що на 14 добу після застосування препаратів Феруму (IV) у крові поросят II дослідної групи кількість еритроцитів, уміст гемоглобіну та показник гематокриту зростали у 1,7, 1,3, 1,1 ( $P < 0,01$ ,  $P < 0,001$ ) рази відповідно, а у крові поросят III дослідної групи у 1,7, 1,6, 1,1 ( $P < 0,001$ ) рази відповідно порівняно з контролем. Період досліджень (14 діб) характеризується тим, що організмом поросят уже використано резервні запаси Феруму (до 7 доби), а надходження його з молоком матері задовольняє потребу організму поросят лише на 10–15 %. Тому застосування ферумовмісних препаратів на основі клатрохелату Феруму (IV) відвернуло розвиток еритроцитопенії та гіпогемоглобінемії, зумовлених пригніченням гемоцитопоетичної функції кісткового мозку за дефіциту Феруму.

На 30 добу у крові поросят II дослідної групи кількість еритроцитів, уміст гемоглобіну та показник гематокриту були більшими від показників тварин контрольної групи, а у крові поросят III дослідної групи майже не змінювалися порівняно з контролем.

Динаміка вірогідних змін ( $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$ ,  $P < 0,001$ ) показників середнього об'єму еритроцитів MCV, ширини розподілу еритроцитів, середнього вмісту гемоглобіну в одному еритроциті MCH та концентрації гемоглобіну в еритроцитах MCHC доповнюють вищеописані зміни та засвідчують високий профілактичний протианемічний вплив клатрохелату

Феруму (IV), розчиненого в таких розчинниках, як вода для ін'єкцій та реополіглюкін.

На 14 добу після застосування препаратів Феруму (IV) у крові поросят II дослідної групи кількість лейкоцитів збільшувалася в 1,3 ( $P < 0,01$ ) рази, а у крові поросят III дослідної групи – у 1,6 ( $P < 0,001$ ) рази, порівняно з контролем. На 30 добу цей показник майже не відрізнявся від контролю.

Також не зазнавали суттєвих змін упродовж 30 діб показники кількості та середнього об'єму тромбоцитів у поросят дослідних груп.

Показник ШОЕ у поросят обох дослідних груп був меншим у 1,2–1,3 рази від контролю протягом періоду експерименту.

За впливу препаратів клатрохелату Феруму (IV) суттєвих змін зазнавала лейкограма крові поросят (табл. 3).

З даних, наведених у таблиці 3, випливає, що на 14 та 30 доби динаміка показників кількості паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів у крові поросят дослідних груп відрізнялася від контролю. Зокрема, кількість паличкоядерних нейтрофілів була меншою у крові поросят II дослідної групи у 2,2 та 2,6 ( $P < 0,001$ ) рази відповідно, а у крові поросят III дослідної групи – у 2,6 та 3,3 ( $P < 0,01$ ,  $P < 0,001$ ) рази відповідно порівняно з контролем. Кількість сегментоядерних нейтрофілів у крові поросят дослідних груп була, навпаки, дещо більшою, ніж в контролі.

**Таблиця 3**

Лейкограма крові поросят за впливу препаратів Феруму у валентностях III та IV, % (M ± m, n = 10)

Показники	14 доба		
	I контрольна	II дослідна	III дослідна
Базофіли	-	-	-
Еозинофіли	4,0 ± 0,33	5,0 ± 0,82	4,5 ± 0,40
Нейтрофіли паличкоядерні	5,1 ± 0,23	2,3 ± 0,25***	4,0 ± 0,21**
Нейтрофіли сегментоядерні	46,0 ± 0,47	48,7 ± 0,25	49,2 ± 0,29***
Лімфоцити	40,0 ± 1,35	40,1 ± 1,30	43,1 ± 0,53*
Моноцити	6,0 ± 0,26	3,0 ± 0,49**	2,0 ± 0,21**
30 доба			
Базофіли	-	-	-
Еозинофіли	5,1 ± 0,98	4,7 ± 0,30	5,5 ± 0,41
Нейтрофіли паличкоядерні	4,0 ± 0,22	1,5 ± 0,15***	1,2 ± 0,14***
Нейтрофіли сегментоядерні	55,9 ± 1,26	61,0 ± 0,82**	55,1 ± 0,32
Лімфоцити	32,1 ± 0,47	29,0 ± 0,26***	37,4 ± 0,48***
Моноцити	5,0 ± 0,50	5,0 ± 0,26	2,0 ± 0,32***

Примітка: “-” – не виявлено; ступінь вірогідності: \* – P < 0,05, \*\* – P < 0,01, \*\*\* – P < 0,001

Кількість моноцитів у крові поросят II та III дослідних груп на 14 добу була меншою у 2,0 та 3,0 (P < 0,01) разу відповідно порівняно з контролем, а на 30 добу у крові поросят II дослідної групи не відрізнялася від контролю, а у крові поросят III дослідної групи була меншою.

Кількості лімфоцитів та еозинофілів у крові поросят II та III дослідних груп майже не відрізнялася від показників у поросят контрольної групи.

У крові поросят усіх груп не встановлено промієлоцитів, мієлоцитів, метамієлоцитів, базофілів та плазматичних клітин упродовж періоду дослідження.

В основі біологічної дії хімічних факторів лежить порушення низки біохімічних процесів. Основне значення у цьому мають структурно-метаболичні комплекси, які пов’язані зі синтезом білка, біоенергетикою метаболізму хімічних сполук і процесами катаболізму. Біохімічні дослідження включають аналізи показників, які відображають функціональний стан окремих органів.

Динаміка змін умісту Феруму в сироватці крові поросят контрольної та дослідних груп наведена у таблиці 4.

**Таблиця 4**

Уміст Феруму у сироватці крові поросят за впливу препаратів Феруму у валентностях III та IV, ммоль/л (M ± m, n = 10)

Період дослідження, доба	Група поросят		
	I контрольна	II дослідна	III дослідна
На 7 добу	24,1 ± 2,58	40,5 ± 2,32***	37,3 ± 2,95**
На 14 добу	20,8 ± 1,01	48,5 ± 3,51***	29,4 ± 0,76***
На 30 добу	14,7 ± 0,912	22,0 ± 0,77***	17,6 ± 1,22

Примітка: ступінь вірогідності: \*\* – P < 0,01, \*\*\* – P < 0,001

З даних, наведених у таблиці 4, випливає, що на 7, 14 та 30 доби уміст Феруму в сироватці крові поросят II дослідної групи був вищим у 1,7, 2,3, 1,5 (P < 0,001) разу відповідно, а у сироватці крові поросят III дослідної групи – у 1,5, 1,4, 1,2 (P < 0,01, P < 0,001) разу відповідно порівняно з контролем.

Високий уміст Феруму в сироватці крові поросят II групи засвідчує, що клатрохелат Феруму (IV), розчинений у реополіглюкіні, створює депо Феруму в сироватці крові на тривалий час.

Важливу інформацію про метаболізм в організмі поросят за впливу Феруму у валентностях III та IV було отримано за вивчення упродовж 30 діб динаміки змін інших біохімічних показників сироватки крові (табл. 5).

Наведені у табл. 5 дані засвідчують, що на 7 добу вірогідно зміни деяких показників були лише у сироватці крові поросят II дослідної групи, яким застосовували клатрохелат Феруму (IV), розчинений у реополіглюкіні. Зокрема збільшувався уміст протеїну загального, α<sub>1</sub>-, β- та γ-глобулінів.

Через 14 діб вірогідне збільшення показників протеїну загального, α<sub>2</sub>-, β- та γ-глобулінів було встановлено у сироватці крові поросят обох дослідних груп. Уміст альбумінів у сироватці крові II дослідної групи вірогідно підвищувався на 14 %, а в сироватці крові поросят III дослідної групи – знижувався на 5 %.

Через 30 діб у сироватці крові поросят обох дослідних груп вірогідно вищим від контролю був уміст протеїну загального, α<sub>2</sub>-, та β-глобулінів. Уміст γ-глобулінів у сироватці крові поросят обох дослідних груп був меншим, ніж у контролі.

**Таблиця 5**

Деякі біохімічні показники сироватки крові поросят за впливу препаратів Феруму у валентностях III та IV ( $M \pm m, n = 10$ )

Показники	7 доба		
	I контрольна	II дослідна	III дослідна
Протеїн загальний, г/л	45,8 ± 0,29	47,1 ± 0,49*	44,6 ± 1,61
Альбуміни, %	53,2 ± 0,81	53,5 ± 0,68	54,4 ± 0,21
α <sub>1</sub> -глобуліни, %	2,4 ± 0,03	3,0 ± 0,09***	2,6 ± 0,08
α <sub>2</sub> -глобуліни, %	10,7 ± 0,59	9,0 ± 0,68	11,2 ± 0,73
β-глобуліни, %	16,8 ± 0,34	12,8 ± 0,65***	16,3 ± 0,05
γ-глобуліни, %	17,0 ± 1,15	21,3 ± 0,33**	15,1 ± 0,52
A/G коефіцієнт	1,1 ± 0,04	1,2 ± 0,03	1,2 ± 0,01
Глюкоза, ммоль/л	7,5 ± 0,02	7,4 ± 0,35	6,8 ± 0,30
Фосфор неорганічний, ммоль/л	3,8 ± 0,06	3,9 ± 0,11	3,8 ± 0,15
Кальцій загальний, ммоль/л	2,8 ± 0,06	2,8 ± 0,02	3,1 ± 0,04***
14 доба			
Протеїн загальний, г/л	44,6 ± 1,16	50,5 ± 0,60***	52,7 ± 0,78***
Альбуміни, %	54,7 ± 0,48	62,4 ± 0,73***	52,1 ± 0,26***
α <sub>1</sub> -глобуліни, %	2,2 ± 0,05	2,1 ± 0,11	1,1 ± 0,02*
α <sub>2</sub> -глобуліни, %	10,2 ± 0,34	12,4 ± 0,39***	13,2 ± 0,02***
β-глобуліни, %	14,0 ± 0,47	15,3 ± 0,16*	17,2 ± 0,05***
γ-глобуліни, %	16,5 ± 0,41	17,1 ± 1,25	15,5 ± 0,10*
A/G коефіцієнт	1,3 ± 0,04	1,6 ± 0,06***	1,1 ± 0,01***
Глюкоза, ммоль/л	6,8 ± 0,19	7,0 ± 0,22	6,3 ± 0,06*
Фосфор неорганічний, ммоль/л	3,4 ± 0,12	2,7 ± 0,07***	2,6 ± 0,03***
Кальцій загальний, ммоль/л	2,5 ± 0,11	2,7 ± 0,04	2,9 ± 0,08**
30 доба			
Протеїн загальний, г/л	47,1 ± 0,52	48,7 ± 0,46*	50,4 ± 0,26***
Альбуміни, %	58,1 ± 1,02	57,4 ± 0,91	57,9 ± 0,21
α <sub>1</sub> -глобуліни, %	1,9 ± 0,09	2,9 ± 0,08***	1,7 ± 0,16***
α <sub>2</sub> -глобуліни, %	9,9 ± 0,28	11,3 ± 0,52*	13,2 ± 0,02*
β-глобуліни, %	12,2 ± 0,42	15,6 ± 0,24***	17,2 ± 0,05***
γ-глобуліни, %	16,6 ± 0,42	12,8 ± 0,72***	15,5 ± 0,10***
A/G коефіцієнт	1,5 ± 0,06	1,4 ± 0,05	1,1 ± 0,01
Глюкоза, ммоль/л	6,4 ± 0,10	6,1 ± 0,20	5,4 ± 0,20***
Фосфор неорганічний, ммоль/л	2,6 ± 0,14	3,0 ± 0,10	3,3 ± 0,01**
Кальцій загальний, ммоль/л	2,5 ± 0,14	2,6 ± 0,05	2,7 ± 0,03

Примітка: ступінь вірогідності: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$

Показники вмісту глюкози, кальцію загального та фосфору неорганічного у сироватці крові поросят дослідних груп суттєво не відрізнялися від контролю впродовж усього досліджу.

Дослідженнями встановлено, що уміст Феруму в крові, печінці та селезінці піддослідних поросят залежав від застосованого препарату (табл. 6).

**Таблиця 6**

Масова частка Феруму у крові, печінці та селезінці поросят за впливу препаратів Феруму (III) і (IV), мг/кг ( $M \pm m, n = 5$ )

Показник	Група поросят	
	I контрольна	II дослідна
Кров	212,6 ± 3,22	266,6 ± 4,48***
Печінка	94,8 ± 2,22	106,8 ± 1,77**
Селезінка	92,4 ± 0,82	101,7 ± 0,95***

Примітка: ступінь вірогідності: \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$

Так, його уміст на 30 добу був більшим у крові, печінці та селезінці поросят II дослідної групи (застосовували розчин клатрохелату Феруму (IV) на реополіглюкіні) на 25,13 та 10 % відповідно, ніж за застосу-

вання ферумовмісного декстранового препарату (I контрольна група).

Отже, за показниками маси тіла, морфологічними та біохімічними показниками крові та сироватки крові поросят препарати клатрохелату Феруму (IV) були ефективніші, ніж традиційні ферумодекстранові.

### Висновки

Збільшення маси тіла поросят II та III дослідних груп порівняно з контролем через 7 діб після застосування препаратів клатрохелату Феруму (IV) на 576,4 та 730,0 г; через 14 діб – на 293,0 та 265 г відповідно засвідчує про активацію процесів синтезу в їх організмі. Під впливом препаратів клатрохелату Феруму (IV) стимулювався гемоцитопоез у поросят дослідних груп, на що вказує вірогідно більший уміст гемоглобіну та кількість еритроцитів у їхній крові, величина гематокриту, порівняно з показниками поросят контрольної групи. За застосування препаратів клатрохелату Феруму (IV) поросят II та III дослідних груп, уміст Феруму у їх сироватці крові був більшим, ніж у контролі в 1,5–2,3 та 1,2–1,5 разу відповідно. Високий уміст Феруму в сироватці крові поросят II



дослідної групи упродовж 30 діб засвідчує про здатність клатрохелату Феруму (IV), розчиненого у реополіглокіні, створювати депо Феруму на тривалий час. Висока біодоступність клатрохелату Феруму (IV), розчиненого у реополіглокіні, порівняно з декстриновим препаратом, підтверджується більшим умістом Феруму в крові, печінці та селезінці поросят дослідних груп на 25,13 та 10 %.

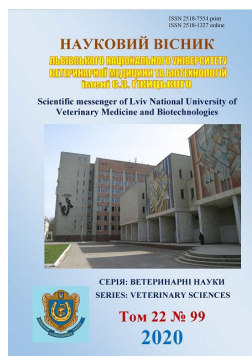
## References

- Batrakov, A., Travkin, O., & Jakovleva, E. (2005). Profilaktika alimentarnoj anemii u porosjat [Prevention of malignant anemia of piglets]. *Veterinarija*, 12, 44–45 (in Russian).
- Bhattarai, S., Framstad, T., & Nielsen, J. P. (2019). Iron treatment of pregnant sows in a Danish herd without iron deficiency anemia did not improve sow and piglet hematology or stillbirth rate. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 61(1), 60. doi: 10.1186/s13028-019-0497-6.
- Bhattarai, S., Framstad, T., & Nielsen, J. P. (2019). Association between sow and piglet blood hemoglobin concentrations and stillbirth risk. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 61(1), 61. doi: 10.1186/s13028-019-0496-7.
- Bonkovsky, S., & Herbert, L. (1991). Iron and the liver. *The American journal of the medical sciences*, 301(1), 32–43. doi: 10.1097/0000441-199101000-00006.
- Camaschella, C. (2013). Iron and hepcidin: a story of recycling and balance. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2013, 1–8. doi: 10.1182/asheducation-2013.1.1.
- Chen, X., Zhang, X., Zhao, J., Tang, X., Wang, F., & Du, H. (2019). Split iron supplementation is beneficial for newborn piglets. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 120, 109479. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109479.
- Churio, O., Durán, E., Guzmán-Pino, S. A., & Valenzuela, C. (2018). Use encapsulation technology to improve the efficiency of an iron oral supplement to prevent anemia in suckling pigs. *Animals*, 9(1), 1. doi: 10.3390/ani9010001.
- Cooper, C. A., Moraes, L. E., Murray, J. D., & Owens, S. D. (2014). Hematologic and biochemical reference intervals for specific pathogen free 6-week-old Hampshire-Yorkshire crossbred pigs. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 5(1), 5. doi: 10.1186/2049-1891-5-5.
- Derkach, I. (2017). Suchasni tendentsii na vitchyznianomu rynku ferumvmisnykh preparativ dlia tvaryn [Modern trends of the Ukrainian market of iron-containing products for animals]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterinarynoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Hzhyskoho*, 19(78), 23–25. doi: 10.15421/nvlvet7805 (in Ukrainian).
- Derkach, I., Derkach, S., & Sotnichenko, I. (2018). Ferum u skladi kormovykh dobavok, hotovykh kormiv ta premiksiv na farmatsevychnomu rynku v Ukraini [Iron in the content of feed additives, prepared feeds and premixes on the pharmaceutical market in Ukraine]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterinarynoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Hzhyskoho*, 20(83), 290–294. doi: 10.15421/nvlvet8358 (in Ukrainian).
- Diel, J., Bertoldi, A., & Pizzol, T. (2018). Iron salts and vitamins: use, purchase and sources of obtainment among children in Brazil. *Cad Saude Publica*, 6, 34(9). doi: 10.1590/0102-311X00133317.
- Dos Santos Vieira, D. A., Hermes Sales, C., Galvão Cesar, C. L., Marchioni, D. M., & Fisberg, R. M. (2018). Influence of haem, non-haem, and total iron intake on metabolic syndrome and its components: a population-based study. *Nutrients*, 10(3), 314. doi: 10.3390/nu10030314.
- Dukhnitsky, V. B., Derkach, I. M., Plutenko, M. O., Fritsky, I. O., & Derkach, S. S. (2018). Vyznachennia parametriv hostroi toksychnosti ferumu (IV) na bilykh myshakh [Determination of the accumulative toxicity parameters of iron (IV) on white mice]. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(2), 308–312. doi: 10.15421/2018\_343 (in Ukrainian).
- Dukhnitsky, V. B., Derkach, I. M., Derkach, S. S., Plutenko, M. O. & Fritsky, I. O. (2019). Influence of iron (IV) clathrochelate complex on quail blood parameters and weight characteristics. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(3), 126–131. doi: 10.15421/2019\_719.
- Dukhnitsky, V. B., Kalachniuk L.H., Derkach, I. M., Derkach, S. S., Plutenko, M. O. & Fritsky, I. O. (2020). Iron (IV) hexahydrazide clathrochelate complexes: the chronic toxicity study. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(3), 18–23. doi: 10.15421/2020\_3.
- Ganz, T. (2013). Systemic iron homeostasis. *Physiological Reviews*, 93(4), 1721–1741. doi: 10.1152/physrev.00008.
- Ganz, T., & Nemeth, E. (2006). Iron imports. IV. Hpcidin and regulation of body iron metabolism. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 290(2), G199–G203. doi: 10.1152/ajpgi.00412.2005.
- Ganz, T., & Nemeth, E. (2012). Hpcidin and iron homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1823(9), 1434–1443. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.01.014.
- Grabovskiy, S. S. (2014). Effect of natural immunomodulators influence on cellular immunity indices and cortisol level in rat's blood at pre-slaughter stress. *Studia Biologica*, 8(1), 93–102.
- Egeli, A. K., Framstad, T., & Morberg, H. (1998). Clinical biochemistry, haematology and body weight in piglets. *Acta veterinaria Scandinavica*, 39(3), 381–393.
- Kalynovska, L. (2014). Zareiestrovani v Ukraini preparaty dlia profilaktyky i likuvannia tvaryn pry anemii [Medicines which are registered in Ukraine for the prevention and treatment of animals with anemia]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten Instytutu biolohii tvaryn i Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu veterinarynykh ta kormovykh dobavok*, 15(1), 279–283 (in Ukrainian).
- Khariv, I. I. (2013). Vplyv “Amprolinsylu” ta brovitakoktsydu na pokaznyky klitynnoho i humoralnoho imunitetu indykiv za eymeriozo-histomonoznoyi invaziyi [Influence of amprolissil and broth taticide on indicators of cell and humoral

- immunity of turkey cocks under the emeritus-histomonous invasion]. *Biolohiya Tvaryn*, 15(4), 159–165 (in Ukrainian).
- Kim, J. C., Wilcock, P., & Bedford, M. R. (2018). Iron status of piglets and impact of phytase superdosing on iron physiology: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 235, 8–14. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.11.001.
- Killip, S., Bennett, M. Iron Deficiency Anemia (2008). *American Family Physician*, 15, 78(8), 671–678.
- Klem, T. B., Bleken, E., Morberg, H., Thoresen, S. I., & Framstad, T. (2010). Hematologic and biochemical reference intervals for Norwegian crossbreed grower pigs. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(2), 221–226. doi: 10.1111/j.1939-165X.2009.00199.x.
- Knez, M., Graham, R. D., Welch, R. M., & Stangoulis, J. C. (2017). New perspectives on the regulation of iron absorption via cellular zinc concentrations in humans. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(10), 2128–2143. doi: 10.1080/10408398.2015.1050483.
- Knight, L. C., & Dilger, R. N. (2018). Longitudinal effects of iron deficiency anemia and subsequent repletion on blood parameters and the rate and composition of growth in pigs. *Nutrients*, 10(5), 632. doi: 10.3390/nu10050632.
- Leyshon, B. J., Radlowski, E. C., Mudd, A. T., Steelman, A. J., & Johnson, R. W. (2016). Postnatal iron deficiency alters brain development in piglets. *The Journal of Nutrition*, 146(7), 1420–1427. doi: 10.3945/jn.115.223636.
- Levchenko, V., Zajarnuk, V., Papchenko, I., Abdullaev, Sh., Bogatko, L., Kostenko, L., Sokoluk, V., Sharandak, V., Shulga, P. (2005). Khvoroby svynei [Diseases of pigs]. Bila tserkva: Bilotserkivskiy derzhavnyi ahraryni universytet (in Ukrainian).
- Li, R., Wang, F., Zhang, Y., Li, C., Xia, C., Chen, H., Lu, X., & Liu, F. (2019). Comparison of hematologic and biochemical reference values in specific-pathogen-free 1-month-old Yorkshire pigs and Yorkshire-Landrace crossbred pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 83(4), 285–290. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6753882>.
- Lipinski, P., Starzyński, R. R., Canonne-Hergaux, F., Tudek, B., Oliński, R., Kowalczyk, P., Dziaman, T., Thibaudeau, O., Gralak, M. A., Smuda, E., Woliński, J., Usińska, A., & Zabielski, R. (2010). Benefits and risks of iron supplementation in anemic neonatal pigs. *The American Journal of Pathology*, 177(3), 1233–1243. doi: 10.2353/ajpath.2010.091020.
- Lipiński, P., Styś, A., & Starzyński, R. R. (2013). Molecular insights into the regulation of iron metabolism during the prenatal and early postnatal periods. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 70(1), 23–38. doi: 10.1007/s00018-012-1018-1.
- Ma, W., Lu, J., Jiang, S., Cai, D., Pan, S., Jia, Y., & Zhao, R. (2017). Maternal protein restriction depresses the duodenal expression of iron transporters and serum iron level in male weaning piglets. *The British Journal of Nutrition*, 117(7), 923–929. doi: 10.1017/S0007114517000794.
- Maes, D., Steyaert, M., Vanderhaeghe, C., López Rodríguez, A., de Jong, E., Del Pozo Sacristán, R., Vangroenweghe, F., & Dewulf, J. (2011). Comparison of oral versus parenteral iron supplementation on the health and productivity of piglets. *Veterinary Record*, 19, 168–188. doi: 10.1136/vr.c7033.
- Meier, T., Schropp, P., Pater, C., Leoni, A., Khov-Tran, V., & Elford, P. (2011). Physicochemical and toxicological characterization of a new generic iron sucrose preparation. *Arzneimittelforschung*, 61(2), 112–119. doi: 10.1055/s-0031-1296176.
- Miranda, M., & Lawson, H. (2018). Ironing out the details: untangling dietary iron and genetic background in diabetes. *Nutrients*, 10(10), 1–9. doi: 10.3390/nu10101437.
- Nemeth, E., & Ganz, T. (2006). Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annual Review of Nutrition*, 26, 323–342. doi: 10.1146/annurev.nutr.26.061505.111303.
- Pillay, D., Wham, C., Moyes, S., Muru-Lanning, M., Teh R., & Kerse N. (2018). Intakes, adequacy, and biomarker status of iron, folate, and vitamin b12 in māori and non-māori octogenarians: life and living in advanced age: a cohort study in New Zealand (LiLACS NZ). *Nutrients*, 14, 10(8), 1–9. doi: 10.3390/nu10081090.
- Peña-Rosas, J., De-Regil, L., Gomez Malave, H., Flores-Urrutia, M., & Dowswell, T. (2015). Intermittent oral iron supplementation during pregnancy. *Cochrane Database System Review*, 19(10), 1–9. doi: 10.1002/14651858.
- Sangkhae, V., & Nemeth, E. (2017). Regulation of the Iron Homeostatic Hormone Hepcidin. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 8(1), 126–136. doi: 10.3945/an.116.013961.
- Shero, N., Fiset, S., Blakley, B., Jougoux, J. L., Surette, M. E., Thabet, M., & Rioux, F. M. (2019). Impact of maternal iron deficiency on the auditory functions in the young and adult guinea pig. *Nutritional Neuroscience*, 22(6), 444–452. doi: 10.1080/1028415X.2017.1408946.
- Sjaastad, O. V., Framstad, T., & Blom, A. K. (1996). Effect of iron on erythropoietin production in anaemic piglets. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 37(2), 133–138. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8767691>.
- Starzyński, R. R., Laarakkers, C. M., Tjalsma, H., Swinkels, D. W., Pieszka, M., Styś, A., Mickiewicz, M., & Lipiński, P. (2013). Iron supplementation in suckling piglets: how to correct iron deficiency anemia without affecting plasma hepcidin levels. *PLoS one*, 8(5), e64022. doi: 10.1371/journal.pone.0064022.
- Svoboda, M., & Drabek, J. (2005). Iron deficiency in suckling piglets: etiology, clinical aspects and diagnosis. *Folia Veterinaria*, 49, 104–111.
- Svoboda, M., & Piskova, K. (2018). Oral iron administration in suckling piglets – a review. *Acta Vet Brno*, 87, 77–83.
- Szudzik, M., Starzyński, R. R., Jończy, A., Mazgaj, R., Lenartowicz, M., & Lipiński, P. (2018). Iron supplementation in suckling piglets: an ostensibly easy therapy of neonatal iron deficiency anemia. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 11(4), 128.

doi: 10.3390/ph11040128.

- Szudzik, M., Lipiński, P., Jończy, A., Mazgaj, R., Pieszka, M., Kamyczek, M., Smuda, E., & Starzyński, R. R. (2020). Long-term effect of split iron dextran/hemoglobin supplementation on erythrocyte and iron status, growth performance, carcass parameters, and meat quality of polish large white and 990 line pigs. *Biological Trace Element Research*, 196(2), 472–480. doi: 10.1007/s12011-019-01950-w.
- Tomyn, S., Shylin, S., Bykov, D., Ksenofontov, V., Gumienna-Kontecka, E., Bon, V., & Fritsky, I. (2017). Indefinitely stable iron (IV) cage complexes formed in water by air oxidation. *Nature Communications*, 8, 1–8. doi: 10.1038/ncomms14099.
- Wang, X., Garrick, M. D., & Collins, J. F. (2019). Animal models of normal and disturbed iron and copper metabolism. *The Journal of Nutrition*, 149(12), 2085–2100. doi: 10.1093/jn/nxz172.
- Walter, T., Olivares, M., Pizarro, F., & Muñoz, C. (1997). Iron, anemia, and infection. *Nutrition Reviews*, 55(4), 111–124. doi: 10.1111/j.1753-4887.1997.tb06462.x.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print

ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9918

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.39.619.995.123.

## Pharmaco-toxicological properties of the drug “Ciflur” as a preventive agent for nodular dermatitis

A. B. Berezovsky, T. I. Fotina, A. J. Ragatova, P. G. Bondarenko, L. V. Nagorna, S. M. Nazarenko

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

### Article info

Received 10.09.2020

Received in revised form

12.10.2020

Accepted 13.10.2020

### Sumy National

Agrarian University,

Gerasim Kondratiev Str., 160,

Sumy, 40000, Ukraine.

Tel.: +38-095-495-29-33

E-mail: [tif\\_ua@meta.ua](mailto:tif_ua@meta.ua)

**Berezovsky, A. B., Fotina, T. I., Ragatova, A. J., Bondarenko, P. G., Nagorna, L. V., & Nazarenko, S. M. (2020). Pharmaco-toxicological properties of the drug “Ciflur” as a preventive agent for nodular dermatitis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 116–119. doi: 10.32718/nvlvet9918**

The article presents data study of acute toxicity of the drug “Ciflur”. Nodular dermatitis causes significant economic losses due to a temporary decrease in milk productivity, temporary or permanent sterility of breeding bulls, skin lesions, and death of sick animals due to secondary infections. Specific treatments have not been developed. Preventive disinsection of livestock premises is effective for prevention. For this purpose, a new drug “Ciflur” was developed. 1 ml of the drug contains the active substance: cyfluthrin – 10.0 mg. Toxicity studies of the drug and evaluation of the results were performed in accordance with standard methods. The study of acute toxicity of the drug “Ciflur” when applied to the skin was performed on 18 white rats weighing 170–190 g. The animals were divided into 3 groups of 6 heads. Rats were kept in the vivarium in accordance with sanitary rules and on a standard diet adopted in the vivarium with the use of compound feed. The first group of rats on the skin was applied the drug “Ciflur” at a dose of 1250 mg/kg, the second – 2500 mg/kg body weight. The third group of rats was a control – these animals on the skin was applied Solveso 200 solvent in the amount of 2500 mg/kg body weight. Acute toxicity of the drug was studied when applying the drug to a pre-cut area of skin on the back, which was at least 10 % of the total surface area of the animal. In order to prevent excessive spreading on the skin, the drug was applied slowly, drying with warm air with a hair dryer. For 14 days after cutaneous application of the drug was recorded daily its effect on the survival of rats, the appearance of rats and manifestations of physiological disorders of animals. Rats were weighed before application, as well as 3, 7 and 14 days after the start of the study. After 14 days, an autopsy was performed and the condition of the internal organs was examined for possible impressions, and the internal organs were weighed and their relative weight coefficients were calculated. Therefore, a single skin application of “Ciflur” at doses of 1250 and 2500 mg/kg body weight did not result in the death of experimental rats. The acute LD<sub>50</sub> of the drug “Ciflur” when applied to the skin exceeds 2500 mg/kg body weight, which allows it to be classified as hazard class 4 according to the International Standard GOST 12.1.007-76, or category 5 according to the International Global Classification of Harmonized System (GHS). Only the application of “Ciflur” at the highest dose (2500 mg/kg body weight) caused a slight short-term reddening of the skin in some experimental rats, which disappeared without intervention for 4–8 hours.

**Key words:** acute toxicity, “Ciflur”, rats, infectious disease, disinsection.

## Фармако-токсикологічні властивості препарату “Цифлур” як профілактичного засобу за нодулярного дерматиту

A. B. Березовський, Т. І. Фотіна, А. Ж. Рогатова, П. Г. Бондаренко, Л. В. Нагорна, С. М. Назаренко

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

У статті наведені дані щодо вивчення фармако-токсикологічних властивостей препарату “Цифлур” як профілактичного засобу за нодулярного дерматиту. Нодулярний дерматит спричиняє значні економічні втрати через те, що викликає тимчасове зниження молочної продуктивності, тимчасову або постійну стерильність биків-плідників, ураження шкіри, а також загибель хворих тварин унаслідок вторинних інфекцій. Специфічні методи лікування не розроблені. Для профілактики ефективним є дезінсекція тваринницьких приміщень. З цією метою було розроблено новий препарат “Цифлур”. 1 мл препарату містить діючу речовину: цифлутрин – 10,0 мг. Дослідження токсичності препарату та оцінку отриманих результатів проводили відповідно до стандартних методів. Вивчення гострої токсичності препарату “Цифлур” при нашірному нанесенні проводили на 18 білих щурах масою тіла 170–190 г. Тварин розділяли на 3 групи по 6 голів. Щурів утримували у віварії згідно з санітарними правилами та на стандартному раціоні, прийнятими у віварії з використанням комбікорму. Першій групі щурів на шкіру наносили препарат “Цифлур” в дозі 1250 мг/кг, другій – 2500 мг/кг маси тіла. Третя група щурів була контрольною – цим тваринам на шкіру наносили розчинник Сольвессо 200 в кількості 2500 мг/кг маси тіла. Гостру токсичність препарату вивчали при нанесенні препарату на попередньо вистрижену ділянку шкіри на спині, яка становила не менше ніж 10 % від загальної площі поверхні тварини. З метою запобігання надмірному розтіканню по шкірі препарат наносили повільно, підсушуючи теплим повітрям за допомогою фена. Впродовж 14 днів після нашірного нанесення препарату щоденно реєстрували його вплив на виживання щурів, на зовнішній вигляд щурів і прояви порушень фізіологічного стану тварин. Щурів зважували до нанесення препарату, а також через 3, 7 та 14 днів від початку досліджень. Через 14 днів проводили розтин та обстеження внутрішніх органів на наявність можливих уражень, внутрішні органи зважували та розраховували коефіцієнти їх відносної маси. Отже, одноразове нашірне нанесення препарату “Цифлур” в дозах 1250 та 2500 мг/кг маси тіла не спричиняло загибелі піддослідних щурів. LD<sub>50</sub> препарату “Цифлур” при нашірному нанесенні перевищує 2500 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його до 4 класу безпеки згідно з Міжнародним стандартом ГОСТ 12.1.007-76 або до категорії 5 за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS). Лише нанесення препарату “Цифлур” в найбільшій дозі (2500 мг/кг маси тіла) спричиняло незначне короткострокове почервоніння шкіри у частини піддослідних щурів, яке зникало саме без стороннього втручання впродовж 4–8 годин.

**Ключові слова:** гостра токсичність, “Цифлур”, щури, інфекційне захворювання, дезінсекція.

## Вступ

Нодулярний дерматит великої рогатої худоби (вузликова екзантема, заразний вузликовий дерматит, Dermatitis nodulares, Lumpy skin disease) – контагіозне інфекційне захворювання, що характеризується лихоманкою, ураженням лімфатичної системи, набряками підшкірної клітковини та внутрішніх органів, утворенням шкіряних вузлів (бугрів), ураженням очей і слизових оболонок органів дихання та травлення. Хвороба належить до особливо небезпечних хвороб великої рогатої худоби. Нодулярний дерматит спричиняє значні економічні втрати через те, що викликає тимчасове зниження молочної продуктивності, тимчасову або постійну стерильність биків-плідників, ураження шкіри, а також загибель хворих тварин унаслідок вторинних інфекцій. Специфічні методи лікування не розроблені. Хворіє велика рогата худоба, вівці, кози та жуйні дикі тварини. Хвороба включена до списку МЕБ та підлягає обов’язковій нотифікації. Збудником нодулярного дерматиту є ДНК вісний вірус групи Neethling роду *Capripoxvirus* сімейства *Poxviridae*, що має антигенну спорідненість з вірусом віспи овець. Зрілі віріони круглої форми, мають подвійну оболонку, щільну серцевину та бокові тільця. За своєю морфологією вірус ідентичний з вірусом віспи (Nevolko et al., 2017; Nechyporenko et al., 2020).

З метою профілактики ефективним є дезінсекція тваринницьких приміщень. Проводяться заходи, спрямовані на знищення стаціонарних ареалів мешкання комах – переносників збудника хвороби.

**Актуальність теми.** Варто зазначити, що комахи належать до категорії найбільш небезпечних біологічних агентів і є найчисельнішим за видовим різноманіттям класом тварин. Завдяки своїй надзвичайній лабільності й здатності пристосовуватися до умов середовища, які швидко змінюються, популяції комах, які паразитують на продуктивних тваринах, постійно зростають (Kutsan & Ponomarenko, 2003; Abramov et al., 2013; Nagorna, 2016). Нерідко членистоногі є ос-

новними провокаційними чинниками спалахів бактеріозів та віроозів у господарствах.

Ураженню худоби сприяє заселення виробничих приміщень кровосисними комахами, до яких належать гедзі, комарі, мошки, мокриці, москіти, об’єднані під однією народною назвою – гнус. Паразитичні комахи є суттєвою проблемою для світового тваринництва, незважаючи на те, що одним із головних технологічних досягнень ветеринарної науки у ХХ столітті стало створення засобів широкого спектру дії проти збудників екто- та ендопаразитів тварин (Kutsan & Ponomarenko, 2003). Сучасним рішенням даної проблематики наразі є розробка та впровадження у виробництво принципово нових інсектоакарицидів та синергічне поєднання їх діючих речовин у комбінованих препаратах. З цією метою було розроблено новий препарат “Цифлур”. 1 мл препарату містить діючу речовину: цифлутрин – 10,0 мг.

**Метою** досліджень було вивчення фармако-токсикологічних властивостей препарату “Цифлур” як профілактичного засобу за нодулярного дерматиту.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження фармако-токсикологічних досліджень препарату “Цифлур” та оцінку отриманих результатів проводили відповідно до методів викладених в матеріалах (Kosenko et al., 1997; Kotsiumbas et al., 2006) на кафедрі ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету.

Вивчення токсичності препарату “Цифлур” при нашірному нанесенні проводили на 18 білих щурах масою тіла 170–190 г. Тварин розділяли на 3 групи по 6 голів. Щурів утримували у віварії згідно з санітарними правилами та на стандартному раціоні, прийнятими у віварії з використанням комбікорму.

Першій групі щурів на шкіру наносили препарат “Цифлур” в дозі 1250 мг/кг, другій – 2500 мг/кг маси тіла. Третя група щурів була контрольною – цим тва-

ринам на шкіру наносили розчинник Сольвессо 200 в кількості 2500 мг/кг маси тіла. Токсичність препарату вивчали при нанесенні препарату на попередньо вистрижену ділянку шкіри на спині, яка становила не менше ніж 10 % від загальної площі поверхні тварини. З метою недопущення надмірного розтікання по шкірі препарат наносили повільно, підсушуючи теплим повітрям за допомогою фену.

Впродовж 14 діб після нашкірного нанесення препарату щоденно реєстрували його вплив на виживання щурів, на зовнішній вигляд щурів і прояви порушень фізіологічного стану тварин. Щурів зважували до нанесення препарату, а також через 3, 7 та 14 діб від початку досліджень. Через 14 діб проводили розтин тварин та обстеження стану внутрішніх органів на наявність можливих вражень, внутрішні органи зважували та розраховували коефіцієнти їх відносної маси.

**Таблиця 1**

Динаміка зміни маси тіла щурів ( $M \pm m$ ) після нашкірного нанесення препарату “Цифлур” ( $n = 6$ )

Доза препарату “Цифлур”, нанесена на шкіру (мг/кг)	Маса тіла щурів (г) при зважуванні через (діб з початку досліджень)			
	До початку дослідження	3	7	14
1250	174,0 ± 8,2	187,3 ± 9,4	194,0 ± 5,5	201,8 ± 11,0
2500	171,5 ± 7,6	182,7 ± 7,2	192,0 ± 6,5	202,1 ± 10,1
Контрольна група	181,3 ± 8,6	192,0 ± 6,1	198,7 ± 5,2	202,0 ± 9,3

При розтині тварин не спостерігали видимих патологічних змін у внутрішніх органах та тканинах щурів. Також не реєстрували достовірних змін відносних масових коефіцієнтів внутрішніх органів щурів до маси тіла щурів, які визначали в кінці дослідження (табл. 2).

В результаті проведених досліджень встановлено, що одноразове нашкірне нанесення препарату “Цифлур” в дозах 1250 та 2500 мг/кг маси тіла не

**Результати та їх обговорення**

Результати проведених досліджень показали, що одноразове нанесення препарату “Цифлур” на шкіру шурам в дозу 1250 та 2500 мг/кг маси тіла не спричиняло загибелі піддослідних тварин. Із усіх змін, які реєстрували, було лише незначне почервоніння шкіри у трьох із шести піддослідних тварин, яким наносили препарат “Цифлур” в дозі 2500 мг/кг маси тіла, що саме щезало впродовж 4–8 годин без стороннього втручання.

Динаміка зміни маси тіла тварин, яким на шкіру наносили препарат “Цифлур”, за цими показниками не відрізнялися від показників контрольної групи тварин та не відрізнялись між собою (таблиця 1).

спричиняло загибелі піддослідних щурів. Таким чином, LD<sub>50</sub> гостра препарату “Цифлур” при нашкірному нанесенні лежить за межами та перевищує 2500 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його до 4 класу небезпеки згідно з Міжнародним стандартом ГОСТ 12.1.007-76 (GOST 12.1.007-76) або до категорії 5 за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS).

**Таблиця 2**

Масові коефіцієнти внутрішніх органів забитих піддослідних щурів ( $M \pm m$ ) після нашкірного нанесення препарату “Цифлур”

Внутрішні органи	Доза препарату “Цифлур” (мг/кг маси тіла)		
	1250	2500	Контрольна група
Печінка	10,1 ± 0,05	9,9 ± 0,05	10,2 ± 0,06
Легені	1,8 ± 0,02	1,9 ± 0,02	1,9 ± 0,03
Серце	0,91 ± 0,09	0,89 ± 0,09	0,93 ± 0,05
Нирки	1,68 ± 0,06	1,65 ± 0,06	1,66 ± 0,08
Селезінка	1,30 ± 0,08	1,32 ± 0,08	1,32 ± 0,06

Лише нанесення препарату “Цифлур” в найбільшій дозі (2500 мг/кг маси тіла) спричиняло незначне короткострокове почервоніння шкіри у частини піддослідних щурів, яке зникало саме без стороннього втручання впродовж 4–8 годин.

**Висновки**

1. Одноразове нашкірне нанесення препарату “Цифлур” в дозах 1250 та 2500 мг/кг маси тіла не спричиняло загибелі піддослідних щурів. LD<sub>50</sub> препа-

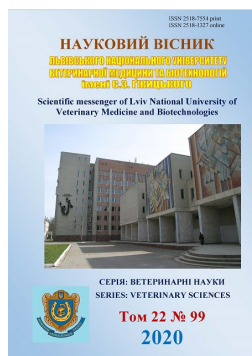
рату “Цифлур” при нашкірному нанесенні перевищує 2500 мг/кг маси тіла, що дозволяє зарахувати його до 4 класу небезпеки згідно з Міжнародним стандартом ГОСТ 12.1.007-76 або до категорії 5 за Міжнародною глобальною класифікацією Global Harmonized System, (GHS).

2. Лише нанесення препарату “Цифлур” в найбільшій дозі (2500 мг/кг маси тіла) спричиняло незначне короткострокове почервоніння шкіри у частини піддослідних щурів, яке зникало саме без стороннього втручання впродовж 4–8 годин.

*Перспективи подальших досліджень.* У подальшому планується вивчити особливості застосування препарату “Цифлур” за профілактики нодулярного дерматиту великої рогатої худоби.

### References

- Abramov, V. E., Kvichko, L. I., Arhipov, I. A., Safarova, M. I., & Birjukova, N. P. (2013). Vliyanie 1 %-nogo rastvora ciflutrina na reproduktivnuju funkciju belyh krys. Rossijskij parazitologicheskij zhurnal, 1, 95–97. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-1-nogo-rastvora-tsiflutrina-na-reproduktivnyuyu-funktsiyu-belyh-krys> (in Russian).
- GOST 12.1.007-76 (1982). SSBT. Vrednye veshhestva. Klassifikacija i obshhie trebovanija bezopasnosti. GOST 12.1.007-76. SSBT. Vved. 1977-01-01; Izmenen N 1; Pereizdan 01.12.81. M.: Izd-vo standartov (in Russian).
- Kosenko, M. V., Malyk, O. H., & Kotsiumbas, I. Ia. (1997). Toksykologichnyi kontrol novykh zasobiv zakhystu tvaryn: metodychni rekomendatsii. K. (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. H., Patereha, I. P. ta in (2006). Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv. za redaktsiieiu I. Ya. Kotsiumbasa. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Kutsan, O. T., & Ponomarenko, O. V. (2003). Vyvchenia vplyvu likovalnoho zasobu «Nuritsyd» na klinichni stan ta hematologichni pokaznyky kroliv za umovy aplikatsii yoho na shkiru tvaryn. Veterynarna medytsyna: Mizh-vid. temat. nauk. Zb., 82, 343–349 (in Ukrainian).
- Nagorna, L. (2016). Pharmaco–toxicological assessment preparation “Tsiflur”. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 18(3(71), 214–217. doi: 10.15421/nvlvet7149.
- Nahorna, L. V. (2016). Vyznachennia teratohennosti preparatu “Tsyflur”. Problemy zoonzhenerii ta veterynarnoi medytsyny: Zb. nauk. prats KhDZVA, 33(2), 86–89. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm\\_2016\\_33%282%29\\_\\_21](http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2016_33%282%29__21)(in Ukrainian).
- Nechyporenko, O., Berezovsky, A., Fotina, T., & Petrov, R. (2020). Determination of the cumulative and skin-resorptive action of the Zoodizin disinfectant. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 22(97), 26–30. doi: 10.32718/nvlvet9705.
- Nevalko, O., Priskoka, V., Kurtiak, B., Svidersky, V., Skovpen, V., Skorokhod, S., Datsenko, R., Moroz, A., & Garkavenko, V. (2017). Trends of infectious diseases definition of risk and forecast. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 19(73), 89–94. doi: 10.15421/nvlvet7319.
- Zakon Ukrainy “Pro veterynamu medytsynu” vid 25 chervnia 1992 r. No2498-XII (zi zminamy i dopovnenniamy). URL: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2498-12> (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9919  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.054.09:615.25:620.3:616.6–08

## Clinical and cost-effectiveness analysis of the methods of therapy and prevention of andrological pathologies using drugs based on ozone and nanobiomaterials

S. V. Naumenko

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

### Article info

Received 11.09.2020  
Received in revised form  
12.10.2020  
Accepted 13.10.2020

Kharkiv State Zooveterinary  
Academy, Academichna Str., 1,  
Mala Danylivka, Dergachi district,  
Kharkiv region, 62341, Ukraine.  
Tel.: +38-097-984-27-62  
E-mail: froka001@gmail.com

*Naumenko, S. V. (2020). Clinical and cost-effectiveness analysis of the methods of therapy and prevention of andrological pathologies using drugs based on ozone and nanobiomaterials. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 120–124. doi: 10.32718/nvlvet9919*

Practical implementation of the latest pharmacological developments is possible provided that their clinical and economic efficiency is assessed. At the same time, the issues of economic feasibility of using the latest diagnostic techniques, as well as means of therapy and prevention of the male reproductive pathologies system remain poorly studied. The aim of the work was to analyze the cost-effectiveness of methods of therapy and prevention of andrological diseases with drugs based on ozonated and nanobiomaterials. The following research tasks were set: to establish the clinical and economic effectiveness of the method of therapy of males for nonspecific balanoposthitis with ozone-containing drugs OCO and Prozon and to determine the economic effect of treatment and prevention methods of alimentary and toxic reproductive diseases in males using drugs based on nanobiomaterials. Clinical and economic efficacy of the treatment method of males with nonspecific balanoposthitis was established by estimating the cost of treatment of animals group with OCO and Prozon by changes in the diseaseduration from treatment to recovery of the fetus compared with conventional antibiotic therapy. The economic effect of therapy and prevention methods of alimentary and toxic reproductive diseases was evaluated by changes in sperm quality and calculated the average number of additional sperm doses received from the males. The duration of the period from the beginning of treatment to recovery in boars with the use of ozone-containing drugs was: when using OKO –  $6.7 \pm 0.18$  days, and Prozon –  $6.1 \pm 0.21$  days, which was less by 0.9–1.5 days compared with the introduction of gentamicin ointment. And in bulls when using the drug OKO – by  $6.7 \pm 0.33$  days, and Prozon –  $5.14 \pm 0.26$  days, which was less by 1.1–2.7 days. At the same time, the cost of treatment of one male was decreased by 42.3 % with the use of OKO and 37.5 % – Prozon. Despite the higher cost of the drug Prozon, its use is more effective due to faster recovery of the malts. An increase in ejaculate volume, sperm motility, concentration based on the results of correction of alimentary and toxic reproductive diseases has been established; the number of sperm with morphological abnormalities, on the other side, was probably reduced. The complex drug “Karafand+OV,Zn” had a high economic effect due to the possibility of additional receipt 6 sperm doses from the boar and 22 from the bull for the correction of reproductive diseases of the alimentary type and 6 sperm doses from the boar and 20 from the bull – toxic type.

**Key words:** reproductive disorders, nonspecific balanoposthitis, sperm quality, pharmacoeconomics.

## Клініко-економічний аналіз ефективності способів терапії і превенції андрологічних патологій за використання препаратів на основі озонованих і нанобіоматеріалів

С. В. Науменко

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна



Практичне впровадження новітніх фармакологічних розробок можливе за умови оцінки їх клініко-економічної ефективності. При цьому маловивченими залишаються питання економічної доцільності використання новітніх діагностичних методик, а також засобів терапії і превенції патологій репродуктивної системи самців. Метою роботи було проведення аналізу економічної ефективності способів терапії і превенції андрологічних захворювань препаратами на основі озонованих і нанобіоматеріалів. Були поставлені такі завдання дослідження: встановити клініко-економічну ефективність способу терапії самців за неспецифічних баланопоститів озоновмісними препаратами ОКО і Прозон та визначити економічний ефект способів терапії і превенції репродуктопатій аліментарного і токсичного типу у самців з використанням препаратів на основі нанобіоматеріалів. Клініко-економічну ефективність способу терапії самців за неспецифічних баланопоститів встановлювали, оцінюючи затрати на лікування групи тварин препаратами ОКО і Прозон за змінами тривалості періоду хвороби від початку лікування до одужання плідника порівняно із загальнозживаною методикою антибіотикотерапії. Економічний ефект способів терапії і превенції репродуктопатій аліментарного і токсичного типів оцінювали за змінами показників якості сперми і обраховували середню кількість додатково отриманих спермодоз від плідника. Тривалість періоду від початку лікування до одужання у кнурів за використання озоновмісних препаратів складала: при застосуванні ОКО –  $6,7 \pm 0,18$  доби, а Прозону –  $6,1 \pm 0,21$  доби, що було меншим на  $0,9-1,5$  доби порівняно з введенням гентаміцинової мазі. А у бугаїв при застосуванні препарату ОКО – на  $6,7 \pm 0,33$  доби, а Прозону –  $5,14 \pm 0,26$  доби, що було меншим на  $1,1-2,7$  доби. При цьому витрати на лікування одного самця зменшились на  $42,3\%$  при застосуванні ОКО і на  $37,5\%$  – Прозону. Незважаючи на більшу вартість препарату Прозон його використання є ефективнішим за рахунок швидшого одужання плідників. Встановлено збільшення об'єму еякуляту, рухливості спермій, концентрації за результатами корекції репродуктопатій аліментарного і токсичного типів; кількість спермій з морфологічними аномаліями, навпаки, було вірогідно зменшено. Комплексний препарат "Карафанд+OV,Zn" мав високий економічний ефект за рахунок отримання 6 спермодоз від кнура і 22 від бугая за корекції репродуктопатій аліментарного типу і 6 спермодоз від кнура і 20 від бугая – токсичного типу.

**Ключові слова:** репродуктопатії, неспецифічні баланопостити, якість сперми, фармакоекономіка.

## Вступ

Актуальність проблеми. Важливою умовою оцінки можливості практичного впровадження новітніх фармакологічних розробок є їхня клініко-економічна ефективність. Дослідженнями даної проблематики займається наука – фармакоекономіка, розвиток якої бере свій початок у 90-х роках минулого століття (Bowling, 1996). На сьогодні фармакоекономічні дослідження стали невід'ємною складовою системи оцінки ефективності новостворених лікарських засобів або раціональності використання коштів, що витрачаються на терапію і профілактику різноманітних захворювань (Yokohama et al., 2007; Tsuji et al., 2012).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Багато досліджень присвячено питанням економічної ефективності антибіотикотерапії як одного з найпоширеніших засобів терапії хвороб інфекційного генезу (Allen et al., 2018; Oppong & Kodabuckus, 2019). Не менше робіт присвячено вивченню економічного ефекту дієтотерапії (Correia & Laviano, 2018).

Встановлення економічного ефекту є провідним завданням при визначенні доцільності тих чи інших лікувальних заходів (Amarasinha, 2010; Hounton & Newlands, 2012; Knapp, 2015). Особливо таких, які вимагають пролонгованого застосування або терапії пацієнтів, що потребують тривалого лікування (Chelmowski, 2006; Ramadhani et al., 2018). Це стосується і проведення комплексної мультисистемної терапії (Vermeulen et al., 2016).

Також провідним завданням фармакоекономіки є визначення рентабельності заходів терапії і превенції різноманітних хвороб (Fleck, 2018; O'Mahony, 2020a). У практиці клінічної медицини необхідно повною мірою враховувати ефективність консервативного або хірургічного способів лікування акушерсько-гінекологічних хвороб та патологій травматичного характеру (Tuletova et al., 2014; Driver et al., 2016; Gelikan, 2019).

Важливе значення для практичної андрології має визначення економічної ефективності кріоконсервації сперми у самців за гонадотоксичної терапії (Mittal & Schubert, 2018). Обґрунтування ефекту засобів лікування пацієнтів за запущених хвороб сечостатевої системи та новоутворень простати і їх діагностики (Henry et al., 2018; Abreha, 2019; O'Mahony, 2020b). При цьому маловивченими залишаються питання економічної доцільності використання новітніх діагностичних методик, наприклад хемілюмінометрії, а також засобів терапії і превенції патологій репродуктивної системи самців (Koshevoy et al., 2019).

Мета роботи – аналіз економічної ефективності способів терапії і превенції андрологічних захворювань препаратами на основі озонованих і нанобіоматеріалів.

Завдання дослідження:

1. Встановити клініко-економічну ефективність способу терапії самців за неспецифічних баланопоститів озоновмісними препаратами ОКО і Прозон.
2. Визначити економічний ефект способів терапії і превенції репродуктопатій аліментарного і токсичного типу у самців з використанням препаратів, на основі нанобіоматеріалів.

## Матеріал і методи досліджень

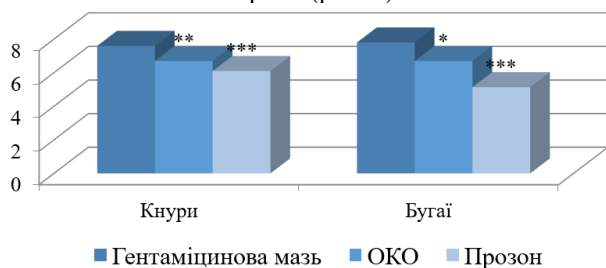
Робота виконана на кафедрі ветеринарної репродуктології Харківської державної зооветеринарної академії. Матеріалом для досліджень слугували дані клінічного і термографічного досліджень самців за неспецифічних баланопоститів (кнури,  $n = 23$  і бугаї,  $n = 18$ ) при лікуванні озоновмісними препаратами; результати оцінки якості сперми самців за терапії і превенції репродуктопатій аліментарного (кнури,  $n = 12$  і бугаї,  $n = 8$ ) і токсичного (кнури,  $n = 10$  і бугаї,  $n = 10$ ) типів препаратами на основі нанобіоматеріалів. Клініко-економічну ефективність способу терапії самців за неспецифічних баланопоститів встановлювали оцінюючи затрати на лікування групи тварин

препаратами ОКО і Прозон за змінами тривалості періоду хвороби від початку лікування до одужання плідника порівняно із загальноновживаною методикою антибіотикотерапії. Економічний ефект способів терапії і превенції репродуктопатій аліментарного і токсичного типів оцінювали за змінами показників якості сперми і обраховували середню кількість додатково отриманих спермодоз від плідника.

### Результати та їх обговорення

Аналіз економічної ефективності новостворених способів терапії або використання певних препаратів як аналогів в існуючих лікувальних схемах є необхідним етапом в оцінці можливості їхнього практичного впровадження (Vermeulen et al., 2016; Henry et al., 2018; O'Mahony, 2020a).

Використання розробленого способу лікування самців за неспецифічних баланопоститів виявило високий клінічний ефект порівняно з традиційною схемою антибіотикотерапії (рис. 1).

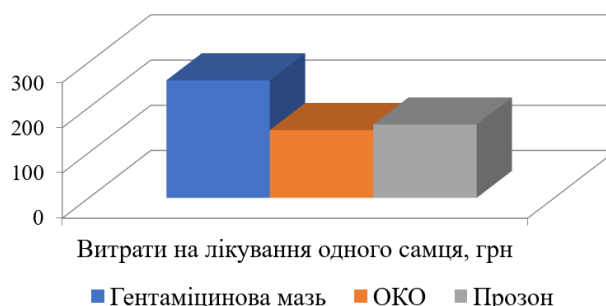


**Рис. 1.** Клінічна ефективність способу лікування самців за неспецифічних баланопоститів, \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$  – порівняно з показниками контролю

Так, тривалість періоду від початку лікування до одужання у кнурів за використання розроблених препаратів складала: при застосуванні ОКО –  $6,7 \pm 0,18$  доби, а Прозону –  $6,1 \pm 0,21$  доби, що було меншим на  $0,9-1,5$  доби порівняно з введенням ген-

таміцинової мазі. А у бугаїв при застосуванні препарату ОКО – на  $6,7 \pm 0,33$  доби, а Прозону –  $5,14 \pm 0,26$  доби, що було меншим на  $1,1-2,7$  доби.

При цьому, озоновмісні препарати мали високу економічну ефективність (рис. 2).



**Рис. 2.** Економічна ефективність використання озонованих препаратів для лікування самців за неспецифічних баланопоститів

Витрати на лікування одного самця за використання озоновмісних препаратів зменшилися на  $42,3\%$  при застосуванні ОКО і на  $37,5\%$  – Прозону. При цьому, незважаючи на більшу вартість препарату Прозон, його використання є ефективнішим за рахунок швидшого одужання плідників.

Отримані результати узгоджуються з даними інших дослідників щодо особливостей оцінки ефекту деяких препаратів, вартісна характеристика яких не завжди виступає головним критерієм їхньої рентабельності (Tsuji et al., 2012; Allen et al., 2018; Fleck, 2018).

Нами розроблений метод оцінки економічної ефективності способів корекції репродуктопатій у самців за оцінкою змін показників якості сперми, зокрема, можливістю додаткового отримання спермодоз від плідників. Ефективність корекції репродуктопатій аліментарного типу наведена у табл. 1.

**Таблиця 1**

Якість сперми самців за репродуктопатії аліментарного типу при корекції комплексним препаратом “Карафанд+OV, Zn” ( $M \pm m, n = 5$ )

Показники	кнури		бугаї	
	до введення	після введення	до введення	після введення
Об’єм еякуляту, мл	$179 \pm 4,33$	$242 \pm 5,08^{**}$	$3,84 \pm 0,86$	$6,39 \pm 0,27^*$
Рухливість, бали	$6,7 \pm 0,23$	$8,1 \pm 0,42^*$	$6,9 \pm 0,14$	$8,3 \pm 0,19^{**}$
Концентрація, млрд/мл	$0,14 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,02^*$	$0,74 \pm 0,09$	$1,16 \pm 0,12^*$
Спермії з морфологічними аномаліями, %	$20,2 \pm 0,31$	$16,8 \pm 0,27^{**}$	$19,1 \pm 0,42$	$11,6 \pm 0,37^{**}$

Примітки: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,001$  – порівняно з показниками групи тварин до введення препарату

З даних таблиці 1 видно, що у плідників спостерігали вірогідне зростання більшості показників якості сперми. Так, об’єм еякуляту кнурів підвищився на  $35,2\%$  ( $P < 0,001$ ), рухливість сперміїв – на  $20,9\%$  ( $P < 0,05$ ), концентрація – на  $50\%$  ( $P < 0,05$ ), кількість сперміїв з морфологічними аномаліями, навпаки, була вірогідно меншою на  $16,8\%$  ( $P < 0,001$ ) показників до введення препарату.

Аналогічні зміни були виявлені й у бугаїв. Об’єм еякуляту збільшився на  $66,4\%$  ( $P < 0,05$ ), рухливість

сперміїв – на  $20,3\%$  ( $P < 0,001$ ), концентрація – на  $56,8\%$  ( $P < 0,05$ ). Кількість сперміїв з морфологічними аномаліями, навпаки, було вірогідно зменшено на  $39,2\%$  ( $P < 0,001$ ).

Підвищення об’єму еякуляту і концентрації сперміїв визначало значний економічний ефект комплексного препарату “Карафанд+OV, Zn”. Додатково на одного самця було отримано 6 спермодоз від кнура і 22 від бугая.

Результати впливу комплексного препарату “Карафанд+OV, Zn” на показники якості сперми за репродуктопатії токсичного типу наведено у табл. 2.

За результатами корекції репродуктопатії токсичного типу встановлено вірогідне збільшення об’єму

еякуляту у бугаїв – на 66,8 % ( $P < 0,001$ ), рухливості спермій – на 26,6 % ( $P < 0,01$ ), концентрації – на 57,7 % ( $P < 0,001$ ). Кількість спермій з морфологічними аномаліями, навпаки, було вірогідно зменшено на 43,2 % ( $P < 0,001$ ).

**Таблиця 2**

Якість сперми самців за репродуктопатії токсичного типу при корекції комплексним препаратом “Карафанд+OV, Zn” ( $M \pm m, n = 5$ )

Показники	Кнури		Бугаї	
	до введення	після введення	до введення	після введення
Об’єм еякуляту, мл	159 ± 4	232 ± 11,58***	3,67 ± 0,21	6,12 ± 0,37***
Рухливість, бали	5,8 ± 0,4	7,2 ± 0,4*	6,4 ± 0,11	8,1 ± 0,33**
Концентрація, млрд/мл	0,137 ± 0,003	0,202 ± 0,012***	0,71 ± 0,04	1,12 ± 0,07***
Спермії з морфологічними аномаліями, %	20,2 ± 0,4	16,4 ± 0,51***	21,3 ± 0,54	12,1 ± 0,29***

Примітки: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$  – порівняно з показниками групи тварин до введення препарату

При цьому у кнурів об’єм еякуляту був більшим на 45,9 % ( $P < 0,001$ ), рухливість – на 24,1 % ( $P < 0,05$ ), концентрація – на 47 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з показниками групи до введення. Вміст спермій з морфологічними аномаліями було вірогідно зменшено на 18,8 % ( $P < 0,001$ ).

Економічний ефект комплексного препарату “Карафанд+OV, Zn” встановлено за підвищенням показників якості сперми, що визначало додаткове отримання 6 спермодоз від кнура і 20 від бугая.

З огляду на поширення фармакоекономічних досліджень в обґрунтуванні необхідності використання засобів терапії і превенції різноманітних патологічних станів видно, що клініко-економічний аналіз має практичну цінність (Bowling, 1996; Hounton & Newlands, 2012; Knapp, 2015; Ramadhani et al., 2018; O’Mahony, 2020a). Аналізуючи отримані результати, бачимо, що розроблені способи корекції репродуктопатій мають економічну доцільність, що дозволяє рекомендувати їх до практичного впровадження.

### Висновки

Отримані результати дозволяють зробити такі висновки:

1. Клініко-економічна ефективність способу терапії самців за неспецифічних баланопоститів з використанням озоновмісних препаратів підтверджена зменшенням тривалості періоду від початку лікування до одужання групи кнурів на 0,9–1,5 доби, бугаїв – на 1,1–2,7 доби, а витрати були меншими на 42,3 % при застосуванні ОКО і на 37,5 % – Прозону порівняно з традиційним способом антибіотикотерапії.

2. Комплексний препарат “Карафанд+OV, Zn” мав високий економічний ефект за рахунок додатково отриманих 6 спермодоз від кнура і 22 від бугая за корекції репродуктопатій аліментарного типу та 6 спермодоз від кнура і 20 від бугая – токсичного типу.

### References

Abreha, S. K. (2019). Model-based cost-effectiveness analysis of external beam radiation therapy for the treatment of localized prostate cancer: a systematic re-

view. *Cost effectiveness and Resource Allocation*, 17(1). doi: 10.1186/s12962-019-0178-3.

Allen, J., David, M., & Veerman, J. L. (2018). Systematic review of the cost-effectiveness of preoperative antibiotic prophylaxis in reducing surgical-site infection. *BJS Open*, 2(3), 81–98. doi: 10.1002/bjs.5.45.

Amarasinhe, A. K. (2010). Cost-effectiveness implications of GP intervention to promote physical activity: evidence from Perth, Australia. *Cost effectiveness and Resource Allocation*, 8(1), 10. doi: 10.1186/1478-7547-8-10.

Bowling, A. (1996). Health interview surveys. Towards international harmonization of methods and instruments. *BMJ*, 313(7068), 1341. doi: 10.1136/bmj.313.7068.1341.

Chelmowski, M. K. (2006). Cost-effectiveness of statins added to aspirin therapy. *Annals of Internal Medicine*, 145(3), 233. doi: 10.7326/0003-4819-145-3-200608010-00019.

Correia, M. I. T. D., & Laviano, A. (2018). Cost-effectiveness of nutrition therapy. *Nutrition*, 50, 109–111. doi: 10.1016/j.nut.2018.01.001.

Driver, V. R., Eckert, K. A., Carter, M. J., & French, M. A. (2016). Cost-effectiveness of negative pressure wound therapy in patients with many comorbidities and severe wounds of various etiology. *Wound Repair and Regeneration*, 24(6), 1041–1058. doi: 10.1111/wrr.12483.

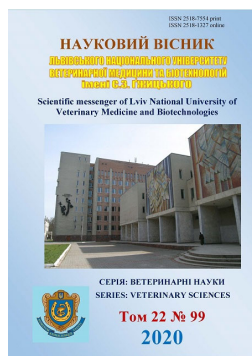
Fleck, L. M. (2018). Controlling healthcare costs: just cost-effectiveness or “just” cost-effectiveness? *Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics*, 27(2), 271–283. doi: 10.1017/s0963180117000603.

Gelickan, G. (2019). Cost-effectiveness of closed incision negative pressure wound therapy for reducing surgical site infection. *The Anatolian Journal of Family Medicine*, 2(3), 126–131. doi: 10.5505/anatoljfm.2019.99609.

Henry, M. A., Leung, A., & Filson, C. P. (2018). Cost considerations for systemic therapy for patients with advanced genitourinary malignancies. *Cancer*, 124(14), 2897–2905. doi: 10.1002/cncr.31355.

Hounton, S., & Newlands, D. (2012). Applying the net-benefit framework for assessing cost-effectiveness of interventions towards universal health coverage. *Cost effectiveness and Resource Allocation*, 10(1), 8. doi: 10.1186/1478-7547-10-8.

- Knapp, M. (2015). The cost-effectiveness challenge: is it worth it? *Alzheimer's Research & Therapy*, 7(1), 10. doi: 10.1186/s13195-015-0095-4.
- Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., & Kavok, N. S. (2019). Estimation of lipid peroxidation state by chemiluminescent method in male rabbits for gonadodystrophy. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 4, 90–94. doi: 10.31890/vtpp.2019.04.18.
- Mittal, R., & Schubert, C. (2018). Cost-effectiveness of cryopreserving sperm in males undergoing gonadotoxic therapy. *Value in Health*, 21, 15. doi: 10.1016/j.jval.2018.07.115.
- O'Mahony, J. F. (2020a). Does cost-effectiveness analysis really need to abandon the incremental cost-effectiveness ratio to embrace net benefit? *Pharmacoeconomics*, 38(8), 777–779. doi: 10.1007/s40273-020-00931-5.
- O'Mahony, J. F. (2020b). Interpreting cost-effectiveness ratios in a cost-effectiveness analysis of risk-tailored prostate screening: a critique of Callander et al. *HRB Open Research*, 3, 23. doi: 10.12688/hrbopenres.13043.1.
- Oppong, R., & Kodabuckus, S. (2019). Cost-effectiveness of outpatients parenteral antibiotic therapy for children with cellulitis. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(10), 1041–1042. doi: 10.1016/s1473-3099(19)30413-x.
- Ramadhani, D., Harahap, U., & Nasution, A. (2018). Cost-effectiveness analysis of counseling in therapy for outpatients with hypertension. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(13), 18. doi: 10.22159/ajpcr.2018.v11s1.26555.
- Tsuji, R., Silva, G., Ortega, K., Berwanger, O., & Mion-Jr, D. (2012). An economic evaluation of antihypertensive therapies based on clinical trials. *Clinics*, 67(1), 41–48. doi: 10.6061/clinics/2012(01)07.
- Tuletova, A., Dochshanova, A., & Skakova, R. (2014). Cost-effectiveness analysis of the therapy of endometriosis. *Value in Health*, 17(7), 511. doi: 10.1016/j.jval.2014.08.1568.
- Vermeulen, K. M., Jansen, D. E. M. C., Knorth, E. J., Buskens, E., & Reijneveld, S. A. (2016). Cost-effectiveness of multisystemic therapy versus usual treatment for young people with antisocial problems. *Criminal Behaviour and Mental Health*, 27(1), 89–102. doi: 10.1002/cbm.1988.
- Yokohama, K., Yang, W., Preblich, R., & Frech-Tamas, F. (2007). Effects of a step-therapy program for angiotensin receptor blockers on antihypertensive medication utilization patterns and cost of drug therapy. *Journal of Managed Care Pharmacy*, 13(3), 235–244. doi: 10.18553/jmcp.2007.13.3.235.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9920  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 577.153.3:577.151.4:616.43

## Aldosereductase: structure, mechanism of action, biological role and functioning according to normo and hyperglycemia

Y. M. Makukh, T. M. Gryvul, A. Ya. Krasnevich, D. S. Vignan

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

### Article info

Received 11.09.2020

Received in revised form

12.10.2020

Accepted 13.10.2020

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-098-457-81-06  
E-mail: grytheo@gmail.com

**Makukh, Y. M., Gryvul, T. M., Krasnevich, A. Ya., & Vignan, D. S. (2020). Aldosereductase: structure, mechanism of action, biological role and functioning according to normo and hyperglycemia. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 125–142. doi: 10.32718/nvlvet9920**

The review summarizes the literature on the structure, biological role and mechanism of action of aldose reductase at different blood glucose levels. Aldosereductase is the first enzyme of the sorbitol (polyol) pathway to glucose metabolism. In mammals, it is a monomeric protein with a molecular weight of 32–56 kDa, has 347–370 amino acid remainders. Its secondary structure consists of  $\alpha$ -helices and  $\beta$ -bends, which alternate in 8 units. The active site of the enzyme is located at the C-terminus of the  $\beta$ -bend and contains a glutathione-binding domain. The active site of aldose reductase consists of two sites: substrate-binding and catalytic. The first is formed mainly by the residues of hydrophilic amino acids, and the second, by hydrophobic ones. The interaction of the enzyme with a coenzyme causes conformational changes in aldose reductase. It is believed that the enzyme functions according to the principle of an ordered “bi-bi” mechanism, that is, the coenzyme binds first, and the oxidized product is released last. The reduction of aldehydes of aldose reductase includes several stages: the interaction of the enzyme with NADPH and the formation of a binary complex, the acceptance of the substrate and the formation of a ternary complex (enzyme-coenzyme-substrate) and the separation of the alcohol-reaction product and the oxidized coenzyme. According to normoglycemia in mammalian cells via the sorbitol pathway, up to 1–3 % of intracellular glucose is restored. Under these conditions, it reduces the content of toxic and reactive aldehydes such as: 4-hydroxy-trans-2-nonenal, malondialdehyde, glyoxal, acrolein and their conjugates with reduced glutathione and carnosine, which are also toxic. Before being excreted from the body, they are reduced by aldose reductase to non-toxic compounds. Thus, the enzyme is one of the components of the body's antioxidant system. Hyperglycemia, which is most pronounced in diabetes, significantly increases the flow of glucose through the sorbitol pathway. The activation of aldosereductase and sorbitol dehydrogenase causes the use of a significant amount of NADPH, which leads to a decrease in antioxidant protection, and the excessive formation of NADH leads to a violation of the ratio of reduced and oxidized forms, known as “pseudohypoxia”. Metabolites of the sorbitol pathway, which are formed in excessive amounts, get toxic effects on metabolism and cellular structures, in particular: sorbitol, as an osmotically active component, causes lens edema, leads to the formation of cataracts, and fructose, fructose-phosphate and 3-deoxyglucosone underlie the pathogenesis of secondary diabetic complications.

**Key words:** sorbitol pathway, aldosereductase, sorbitol dehydrogenase, aldehydes, detoxification, diabetes mellitus, secondary diabetic lesions.

## Альдозоредуктаза: будова, механізм дії, біологічна роль та функціонування за нормо- і гіперглікемії

Є. М. Макух, Т. М. Гривул, А. Я. Красневич, Д. С. Вигнан

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

В огляді узагальнено дані літератури про будову, біологічну роль і механізм дії альдозоредуктази за різних рівнів глюкози у крові. Альдозоредуктаза – перший ензим сорбітолового (поліолового) шляху метаболізму глюкози. У ссавців він є мономерним білком з молекулярною масою – 32–56 кДа, нараховує 347–370 амінокислотних залишків. Його вторинна структура складається з  $\alpha$ -спіралей і  $\beta$ -вигинів, які чергуються по 8 одиниць. Активний центр ензиму розташований в С – кінці  $\beta$ -вигину і містить домен, що зв'язує глутатіон. Активний центр альдозоредуктази складається з двох ділянок: субстратзв'язуючої і каталітичної. Перша формується головним чином залишками гідрофільних амінокислот, а друга – гідрофобними. Взаємодія ензиму з коензимом викликає конформаційні зміни альдозоредуктази. Вважають, що ензим функціонує за принципом впорядкованого “bi-bi” механізму, тобто коензим зв'язується насамперед, а окиснений продукт звільняється останнім. Відновлення альдегідів альдозоредуктазою включає декілька стадій: взаємодія ензиму з NADPH і утворення бінарного комплексу, присяння субстрату і формування потрійного комплексу (ензим-коензим-субстрат) та відділення спирту – продукту реакції і окисненого коензиму. За нормоглікемії в клітинах ссавців по сорбітоловому шляху відновлюється до 1–3 % внутрішньоклітинної глюкози. За таких умов вона впливає на зниження вмісту токсичних і реакційноздатних альдегідів, таких як: 4-гідрокси-транс-2-ноненаль, малоновий діальдегід, гліоксаль, акролейн та їх кон'югатів з відновленим глутатіоном і карнозином, які теж є токсичними. Перед виділенням з організму вони відновлюються альдозоредуктазою до нетоксичних сполук. Таким чином, ензим є одним з компонентів антиоксидантної системи організму. За гіперглікемії, яка найбільш виражена при діабеті, потік глюкози через сорбітоловий шлях значно зростає. Активація альдозоредуктази і сорбітолдегідрогенази спричиняє використання значної кількості NADPH, яке призводить до зниження антиоксидантного захисту, а надмірне утворення NADH – до порушення співвідношення відновленої і окисненої форм, що відоме під назвою “псевдогіпоксії”. Метаболіти сорбітолового шляху, які утворюються в надмірних кількостях, мають токсичний вплив на метаболізм і клітинні структури, зокрема: сорбітол як осмотичноактивний компонент викликає набряк кришталика, що веде до утворення катаракти, а фруктоза, фруктозо-фосфат і 3-дезоксиглюкозон лежать в основі патогенезу вторинних діабетичних ускладнень.

**Ключові слова:** сорбітоловий шлях, альдозоредуктаза, сорбітолдегідрогеназа, альдегіди, детоксикація, цукровий діабет, вторинні діабетичні ускладнення.

## Вступ

Рівень глюкози в клітинах ссавців за еуглікемії перебуває у межах 3,8–6,1 мМ/Л. Переважна її кількість під дією гексокінази і глюкокінази за участю АТФ перетворюється в глюкозо-6-фосфат і метаболізується в основному через гліколітичний і в меншій мірі – через пентозофосфатний шлях. Крім цих основних шляхів, глюкоза може відновлюватись до шестиатомного спирту – сорбітолу, який окиснюється до фруктози. Це мінорний – сорбітоловий (поліоловий) шлях її метаболізму, який вперше був описаний у 1956 році (Hers, 1956). Він представлений двома окисно-відновними ензимами: альдозоредуктазою – АлР (КФ 1.1.1.21) і сорбітолдегідрогеназою – СДГ (КФ 1.1.1.14). АлР за участю NADPH відновлює глюкозу до сорбітолу, який СДГ за участю НАД<sup>+</sup> окиснюється до фруктози. Щодо лімітуючого ензиму цього шляху на сьогодні немає єдиної думки (Hers, 1956; Jeffery & Jornval, 1983; Busik et al., 1997; Kuchmerovska, 1999; Amano, 2003; Dagher et al., 2004; Zengraf, 2006; Zopf et al., 2009). АлР належить до сімейства альдо-кеторедуктаз (Bohren et al., 1989; Jez et al., 1997; Jez et al., 1997; Jez et al., 1997; Jez & Penning, 2001) і локалізована в цитоплазмі більшості клітин (Terubashi et al., 1989; Ohta et al., 1991).

За нормальних умов в тканинах організму перетворення глюкози сорбітоловим шляхом незначне – воно становить близько 1,0 %. Виняток становлять еритроцити людини, в яких перетворення цим шляхом може досягати до 3,0 % (Morrison et al., 1980; Efimov et al., 1987).

Однак при гіперглікемії (>7.0 мМ/Л) перетворення глюкози сорбітоловим шляхом досягає 7,0–10,0 % (Efimov et al., 1987; Balabolkin & Islambekov, 1989), а в окремих випадках і 30 % (Kinoshita, 1965; Gonzales et al., 1984; Kador et al., 1985; Jabe-Nishimura, 1988; Chung et al., 2003). Оскільки за гіперглікемії гексокіназа насичена глюкозою і не здатна в більших обсягах каталізувати її перетворення до глюкозо-6-

фосфату, тому зростає активність альдозоредуктази (Kador et al., 1985; Jabe-Nishimura, 1988; Chung et al., 2003; Berrone et al., 2006).

**Будова альдозоредуктази.** АлР тканин ссавців є мономерним білком (Das et al., 1988; Vander Jagt et al., 1988; Kawasaki et al., 1989; Morjana & Flynn, 1989; El-Kabbani et al., 1989; Jez & Penning, 2001), хоча є повідомлення про її димерну структуру (Attwood & Doughty, 1974). Молекулярна маса АлР коливається в досить широких межах: у мозку людини, бика і свині – 33–56 кДа (Boghosian & Mc Guinness, 1979; Wermuth et al., 1982; Wermuth & Von Wartburg, 1982; Srivastava et al., 1984; Yoo & McGuinness, 1987), еритроцитах людини – 32,5–33 кДа (Srivastava et al., 1984; Das & Srivastava, 1985), кришталиках свині, бика, щура, кролика – 32–45 кДа (Tanimoto et al., 1983; Halder & Grabbe, 1984; Das et al., 1985; Kador et al., 1986). Молекулярна маса димерного ензиму печінки свині складає 61 кДа, а мономерів – 30,5 кДа (Attwood & Doughty, 1974), тобто за молекулярною масою істотно не відрізняється від мономерів з інших тканин.

Амінокислотний склад гомогенної АлР з мозку свині та м'язів свині кроля і людини відповідно нараховує 370, 363 і 347, 361 амінокислотних залишків (Cromlish & Flynn, 1983; Cromlish & Flynn, 1983; Yoo & McGuinness, 1987; Morjana & Flynn, 1989).

АлР людини кодується одним геном, який локалізований в ділянці хромосоми 7q35 (Graham et al., 1991; Graham et al., 1991). Незважаючи на те, що клітини людини і тварин містять багато нефункціональних псевдогенів ензиму (Graham et al., 1991; Brown et al., 1992) дослідження послідовності кДНК показують експресію тільки однієї форми АлР в різних тканинах людини: сітківці ока, м'язі (Nishimura et al., 1990), плаценті (Bohren et al., 1989) і печінці (Graham et al., 1989).

Кристалграфічними дослідженнями структури апоензиму свині (Rondeay et al., 1992), холоензиму людини (Bohrani et al., 1992; Wilson et al., 1992) та свині (Urrhumtsev et al., 1992) встановлено, що вто-

ринна структура АлР складається з  $\alpha$ -спіралей і  $\beta$ -структур, які чергуються по 8 одиниць. Альдозоредуктаза має бочкоподібну форму (Banner et al., 1975). Ядро ензиму формують вісім паралельно розміщених  $\beta$ -структур. Сусідні елементи цих структур з'єднані за допомогою такої ж кількості паралельних  $\alpha$ -спіралей, що мають антипаралельний напрям щодо  $\beta$ -структур. Характерно, що  $\beta$ -структури розташовані в центрі і утворюють центральну структуру, а  $\alpha$ -спіралі розташовані на периферії і покривають  $\beta$ -структури (рис. 1).

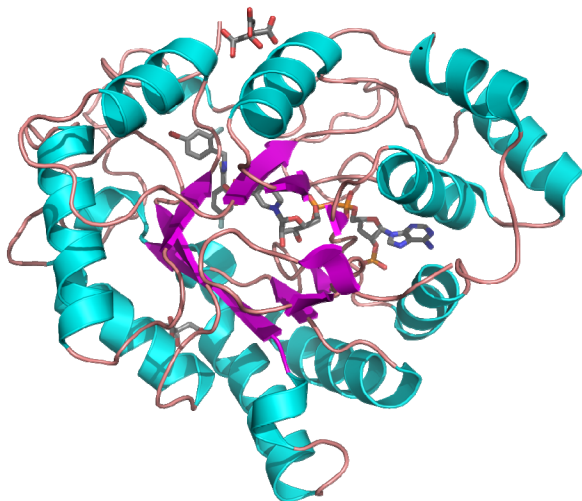


Рис. 1. Будова альдозоредуктази (Biadene, 2006)

Третинна структура АлР, як у всіх мономерних ензимів, відіграє вирішальну роль в її каталітичній активності. Вона визначає її форму загалом і формує активний центр із хімічних груп, розташованих в різних кінцях амінокислотного ланцюга, а також забезпечує відповідне розташування груп, які зв'язують субстрат. Це призводить до утворення структури комплементарної молекули субстрату, визначаючи таким чином специфічність ензиму (Dikson & Ujebb, 1982).

Найважливішою структурою АлР є активний центр, який розташований в С-термінальному кінці  $\beta$ -структури (Urrhumtsev et al., 1992) і має вигляд глибокої впадини довжиною 15.0 А, шириною 4.0 А і глибиною 15.0 А. Встановлено, що активний центр АлР людини має дві ділянки, а саме: зв'язуючу ділянку, яка зв'язує аніон, і каталітичну гідрофобну, яка може бути у відкритому або закритому положенні залежно від природи зв'язуючого ліганду. Таким чином, ділянка, що зв'язує аніон проявляє здатність до індукованої відповідності, в той час як каталітична ділянка є жорсткою і викликає зміни у молекулі субстрату (Steuber et al., 2007). Каталітичну ділянку формують дві групи залишків амінокислот.

Перша група містить, головним чином, гідрофільні залишки: Asp-43, Trp-48, Lys-77, His-110, Ser-159, Asn-160, Glu-183, Trp-209. Вони утворюють велику кількість водневих зв'язків з коензимом – NADPH. Такі амінокислоти, як Ser-159, Asn-160 і Glu-183 водневими зв'язками з'єднані з амідною групою нікотинамиду і забезпечують оптимальну позицію нікоти-

намідного кільця коензиму для стереоселективного перенесення атома Гідрогену на відповідний субстрат. Крім залишків амінокислот, водневі зв'язки утворюють і декілька впорядкованих молекул води. Одна з таких молекул розташована в каталітичній ділянці між амінокислотами Trp-48 і His-110, а залишок Trp-209 стабілізує позитивний заряд ароматичної системи при окисненні NADPH до NADP<sup>+</sup> (Urrhumtsev et al., 1992).

Друга група амінокислотних залишків, які локалізовані в каталітичній ділянці, утворюють так звану гідрофобну групу: Trp-20, Trp-79, Trp-111, Phe-122, Trp-219, Trp-48, Phe-115, Ala-299, Trp-309, Pro-310 (Wilson et al., 1992). Вона за кількістю амінокислотних залишків незначно відрізняється від першої, а більшою мірою відрізняється їх якісним складом (Urrhumtsev et al., 1992). Дослідження будови структурних комплексів АлР із її інгібіторами – толрестатом і сорбінілом показало, що ця група амінокислотних залишків повністю формує поверхню активного центру і утворює велику кількість зв'язків з субстратами (Urrhumtsev et al., 1992).

Дослідження структури ензим-інгібіторного комплексу АлР-зополрестат підтвердило існування специфічної ділянки, яка сформована залишками амінокислот другої групи – Trp-113, Phe-115, Val-130, Ser-302 і Cys-303. Залишки амінокислот Trp-111, Phe-122 і Leu-300 беруть участь в утворенні обох ділянок активного центру. В ній також виявлено близько десятка молекул води (Urrhumtsev et al., 1992).

**Зв'язування коензиму.** Порівняльний аналіз кристалічної структури апоензиму і холоензиму (Wilson et al., 1992; Bohrani et al., 1992) свідчить про те, що взаємодія апоензиму з коензимом (NADPH) викликає багато конформаційних змін в ньому. NADPH приєднується до дна каталітичного центру (Bohrani et al., 1992; Rondeay et al., 1992), а його нікотинамідне кільце локалізоване в центрі циліндричної структури в С-кінці  $\beta$ -сегменту (Rondeay et al., 1992; Wilson et al., 1993). Вважають, що С-кінцевий домен відіграє вирішальну роль для відповідної орієнтації субстратів в активному центрі ензиму (Bohren et al., 1992). Видовжена конформація NADPH виявлена також при його зв'язуванні в активному центрі глутатіонредуктази (Schulz et al., 1978; Pai & Schulz, 1983).

Найсуттєвіші конформаційні зміни спостерігаються у сьомій петлі, яка простягається вище зв'язаного коензиму. Так, амінокислотні залишки Trp-20 і Lys-21 всередині цієї петлі займають різні позиції залежно від різних станів АлР – відкритої чи закритої. При цьому роль своєрідної “засувки” виконує ароматичне кільце триптофану і сольовий мостик між залишками амінокислот Lys-21 і Asn-216 (Urrhumtsev et al., 1992).

**Механізм дії ензиму.** Альдозоредуктаза володіє абсолютною груповою специфічністю, оскільки відновлює альдегідну групу різних субстратів.

Переважає більшість дослідників вважає, що АлР відновлює Оксиген карбонільної групи субстрату до гідроксилу послідовним впорядкованим bi-bi механізмом. При цьому насамперед приєднується до ензиму NADPH, а десорбується першим окиснений

продукт (Hoffman et al., 1980; Wermuth et al., 1982; Tanimoto et al., 1986; Das et al., 1988; Grimshaw et al., 1990; Kubiseski et al., 1992; Petrash et al., 1994; Petrash, 2004).

Однак для плаценти людини характерне неупорядковане приєднання субстратів і впорядковане десорбування продуктів реакції – NADP<sup>+</sup> десорбується останнім (Bhatnagar et al., 1988). Для дріжджової АлР механізм реакції залежить від реакції середовища.

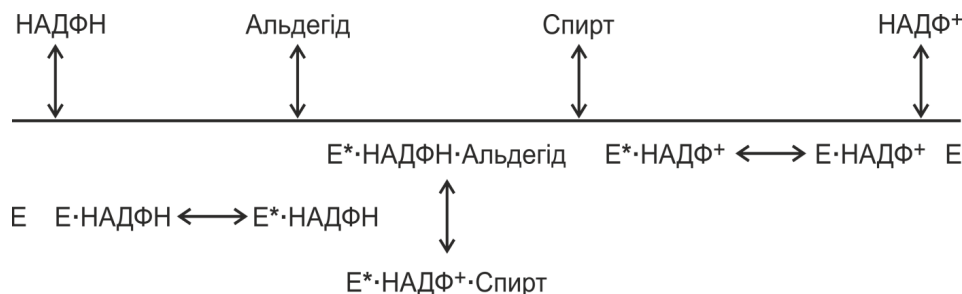


Рис. 2. Схема впорядкованого механізму дії АлР (Petrash et al., 1994)

Перша стадія каталізу – це взаємодія ензиму з NADPH і утворення бінарного комплексу. Приєднання NADPH викликає конформаційні зміни структури АлР ( $E + NADPH \rightarrow E^* \cdot NADPH$ ), які полягають у відповідному повертанні петлі сформованої 213–217 амінокислотними залишками (Bohren et al., 1992).

Друга стадія – це приєднання певного альдегіду і утворення потрібного комплексу ензим-коензим-субстрат ( $E^* \cdot C \cdot S$ ). Утворення продукту реакції, тобто відповідного спирту, проходить шляхом перенесення атому Гідрогену з С-4 атому нікотинамідного кільця відновленого коензиму до атома Карбону карбонільної групи і протонування Оксигену карбонільної групи. Після завершення реакції від потрібного комплексу ( $E^* \cdot C \cdot S$ ) спочатку десорбується спирт, а потім NADP<sup>+</sup>, при цьому конформація ензиму перехідного стану повертається у вихідне положення.

Кінетичні дослідження констант швидкостей, що описують послідовність окремих стадій реакції відновлення альдегіду, показали, що лімітуючою стадією є десорбція NADP<sup>+</sup> із комплексу  $E^* \cdot NADP^+$  (Grimshaw et al., 1990; Kubiseski et al., 1992).

Природа донорів протону є важливою для розуміння механізму каталізу. Методами квантової і молекулярної механіки встановлено, що в активному центрі ензиму є три амінокислотні залишки, віддалі яких до Оксигену карбонільної групи субстрату дозволяє розглядати їх як потенційних донорів протону, зокрема: Тур-48, His-110 і Cys-298 (Siu et al., 1993; Tarle et al., 1993; Bohren et al., 1994; Lee et al., 1998; Varnai et al., 1999; Cachau et al., 2000; Varnai & Warshel, 2000; Dreanic et al., 2000; Petrash, 2004).

Для встановлення фактичного донора протонів були застосовані, крім методів квантової і молекулярної механіки, ще й математичні розрахунки вільної енергії протонування His-110 та визначення рКа Тур-48. Але й вони не дали однозначної відповіді щодо донора протонів. Більшість дослідників вважає ймовірним донором протону Тур-48 (Wilson et al., 1992; Tarle et al., 1993; Bohren et al., 1994; Varnai &

При фізіологічному значенні (pH = 7,5) характерний впорядкований, а при pH = 9,0 – неупорядкований бі-бі механізм (Sheys & Doudty, 1971), а очищений ензим з мозку свині функціонує за механізмом Теорелла-Чанса (Yoo & Mc Guinness, 1987).

Механізм дії АлР полягає у відновленні альдегідів шляхом приєднання NADPH (Рис.2), яке викликає спектроскопічні, кінетичні і конформаційні зміни (Bhatnagar et al., 1988; Petrash, 2004).

Warshel, 2000; Dreanic et al., 2000), інші дослідники – His-110 (Siu et al., 1993; Lee et al., 1998; Varnai et al., 1999; Cachau et al., 2000). Крім того, деякі автори вважають, що відсутність єдиної відповіді зумовлена комбінованим ефектом трьох амінокислот Lys-77, Тур-48, His-110. При цьому Lys-77 поляризує групу ОН Тур-48, яка протонує His-110; останній стає двічі протонуваним і переміщаючись видає протон субстрату, тобто фактичним донором протонів є His-110 (Cachau et al., 2000) (рис. 3).

**Біологічна роль АлР: участь в процесах детоксикації.** Експериментальними дослідженнями встановлено, що крім відновлення глюкози, АлР ще ефективніше впливає на зниження вмісту токсичних для організму альдегідів та їх кон'югатів з GSH утворених у другій фазі трансформації ксенобіотиків. У зв'язку з цим останнім часом фізіологічна роль ензиму була переглянута з точки зору її участі в антиоксидантному захисті.

Коротколанцюгові аліфатичні ненасичені альдегіди у ссавців утворюються із поліненасичених жирних кислот (переважно арахідонової, лінолевої та ліноленової), і фосфоліпідів, при глікозилуванні білків та окисненні амінокислот і вважаються ендогенними ксенобіотиками (Poli et al., 1987; Schneider et al., 1993). У своїй молекулі вони мають подвійний зв'язок між  $\alpha$  і  $\beta$  атомами Карбону, а також наявність оксо- і/або гідроксильної групи.

Деякі з цих альдегідів, зокрема: 4-гідрокси-транс-2-ноненаль (4-ГОНА), малоновий диальдегід, гліоксаль та акролеїн є високореакційними (Poli et al., 1987; Esterbauer et al., 1991; Schneider et al., 1993; Shaur, 2003; Lo Pachin et al., 2009), гено- і цитотоксичними (Benedetti et al., 1980; Eckl, 2003; Riachi et al., 2010). Вони надзвичайно швидко взаємодіють з клітинними нуклеофілами, які містять –SH і –NH<sub>2</sub> функціональні групи: глутатіон, цистеїн, гістидин, лізин та аргінін у складі білків і гуанозином ДНК (Shaur, 2003).



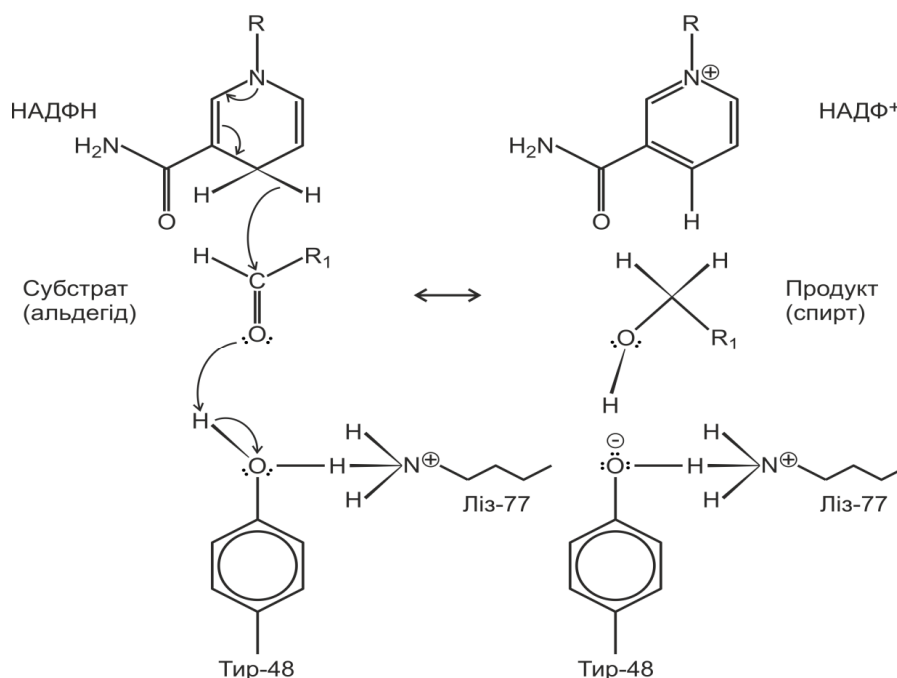


Рис. 3. Схематична модель відновлення альдегідів (Petrash et al., 1994)

Накопичення альдегідів за фізіологічних умов значною мірою залежить від швидкості їх утворення і здатності захисних систем їх знешкоджувати. Детоксикаційні механізми забезпечуються одночасно ензиматичними та неензиматичними реакціями. Оскільки швидкість утворення аддуктів Міхаєла ензиматичним шляхом більш ніж у 600 разів вища, порівняно з неензиматичним, то вирішальну роль відіграють ензиматичні реакції.

Основні ензиматичні реакції першої фази біотрансформації ендogenous ксенобіотиків в організмі представлені NADH- і NADPH-залежними оксидоредуктазами, які каталізують відновлення або окиснення карбонільної групи. До них належать: NADH-залежна алкогольдегідрогеназа, NADPH-залежні альдо- і кеторедуктази, в тому числі і АлП, а також NAD<sup>+</sup>-залежна альдегіддегідрогеназа, яка окиснює карбонільну групу до карбоксильної (Srivastava et al., 1984; Srivastava et al., 1998; Burczynski et al., 2001; Siems & Grune, 2003; Alary et al., 2003; Li et al., 2012; Lyon et al., 2013) та суперродина ензимів цитохрому P-450 (Amunon et al., 2011).

Важливою реакцією другої фази біотрансформації ненасичених альдегідів у клітині, зокрема 4-ГОНА, є їх взаємодія з GSH, яку каталізує глутатіон-S-трансфера (ГлТ) (Burczynski et al., 2001; Alary et al., 2003; Siems & Grune, 2003), активність якої залежить від пулу GSH у клітині (Siems & Grune, 2003). Тому, на нашу думку, некоректно вважати, що альдо-і кеторедуктази репрезентують NADPH-залежний шлях знешкодження ненасичених альдегідів, який є альтернативним до глутатіон-S- трансферазного (Burczynski et al., 2001) оскільки вони здійснюють біотрансформацію на різних стадіях.

Дослідами *in vitro* встановлено, що гомогенна і частково очищена АлП каталізує відновлення насичених і ненасичених альдегідів ефективніше, ніж глюко-

зу та інші шести- і п'ятиатомні моносахариди (Hayman & Kinoshita, 1965; Das & Srivastava, 1985; Negm, 1986; Das et al., 1988; Vander et al., 1988; Kawasaki et al., 1989; Morjana & Flynn, 1989; Srivastava et al., 1995; Srivastava et al., 1998; Srivastava et al., 1999; Xe et al., 1999). З усіх гексоз найповільніше АлП відновлює глюкозу (Morjana & Flynn, 1989), а частково очищена АлП з листя бересклету японського (*Euonymus japonica*) взагалі її не відновлює (Negm, 1986). Ефективність відновлення моносахаридів, на нашу думку, залежить від їхньої будови, кількості гідроксильних груп і довжини карбонового ланцюга. Найкращим субстратам є DL-гліцеральдегід (Das & Srivastava 1985; Negm, 1986; Das et al., 1988; Morjana & Flynn, 1989). Найшвидше альдозоредуктаза відновлює альдегіди циклічної будови, особливо піридин-3-альдегід (Morjana & Flynn, 1989). При цьому природа замісників та їх локалізація суттєво впливають на здатність до відновлення (Morjana & Flynn, 1989).

АлП також каталізує відновлення так званих "core" альдегідів (насичених і ненасичених), які генеруються при пероксидному окисненні фосфоліпідів і етерифікованих альдегідів у складі фосфогліцеридів (Srivastava et al., 2004; Spite et al., 2007) та кон'югати глутатіону з ненасиченими альдегідами. Останні у багатьох випадках відновлюються значно швидше, ніж вільні альдегіди (Dixit et al., 2000; Ramana et al., 2000; Ramana et al., 2001). Варто зазначити, що альдегід-глутатіонові кон'югати, як і вільні альдегіди, теж є токсичними (Chakrabarti & Malic, 1991; Horvath et al., 1992), але вони швидко виводяться з організму (Boon et al., 1999). Відновлення цих кон'югатів з участю АлП веде до утворення відповідних нетоксичних спиртів (Srivastava et al., 1999; Srivastava et al., 2000).

З'ясування ролі АлП у знешкодженні ксенобіотиків допомогло у дослідженні структури ензиму.

Оскільки відновлення альдегід-глутатионових кон'югатів в альдозоредуктазній реакції проходить з високою швидкістю (Dixit et al., 2000; Ramana et al., 2001), то автори спочатку припустили, що активний центр ензиму має домен для зв'язування глутатіону, а потім доказали його наявність і встановили, якими амінокислотами він утворений (Dixit et al., 2000). Молекулярно-динамічними розрахунками встановлено, що кон'югати глутатіону в активному центрі так зорієнтовані, що реалізується вираш вільної енергії від взаємодії ензиму із субстратом (Dixit et al., 2000).

Альдегіди утворюють стабільні ковалентні кон'югати ще з іншими низькомолекулярними пептидами: карнозином, гомокарнозином і анзериним (Zhou & Decker, 1999; Aldini et al., 2002; Liu et al., 2003; Orioli et al., 2007). Карнозин – це ендogenous дипептид, що синтезується в тканинах з високою гліколітичною активністю і наявний у всіх хребетних (Boldyrev et al., 2013; Artioli et al., 2018).

Кон'югати ненасичених альдегідів з карнозином, як із глутатионом, теж є токсичними, оскільки, взаємодіючи з білками, викликають їх модифікацію. Тому перед виділенням з організму вони відновлюються в реакції каталізованій АлР. Це підтверджується тим, що даний феномен відсутній у тканинах мишей з недостатністю ензиму. Крім того, дослідженнями метаболітів в сечі мишей дикого типу і з недостатністю АлР, а також людей встановлено, що кон'югати карнозину з альдегідами найбільше виділяються у відновленій формі (Baba et al., 2013).

Утворення альдегід-карнозинових кон'югатів є важливим процесом для їх виведення з організму мишей. При цьому редукція кон'югатів каталізується АлР, оскільки було встановлено, що *in vitro* відновлення карнозин-альдегідних аддуктів проходить за участю очищеної АлР. Ще одне підтвердження участі ензиму полягає у тому, що генетична делеція АлР в мишей знижує появу відновлених форм кон'югатів у сечі. Відносно низька активність АлР виявлена при відновленні аддуктів карнозину і 4-ГОНА, можливо, зумовлена здатністю 4-ГОНА до циклізації, при якій закривається доступ до вільної альдегідної групи, яку “взнає” ензим (Baba et al., 2013).

Отже, результати досліджень переконливо доводять, що АлР трансформує ендogenous альдегіди незалежно від їхньої концентрації (Brownlee, 2005; Srivastava et al., 2005; Xie et al., 2013), а глюкозу відновлює при дуже високих її концентраціях (Brownlee, 2005) і тільки в альдегідній формі. Крім того, вона є потужним компонентом антиоксидантної системи організму (Makukh et al., 2007; Baba et al., 2013).

**Функціонування АлР за гіперглікемії:** Стійка гіперглікемія спостерігається при цукровому діабеті – хронічному порушенні обміну вуглеводів, жирів і білків, яке характеризується зниженням використання вуглеводів та надмірним глікогенолізом і глюконеогенезом з використанням аміно- і жирних кислот (Dotta & Ciddi, 2014). Діабет наскільки поширений у світі, що окремі дослідники вважають його епідемією (Kowlury & Chen, 2007; Tarr et al., 2013).

При гіперглікемії, яка характерна для діабету, зростає активність АлР в кришталику, що веде до накопичення в ньому сорбітолу (Kador et al., 1985; Jabe-Nishimura, 1988; Chung et al., 2003; Berrone et al., 2006). Останній є осмолітом і спричиняє осмотичний набряк волокон та епітеліальних клітин кришталика внаслідок порушення йонного балансу та інсолюбілізації білків, що призводить до утворення “цукрової” катаракти (Van Heyningen, 1958; Kinoshita, 1974; Kinoshita et al., 1979; Kinoshita et al., 1981).

Окремі автори (Pollreisz & Schmidt-Erfurth, 2010) стверджують, що у кришталику переважає утворення сорбітолу над його окисненням до фруктози. Однак, за даними інших авторів, сорбітол може утворюватися у зворотній реакції (фруктоза→сорбітол) (Makuh & Golovackij, 1989) і навіть швидше, ніж у прямій (Jedziniak et al., 1981).

Через свою будову сорбітол повільно проникає через цитоплазматичні мембрани (Patel et al., 2012; Matebula, 2015), тому накопичується у клітині створюючи так званий “гіперосмотичний ефект”, що є наслідком інфузії рідини у клітину. Дослідження на тваринах показали, що внутрішньоклітинне накопичення поліолів веде до збільшення рідини та пошкодження і розрідження волокон кришталика, що супроводжується біохімічними змінами. В кінцевому підсумку це призводить до помутніння кришталика (Kinoshita, 1965), та утворення катаракти (Kinoshita, 1974; Kinoshita et al., 1979; Kador & Kinoshita, 1984). Крім того, осмотичний стрес в кришталику (Srivastava et al., 2005) викликає загибель епітеліальних клітин (Takamura et al., 2001), що теж веде до утворення катаракти (Li et al., 1995). Результати цих досліджень дали підставу висунути так звану “осмотичну” гіпотезу “цукрової” катаракти, утворення якої зумовлене у відповідь на накопичення у кришталику продуктів альдозоредуктазної реакції – сорбітолу та ін. поліолів.

Трансгенні миші з надекспресією генів АлР і фосфоліпази D2 за гіперглікемічних умов є більш схильні до утворення діабетичної катаракти порівняно з діабетичними мишами з надекспресією тільки фосфоліпази D2 – ключового ензиму осморегуляції в кришталику (Huang et al., 2006). Ці дослідження свідчать про те, що порушення осморегуляторних механізмів робить кришталик чутливим навіть до невеликого зростання активності АлР. Осмотичний стрес навіть у молодих людей з цукровим діабетом 1 типу здатний викликати утворення катаракти шляхом помутніння кортикальних волокон кришталика (Datiles & Kador, 1999; Wilson et al., 2007). Зв'язок АлР з утворенням діабетичної катаракти встановлено також і в дорослих пацієнтів (Oishi et al., 2006).

Отже, накопичення сорбітолу в волокнах кришталика призводить до зростання осмотичного стресу, а потім помутніння, тобто біохімічні зміни спричиняють морфологічні.

Осмотичний стрес, спричинений акумуляцією сорбітолу, викликає стрес в ендоплазматичній сітці і веде до генерації вільних радикалів, що сприяє генерації активних форм кисню (АФК) і призводить до

пошкодження волокон кришталіка (Mulhern et al., 2006).

При діабеті АФК мають різне походження. Так, за високого вмісту глюкози і присутності металів зі змінною валентністю в кришталіку (Lin, 1997) може протікати аутооксидантна реакція між глюкозою і Оксигеном, що призводить до утворення супероксидного радикалу  $O_2^-$  (Wolff & Dean, 1987). Підвищення вмісту вільних радикалів у кришталіку діабетиків погіршує антиоксидантний захист і спричиняє зростання його чутливості до оксидативного стресу. Антиоксидантний захист знижується також при глікозилюванні, яке веде до інактивації антиоксидантних ензимів, зокрема супероксиддисмутази – СОД (Ookawara et al., 1992). Варто зазначити, що Cu-Zn залежна СОД-1 є найважливішим ізоензимом в кришталіку (Behndig et al., 2001), який перетворює супероксидний радикал  $O_2^-$  до менш реакційних  $H_2O_2$  і Оксигену (Mc Cord & Fridovich, 1969). Здатність СОД-1 запобігати розвитку катаракти при діабеті показана на тваринах як *in vivo*, так й *in vitro* (Behndig et al., 2001; Olofsson et al., 2005; Olofsson et al., 2009).

Отже, висунута кілька десятиліть тому гіпотеза про те, що в утворенні діабетичної катаракти ініціюючим фактором є утворення поліолів з глюкози в АЛР реакції, підтверджена багатьма дослідженнями, хоча й не до кінця з'ясована роль зворотної реакції – утворення сорбітолу із фруктози.

Одним із найважчих і широко розповсюджених ускладнень цукрового діабету є діабетична ретинопатія, яка проявляється діабетичною мікроангіопатією – ураженням мікросудин сітківки очного яблука (Son, 2017). Ймовірність виникнення і розвитку захворювання тісно зв'язані насамперед з тривалістю хвороби, рівнем глюкози і ліпідів крові (Tarr et al., 2013).

Серед багатьох молекулярних механізмів розвитку діабетичної ретинопатії значну роль відіграє активація поліолового шляху (Obrosova & Kador, 2010; Safi et al., 2014; Eshad et al., 2017; Gond & Gupta, 2017; Jayasree et al., 2018; Wu et al., 2018; Yan, 2018).

Збільшення перетворення глюкози поліоловим шляхом у сітківці при гіперглікемії вперше виявлено у 1973 році (Dvornic et al., 1973) і протікає так само, як і в інших тканинах (Lorenzi, 2007; Tarr et al., 2013; Safi et al., 2014), а подальшими дослідженнями встановлено, що цим шляхом метаболізується майже її третина (Gonzales et al., 1984). Цей ензиматичний шлях має ряд шкідливих впливів на клітинний метаболізм та індукує значну кількість клітинних пошкоджень. При активації сорбітолового шляху зростає використання NADPH як коензиму. Використовуючи NADPH, АЛР може спричинити його нестачу для ГЛР реакції, яка є вирішальною для підтримання на відповідному рівні внутрішньоклітинного пулу GSH, і таким чином знижувати здатність клітин реагувати на клітинний стрес (Barnett et al., 1986; Matebula, 2015).

Логічно припустити, що для поповнення NADPH компенсаторно повинна б зростати активність ензимів, що генерують NADPH – дегідрогеназ ПФШ, ізоцитратдегідрогенази та малатдегідрогеназа. Однак одержані експериментальні дані є контрверсійними.

Ряд дослідників дійсно виявили, що активність Г-6-ФДГ і/або 6-ФГД в цитоплазмі і субклітинних фракціях деяких внутрішніх і лімфоїдних органів, ретикулоцитах, а також різних відділах головного мозку і сідничному нерві є значно вищою у щурів з експериментальним діабетом (Abdel-Rachim et al., 1992; Lachman et al., 1994; Pereira et al., 1994; Thurston et al., 1995; Gupta & Baquer, 1999). Однак іншими дослідженнями встановлено підвищення активності Г-6-ФДГ у діабетичних щурів тільки головному мозку. (Ulusu et al., 2003).

Проте в цілому ряді робіт одержані цілком протилежні результати, а саме: активність Г-6-ФДГ і 6-ФГДГ або тільки Г-6-ФДГ знижена у печінці, підшлунковій залозі, нейтрофілах, а ізоцитратдегідрогеназа – у серцевому м'язі (Forman & Viringa, 1975; Martins et al., 1986; Alba-Lourenio et al., 2006; Diaz-Flores et al., 2006; Batimic-Haberle & Benov, 2008). Цікавим є повідомлення про зниження активності Г-6-ФДГ у печінці з одночасним її зростанням у нирках (Mc Dermott et al., 1994). На жаль, поза увагою дослідників залишилися комплексні дослідження активності NADPH-генеруючих ензимів у цілій сітківці та її клітинних структурах, а саме: малатдегідрогенази, трансгідрогенази та ізоцитратдегідрогенази, яка є найпотужнішим джерелом NADPH в організмі (Veech et al., 1969; Golovackij, 1978).

Використання  $NAD^+$  в СДГ реакції веде до зростання співвідношення  $NADH/NAD^+$ , такий стан дістав назву “псевдогіпоксія” і спричиняє зміни у метаболізмі та сигнальних системах (Alkateri et al., 2013), які в кінцевому підсумку ведуть до змін функції клітини (Williamson et al., 1993). Крім того, надлишок NADH може служити субстратом для NADH-залежної оксидази і джерелом утворення активних форм Оксигену в клітині (Lasseque & Clempus, 2003).

Через свої властивості сорбітолу у значних кількостях акумулюється в райдужній оболонці та окремих її клітинах (Asnaghi et al., 2003; Obrosova et al., 2003; Drel et al., 2008; Tarr et al., 2013). Як осмоліт він пошкоджує ендотелій судин райдужної оболонки, спричиняє втрату перицитів та потовщення базальної мембрани (Lorenzi, 2007; Tarr et al., 2013), а як багатоатомний спирт створює у райдужній оболонці осмотичний стрес (Lorenzi, 2007; Kitada et al., 2010; Tarr et al., 2013), який посилює окиснювальні реакції і модифікує білки (Forbes & Cooper, 2013). Припускається, що поліоловий шлях індукує ще й інші механізми пошкодження у певних типах клітин райдужної оболонки (Lorenzi, 2007) бо осмотичний стрес не можна викликати у цілій ретині, оскільки вміст сорбітолу в ній при діабеті зростає у 2,7–5,1 разу щодо контролю (Asnaghi et al., 2003; Obrosova et al., 2003) і є недостатнім для створення стресу (Gabbay, 1973). При діабеті паралельно з накопиченням сорбітолу у клітині проходить також нагромадження і фруктози, яка має зовсім інший механізм дії на клітину. Так, під дією фруктозо-3-фосфокінази вона фосфорилується (Lal et al., 1993) і перетворюється у “нетиповий” продукт – фруктозо-3-фосфат (Szwergold et al., 1990), який легко гідролізується з утворенням дезоксиглюкозону (Lal et

al., 1995). Правда, останній може також утворюватись із фруктози (Lozynska & Semchyshyn, 2012; Semchyshyn, 2013). Глюкоза (Ramkissoo et al., 2016), фруктоза і 3-дезоксиглюкозон є сильними глікозилюючими агентами (Suarez et al., 1989; Szwegold et al., 1990; Lal et al., 1995; Lozynska & Semchyshyn, 2012; Semchyshyn, 2013), які ведуть до утворення продуктів глікозилювання. Ці продукти не тільки пошкоджують компоненти клітинного середовища, особливо білки, а й мають опосередковану дію на деякі сигнальні шляхи (Suarez et al., 1989; Kandakis et al., 2014; Singh et al., 2014).

Отже, тільки комплексні дослідження механізмів, які індукують окремими метаболітами поліолового шляху в різних компартментах ока, допоможе зрозуміти молекулярні механізми, що лежать в основі цих ускладнень, і виробити правильну стратегію у їхньому лікуванні.

**Нефропатія.** Ще одним серйозним ускладненням мікросудин при цукровому діабеті є діабетична нефропатія (Dotta, 2014), при якій патологічні зміни виникають у клітинах різних типів – подоцитах, мезангіальних і ендотеліальних клітинах, гломерулярній базальній мембрані, епітелії каналців, а також фіброblastах інтерстицію та судинному епітелії. Тобто, ушкодження стосуються як клубочків так і клітин тубулярної і збираючої системи каналців (Drel et al., 2008; Loboda et al., 2010).

Патогенез діабетичної нефропатії складний. На сьогодні існує декілька теорій виникнення і розвитку цієї патології (Loboda et al., 2010; Shuliarenko, 2013). Метаболічна теорія основну роль відводить активації поліолового шляху і зокрема АлР (Loboda et al., 2010; Luis-Rodrigues et al., 2012; Parchwani & Upadhyay, 2012; Parchwani & Upadhyay, 2012; Grzeszczak et al., 2013; Dotta, 2014; Aghadavoudi et al., 2017; El Gamal & Munusamy, 2017). Однак окремі автори хоча не заперечують участі поліолового шляху і АлР в патогенезі діабетичної нефропатії, але вважають їхню роль не зовсім зрозумілою (Sharma & Sharma, 2013).

В даний час встановлено локалізацію і активність АлР і СДГ в окремих структурах нирки (Terubayashi et al., 1989; Kasajima et al., 2001; Zopf et al., 2009; Shahbazian & Resaai, 2013; Lanaspа et al., 2014), а також вміст в них сорбітолу та фруктози (Tilton et al., 1992; Hashimoto et al., 2014).

В нирковому мезанглії і клітинах проксимальних каналців підвищення рівня глюкози і зростання концентрації сорбітолу супроводжувалось запальними процесами (Lanaspа et al., 2014), зміною рівня міоїнозиту (Haneda et al., 1990), та зниженням АТР-азної активності (Cohen et al., 1988). Ці зміни можуть мати негативний вплив на метаболізм, особливо з використанням енергії АТР. Фруктоза, вміст якої підвищується при діабеті в декілька разів (Terubayashi et al., 1989; Tilton et al., 1992), та її метаболіти – фруктозо-3-фосфат і 3-дезоксиглюкозон (Niwa, 1999) можуть бути токсичними при глікозилюванні білків (Suarez et al., 1989; Szwegold et al., 1990; Lal et al., 1995; Lozynska & Semchyshyn, 2012; Semchyshyn, 2013). Варто зауважити, що окремі дослідники вважають фруктозу

нефротоксином, оскільки фруктозна дієта веде до помірного тубуло-інтерстиціального пошкодження (Lanaspа et al., 2014).

При діабеті в нирках, як і в сітківці, зростає рівень метаболітів сорбітолового шляху та змінюється співвідношення піримідинових нуклеотидів, які використовуються АлР і СДГ. При відновленні глюкози до сорбітолу використовується НАДФН, а при окисації сорбітолу зростає рівень НАДН, тому окисно-відновний потенціал клітин швидко змінюється, що призводить до зниження вмісту GSH – основного низькомолекулярного клітинного антиоксиданта. Використання НАДФН призводить до зміни декількох метаболічних шляхів, зокрема: ПФШ та біосинтезу ліпідів. Активність Г-6-ФДГ – регуляторного ензиму ПФШ гальмується НАДФН за принципом зворотного зв'язку (Luzzatto, 1967). Це створює умови для його активації і супроводжується біосинтезом рибозо-5-фосфату та НАДФН і спостерігається при гіпертрофії нирок у тварин при експериментальному короткотривалому діабеті (Steer et al., 1985).

Зростання кількості НАДН при окисненні сорбітолу до фруктози створює сприятливі умови гіперглікемічно-індукованої “псевдогіпоксії” в діабетичних тканинах, яке супроводжується зростанням співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup>, впливаючи на функцію судин (Williamson et al., 1993). Активація ПФШ може сприяти зростанню співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup>, яке гальмує активність НАД<sup>+</sup>-залежної гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогенази, блокуючи гліколітичне перетворення глюкози (Mochisuki & Neely 1979).

Неюте, як і у випадку утворення ретинопатії, сорбітоловий шлях у нирках проявляє аналогічний вплив метаболітами і коензимами, однак бракує комплексного підходу біохіміків та клініцистів.

**Нейропатія.** Ураження нервової системи хворих на цукровий діабет вважається одним з найчастіших ускладнень, яке охоплює понад 50 % хворих (Pankiv, 2007; Stavniichuk et al., 2012; Cancelliere, 2016). На жаль, механізми діабетичної нейропатії залишаються ще не достатньо вивченими, тому і незрозумілими (Hotta, 1997; Stavniichuk et al., 2012; Pankiv, 2012; Hosseini & Abdollahi, 2013).

Правда, переважна більшість дослідників вважають, що ініціюючим фактором в цих процесах виступає стійка і часом неконтрольована довготривала гіперглікемія (Vincent et al., 2004; Brownlee, 2005; Yagihashi et al., 2011; Yakobchuk et al., 2012; Stavniichuk & Kuchmerovska, 2014; Cancelliere, 2016; Feldman et al., 2017; Zan et al., 2017; Solanki et al., 2018). На думку окремих авторів, вона веде до зростання потоку глюкози через гліколіз, внаслідок чого акумулюються тріозофосфати, з яких утворюється метилглюксаль. За таких умов наступає дисбаланс між утворенням і детоксифікацією реактивних альдегідів, зокрема метилглюксально, що вважається уніфікованим механізмом розвитку і прогресії діабетичної нейропатії (Deshpande et al., 2014). Гіперглікемія викликає цілий каскад метаболічних (Gabbay, 1973; Wright & Nucada., 1994; Ng et al., 1998; Obrosova

et al., 1999; Yagihashi et al., 2001; Serhiienko et al., 2003; Stavniichuk et al., 2012), а пізніше функціональних і структурних змін в центральній та периферичній нервовій системі (Engerman et al., 1994; Cameron et al., 2001; Zychowska et al., 2013; Dixit et al., 2014; Nucada, 2014; Hao et al., 2015). Це є наслідком того, що при гіперглікемії зростає активність поліолового шляху обміну глюкози, а також індуюються інші метаболічні шляхи: утворення кінцевих продуктів глікозилювання, гексозаміновий шлях, активація протеїнази С, оксидативного стресу, посттрансляційної та окисної модифікації білків і процесів перекисного окиснення ліпідів.

Таким чином, при гіперглікемії продукти поліолового шляху накопичуються насамперед в інсулін-незалежних органах, де і проявляють свою дію.

В останні десятиліття досягнуто значних успіхів у вивченні біологічної ролі та участі у вторинних діабетичних ускладненнях поліолового шляху і його ензимів. З часу відкриття поліолового шляху минуло понад шістьдесят років. За цей час створено модель третинної і четвертинної структури АлР і СДГ, встановлено їхню молекулярну масу, амінокислотний склад, вивчено механізм дії АлР, синтезовано цілий ряд інгібіторів цих ензимів. Все більше дослідників вважають, що біологічна роль АлР полягає у відновленні альдегідів різноманітної будови та їх кон'югатів з GSH і карнозином, тобто ензим є одним з елементів антиоксидантної системи. В нирках виконує функцію регулювання осмотичного тиску в клітинах. За умов гіперглікемії АлР перетворює глюкозу, яка при високому рівні є токсичною, в інші метаболіти, що мають свої специфічні шляхи нейтралізації та виведення з організму.

Особлива роль відводиться поліоловому шляху у виникненні цілої низки діабетичних ускладнень – катаракти, ретино-, нефро- та невропатій. А втім, роль поліолового шляху і зокрема АлР остаточно не з'ясована, бо окремі автори вважають, що на основі поліолового шляху важко пояснити всі метаболічні, структурні та функціональні зміни, які наступають за умов гіперглікемії. Також залишаються не зовсім з'ясованими механізми взаємодії ензимів поліолового шляху з іншими шляхами метаболізму, особливо в інсулінонечутливих органах як на органному, так і на клітинному рівні. Необхідні подальші комплексні дослідження при діабеті активності НАДФ- і НАД-залежних дегідрогеназ: АлР, ІцДГ, Г-6-ФДГ, 6-ФГД, малатензиму, ГлР і гліцеральдегід-3-ФДГГ. Це дозволить чітко визначити ті метаболічні зміни, що відбуваються в організмі за умов гіперглікемії, і розробити відповідні ефективні превентивні заходи для їх усунення, особливо в органах, які піддаються дії метаболітів поліолового шляху.

## References

- Abdel-Rachim, E. A., El-Saadami, S. S., Abo-Eytta, A. M., Wasif, M. M. (1992). The effect sammo administration on some fundamental enzymes pentose phosphate pathway and energy metabolites of alloxanized rats. *Nahrung*, 36(1), 8–14. doi: 10.1002/food.19920360103.
- Aghadavoudi, E., Nasri, H., & Amiri, M. (2017). Molecular signaling pathway of diabetic kidney disease: new concepts. *J. Prevent. Epidemiol.*, 2(2), e09. doi: 10.15171/jpe.2017.03.
- Alary, J., Gueraud, F., & Cravedi, J-P. (2003). Fate of 4-hydroxynonenal in vivo: disposition and metabolic pathways. *Mol. Aspects Med.*, 24(4-5), 177–187. doi: 10.1016/s0098-2997(03)00012-8.
- Alba-Lourenio, T. C., Hirabara, S. M., Mendorca, J. R., Curi, R., & Pithon-Curi, T. C. (2006). Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. *J. Endocrinol.*, 188(2), 295–303. doi: 10.1677/joe.1.06438.
- Aldini, G., Carini, M., Beretta, G., Bradanante, S., Facino, R. M. (2002). Carnosine is a quencher of 4-hydroxynonenal. Through what mechanism of reaction reductas. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 298(5), 699–706. doi: 10.1016/S0006-291X(02)02545-7.
- Alkateri, A., Albekairy, A., & Mansour, M. (2013). Diabetic retinopathy: its progression and the effective treatment. *Pharmacologia*, 4(2), 138–156. doi: 10.5567/pharmacologia.2013.138.156.
- Amano, S., Yamagishi, S., Koda, J., Tsuneoka, M., Soejima, M., Okamoto, T., Inagaki, Y., Yamada, K., & Kimura, H. (2003). Polymorphism of sorbitol dehydrogenase (SDH) gene and susceptibility to diabetic retinopathy. *Med. Hypotheses*, 60(4), 550–551. doi: 10.1016/s0306-9877(03)00013-6.
- Amunon, I., Dieter, L. J., Tamasi, V., Cai, J., Conklin, D. J., Srivastava, S., Maptin, M. V., Guengerich, F. P., Prough, R. A. (2011). Cytochromes p450 catalyze the reduction of  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated aldehydes cell. *Chem. Res. Toxicol.*, 24(8), 1223–1230. doi: 10.1021%2Ftx200080b.
- Artioli, G. G., Sale, C., & Jones, R. L. (2018). Carnosine in health and disease. *Eur. J. Sport Sci.*, 2018. doi: 1080/174611391.2018.1444096.
- Asnaghi, V., Gerkardinger, C., Hoehn, T., Adeboje, A., & Lorenzi, M. (2003). A role for the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat. *Diabetes*, 52(2), 506–511. doi: 10.2337/diabetes.52.2.506.
- Attwood, M. A., & Doughty, C. C. (1974). Purification and properties of calf liver aldose reductase. *Biochim. Biophys. Acta*, 370(2), 358–368. doi: 10.1016/0005-2744(74)90097-7.
- Baba, S. P., Hoetker, J. D., Merchant, M., Klein, J. B., Cai, J., Barski, O. A., Conclin, D. J., & Bhatnagar, A. (2013). Role aldose reductase in the metabolism and detoxification of carnosine-acrolein conjugates. *J. Biol. Chem.*, 288, 28163–28179. doi: 10.1074/jbc.m113.504753.
- Balabolkin, M. I., & Islambekov, P. P. (1989). Diabeticheskaja polinejropatija. *Klin. med.*, 57, 135–140 (in Russian).
- Banner, D. W., Bloomer, A.C., Petsko, G.A., Phillips, D. C., Pogson, C. I., Wilson, I. A. Corran, P. H., Furth, A. J., Milman, J. D., Offord, R. E., Priddle, J. D., & Walley, S. S. (1975). Structure of chicken muscle triose phosphate isomerase determined crystallographically.

- ically et 2,5 A resolution amino acid sequence data. *Nature*, 255, 609–614. doi: 10.1038/255609a0.
- Barnett, B. A., Gonzales, R. G., Chylack, L. T., & Cheng, H.-M. (1986). The effect of oxidation on sorbitol pathway kinetics. *Diabetes*, 35, 426–432. doi: 10.2337/diab.35.4.426.
- Batimic-Haberle, J., & Benov, L. T. (2008). An SOD mimic protects NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase against oxidative inactivation. *Free Radic. Res.*, 42, 618–624. doi: 10.1080/10715760802209639.
- Behndig, A., Karlsson, K., Reaume, A. G., Sentam, M.-L., & Marklund, S. L. (2001). In vitro photochemical cataract in mice lacking copper-zink superoxid dismutase. *Free Radic. Biol. and Med.*, 31(6), 738–744. doi: 10.1016/S0891-5849(01)00651-7.
- Behndig, A., Karrlsson, K., Johansson, B. O., Brannstrom, T., & Marclund, S. L. (2001). Superoxid dismutase isoenzymes in the normal and deseased human cornea. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 42(10), 2293–2296. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11527942>.
- Benedetti, A., Comporti, M., & Esterbauer, H. (1980). Identification of 4-hydroxynonenal as a cytotoxic product originating from the peroxidation of liver microsomal lipids. *Biochim. Biophys. Acta. Lipid and lipids metabolism*, 620(2), 281–296. doi: 10.1016/0005-2760(80)90209-x.
- Berrone, E., Beltrano, E., Solimine, C., Ape, A. U., & Porta, M. (2006). Regulation on intracellular glucose and polyol pathway by thiamine and benfothiamine in vascular cell cultured in high glucose. *J. Biol. Chem.*, 281(14), 9307–9313. doi: 10.1074/jbc.m600418200.
- Bhatnagar, A., Das, B., Gavva, S. R., Cook, F., & Srivastava, S. K. (1988). The kinetic mechanism of human placent aldo reductase and aldehyde reductase. *Arch. Biochem. Biophys*, 261(2), 264–274. doi: 10.1016/0003-9861(88)90341-4.
- Biadene, M. (2006). Crystal structures of aldose reductase, C2A domain rabphilin 3A and tests of new re-trains. *Dissertation zur erlangung des doctorates der mathematisch-naturwissenschaften*. Gottingen, 1–118.
- Boghosiam, R. A., & McGuinness, E. T. (1979). Affinity purification and properties of porcine brain aldose reductase. *Biochim. Biophys. Acta*, 567(2), 278–286. doi: 10.1016/0005-2744(79)90113-X.
- Bohrani, D. W., Harter, T. M., & Petrash, J. B. (1992). The crystal structure of the aldose reductase NADPH-binary complex. *J. Biol. Chem*, 267(34), 24841–24847. doi: 10.2210/pdb1abn/pdb.
- Bohren, K. M., Bullock, B., Wermuth, B., & Gabbay, K. (1989). The aldo-ketoreductase superfamily cDNA and deduced amino acid sequence of human aldehyde and aldose reductase. *J. Biol. Chem.*, 264(16), 9547–9551. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2498333>.
- Bohren, K. M., Grimshaw, C. E., & Gabbay, K. H. (1992). Catalytic effectiveness of human al-dose reductase. Critical role of C- terminal domain. *J. Biol. Chem*, 267(29), 20965–20970. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1400412>.
- Bohren, K. M., Grimshaw, C. E., Lai, C. J., Harrison, D. H., Ringe, D., Petsko, G. A., & Gabbay, K. H. (1994). Tyrosine-48 is the proton donor and hystidine-110 direct substrate stereochemical selectivity in the reduction of human aldose reductase: enzyme kinetics and crystal structure of the Y 48H mutant enzyme. *Biochemistry*, 33(8), 2021–2032. doi: 10.1021/bi00174a007.
- Boldyrev, A. A., Aldini, G., & Derave, W. (2013). Physiology and pathophysiology of carnosine. *Physiol. Rev.*, 93(4), 10803–10845. doi: 10.1152/physrev.00039.2012.
- Boon, P. J., Marinho, H. S., Oostin, R., & Mulder, G. J. (1999). Glutathione-conjugate of 4-hydroxy-trans-2,3-nonenal in the rat in vivo, isolated perfused liver and erythrocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 159(3), 214–223. doi: 10.1006/taap.1999.8742.
- Brown, L., Hedge, P.J., Markham, A. F., Graham, A. (1992). A human aldehyde dehydrogenase (aldose reductase) pseudogene: nucleotide sequence analysis and assignment to chromosome 3. *Genomics*, 13(2), 465–468. doi: 10.1016/0888-7543(92)90274-v.
- Brownlee, M. (2005). The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism. *Diabetes*, 54(6), 1615–1625. doi: 10.2337/diabetes.54.6.1615.
- Burczynski, M. E., Sridhar, G. R., Palackal, N. T., & Penning, T. M. (2001). The reactive oxygen species- and Michael acceptor-inducible human aldo-ketoreductase AKR1C1 reduce  $\alpha$ ,  $\beta$  – unsaturated aldehyde 4-hydroxy-2-nonenal to 1,4-dihydroxy-2-none-ne. *J. Biol. Chem*, 276, 2890–2897.
- Busik, J. V., Hootman, S. R., Greenidge, & Henry, D. N. (1997). Glucose specific regulation of aldose reductase in Capan-1 human pancreatic duct cell. *J. Clin. Invest.*, 100(7), 1685–1692. doi: 10.1172/JCI119693.
- Cachau, R., Howard, E., Barth, P., Mitschler, A., Chevrier, B., Lamour, V., Joachimiak, A., Sanishvili, R., & Zandt, M., Sibley, E., Moras, D., & Podjarny, A. (2000). Model mechanism of aldose reductase based on quantum chemical calculation. *J. Phys. IV France*, 10, Pr 10-3 – Pr10-13. doi: 10.1051/jp4:20001001.
- Cameron, N. E., Eaton, S. E., Cotter, M. A., Tesfaye S. (2001). Vascular factors and metabolic interaction in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia*, 44(11), 1973–1988. doi: 10.1007/s001250100001.
- Cancelliere, P. (2016). A review of the pathophysiology and clinical sequel of diabetic polyneuropathy in the feet. *Diabetes, Metabolic Disorders and Control*, 3(2), 21–24. doi: 10.15406/jdmcd.2016.03.00062.
- Cancelliere, P. (2016). A review of the pathophysiology and clinical sequelae of diabetic polyneuropathy in the feet. *Diabetes, Metabol. Disorders and Control*, 3, 21–24. doi: 10.15406/jdmcd.2016.03.00062.
- Catala, A. (2009). Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxyl alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological condition. *Chem. Phys. Lipids*, 157(1), 1–11. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2008.09.004.
- Chakrabarti, S., & Malic, M. A. (1991). In vivo nephotoxic action of an isomeric mixture of S-(1-phenyl-2-hydroxyethyl)glutathione and S-(2-phenyl-2-hydroxyethyl) glutathione in Fisher-344 rats. *Toxicology*, 67(1), 15–27. doi: 10.1016/0300-483X(91)90160-3.
- Chung, S. S., Ho, E. C., Lam, K. S., & Chung, S. K. (2003). Contribution of polyol pathway to diabetes induced ox-

- idative stress. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 14(8), S233–S236. doi: 10.1097/01.asn.0000077408.15865.06.
- Cohen, M. P., Klepser, H. (1988). Glomerular Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> -ATPase activity in acute and chronic diabetes with aldose reductase inhibition. *Diabetes*, 37, 558–562.
- Cromlish, J. A., & Flynn, T. G. (1983). Purification and characterization of two aldose reductase isoenzymes from rabbit muscle. *J. Biol. Chem.*, 258(5), 3416–3424. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6402510>.
- Cromlish, J. A., Flynn, T. G. (1983). Pig muscle aldehyde reductase. Identity on pig muscle aldehyde reductase with pig lens aldose reductase and with the low Km aldehyde reductase of pig brain and pig kidney. *J. Biol. Chem.*, 258(6), 3583–3586. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6339488>.
- Dagher, Z., Park, Y. S., Ashagki, V., Hoehn, T., Gerhardinger, C., & Lorenzi, M. (2004). Studies of rat and human retinas predict a role for the polyol pathway in human diabetic retinopathy. *Diabetes*, 53(9), 2404–2411. doi: 10.2337/diabetes.53.9.2404.
- Das, B., & Srivastava, S. K. (1985). Purification and properties of aldose reductase and aldehyde reductase II from human erythrocyte. *Arch. Biochem. and Bio-phys.*, 238, 670–679. doi: 10.1016/0003-9861(85)90213-9.
- Das, B., Hair, G. A., Ansari, N. H., & Srivastava, S. K. (1988). Isolation and characterization of aldose reductase and aldehyde reductase from bovine lens. *Lens Research*, 5, 233–247.
- Datiles, M. B., & Kador, P. F. (1999). Type 1 diabetic cataract. *Arch. Ophthalmol.*, 117, 284–285.
- Deshpande, D., Hidmark, A., Fleming, T., & Nawroth, P. (2014). Clinical aspects a metabolic mechanism for diabetic neuropathy. *Acta Medica Transilvanica*, 2, 141–144.
- Diaz-Flores, M., Ibanez-Hernandes, M. A., Galvan, R. E., Gutterres, M., Duran-Reyes, G., Medina-Navarro, R., Pascoe-Liza, D., Ortega-Camarillo, C., Vilar-Rojas, C., Crus, M., & Baiza-Gutman, L. A. (2006). Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and NADPH/NADP<sup>+</sup> ratio in liver and pancreas are dependent on the severity of hyperglycemia in rat. *Life Sci.*, 78(22), 2601–2607. doi: 10.1016/j.lfs.2005.10.022.
- Dikson, M., & Ujebb, Je. (1982). *Fermenty*. M., Mir, 2, 397–775 (in Russian).
- Dixit, B. L., Balendiran, G. K., Watowich, S. J., Srivastava, S., Ramana, K. V., Petrach, J. M., Bhatnagar, A., & Srivastava, S. K. (2000). Kinetic and structural characterization of the glutathione-binding site of aldose reductase. *J. Biol. Chem.*, 279(28), 21587–21595. doi: 10.1074/jbc.M909235199.
- Dixit, S., Alahmari, & Asiri, F. (2014). Pharmacological therapies in the management of diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes: a comprehensive review. *J. Cardiovas. Disease Res.*, 5(4), 37–48. doi: 10.5530/jcdr.2014.4.7.
- Dotta, D., & Ciddi, V. (2014). Plants used in the management of diabetic complication. *Indian. J. Pharm. Sci.*, 76(2), 97–106. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4023290>.
- Dreanic, M.-P., Edge, C. M., & Tuttle, T. (2000). New insights into the catalytic mechanism of aldose reductase: QM/MM study. *ACS Omega*, 2(9), 5737–5747. doi: 10.1021/acsomega.7b00815.
- Drel, V. R., Pacher, P., Ali, T. K., Shin, J., Julius, U., El-Remmessy, A., & Obrosova, I. G. (2008). Aldose reductase inhibitor fidarestat co-unters diabetes-associated cataract formation, retinal oxidative-nitrosative stress, glial activation and apoptosis. *Int. J. Mol. Med.*, 21, 667–676. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18506358>.
- Dvornic, E., Simard-Duquesne, N., Craml, M., Sestan, K., Gabbay, K. H., Kinoshita, J. H., Varma, S. D., & Merola, L. O. (1973). Polyol accumulation in galactosemic and diabetic rats: control by aldose reductase inhibitor. *Science*, 182(4117), 1146–1148. doi: 10.1126/science.182.4117.1146.
- Eckl, P. M. (2003). Genotoxicity of HNE. *Mol. Aspects Med*, 24(4-5), 161–165. doi: 10.1016/s0098-2997(03)00010-4.
- Efimov, A. S., Skorbonskaja, N. A., Petah, N. N. (1987). Sorbitolovyy put' obmena glukozy i oslozhneniya saharnogo diabeta. *Probl. Jendokrinol*, 3, 86–90 (in Russian).
- El Gamal, H., & Munusamy, S. (2017). Aldose reductase as a drug target for treatment of diabetic nephropathy: promises and challenges. *Protein and Peptide Letters*, 24(1), 71–77. doi: 10.2174/0929866523666161128153547.
- El-Kabbani, O., Ramsland, P., Darmanin, C., Chung, R. P.-T., & Pojarny, A. (2003). Structure of human aldose reductase holoenzyme in complex with statil: an approach to structure based inhibitor design of the enzyme. *Proteins*, 50(2), 230–238. doi: 10.1002/prot.10278.
- Engerman, R. L., Kern, T. S., & Larson, M. E. (1994). Nerve conduction of aldose reductase inhibition during 5 years of diabetes or galactosemia in dogs. *Diabetologia*, 37(2), 141–144. doi: 10.1007/s001250050084.
- Eshad, R. S., Aldalati, A. M. Z., Alexander, J. S. et al. (2017). Diabetic retinopathy: breaking the barriers. *Pathophysiology*, 24(4), 229–241. doi: 10.1016/j.pathophys.2017.07.001.
- Esterbauer, H., Zollner, H., & Schaur, R. J. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic. Biol. Med*, 11(1), 81–128. doi: 10.1016/0891-5849(91)90192-6.
- Feldman, E. L., Nave, K.-A., Jensen, T. S., & Bennett, D. L. H. (2017). New horizons in diabetic neuropathy: mechanisms bioenergetics and pain. *Neuron*, 93(6), 1296–1313. doi: 10.1016/j.neuron.2017.02.005.
- Forbes, J. M., & Cooper, M. E. (2013). Mechanism of diabetic complication. *Physiol. Rev.*, 93, 137–188. doi: 10.1152/physrev.00045.2011.
- Forman, D. T., & Viringa, K. B. S. (1975). Enzymes changes in diabetes mellitus. *Annals Clin. Lab. Sci.*, 3, 374–385.
- Gabbay, K. (1973). The sorbitol pathway and the complication of diabetes. *New England J. Med.*, 28, 831–836.
- Golovackij, I. D. (1978). Reguljatornye mehanizmy aktivnosti otdel'nyh NADP- i NAD-zavisimyh dehidrogenaz. *Biohimija cheloveka i zhivotnyh*, 2, 38–46 (in Russian).
- Gond, A. K., & Gupta, S. K. (2017). Diabetic retinopathy: role of traditional medicinal plants in its management

- and their molecular mechanism. *Inter. J. Pharm. Sci. Invent.*, 6, 01–14.
- Gonzales, R. G., Barnet, P., Agnayo, J., & Cheng, H. M. (1984). Direct measurement of polyol pathway activity in the ocular lens. *Diabetes*, 33(2), 196–199. doi: 10.2337/diab.33.2.196.
- Graham, A., Brown, L., & Hedge, P. J. (1991). Structure of the human aldose reductase gene. *J. Biol. Chem.*, 266(11), 6872–6877. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1901857>.
- Graham, A., Heath, P., Morten, J. E., & Markham, A. F. (1991). The human aldose reductase maps to chromosome region 7q35. *Hum. Genet.*, 86, 509–514. doi: 10.1007/BF00194644.
- Graham, A., Hedge, P. J., Powell, S. J., Riley, J., Brown L., Gammack, A., Carey, F., & Markham, A. F. (1989). Nucleotide sequence of cDNA for human aldose reductase. *Nucleic Acid Res*, 17, 8368. doi: 10.1093/nar/17.20.8368.
- Graham, A., Szpirer, C., Levan, G., & Carper, D. (1991). Characterization of aldose reductase encoding gene family in rat. *Gene*, 107(2), 259–261. doi: 10.1016/0378-1119(91)90326-7.
- Grimshaw, C. E., Shahbaz, M., & Palney, C. G. (1990). Mechanistic basis for nonlinear kinetics of aldehyde reduction catalysed by aldose reductase. *Biochemistry*, 29(42), 9947–9954. doi: 10.1021/bi00494a027.
- Grimsrud, P.A., Xie, H., Griffin, T. J., Griffin, T. J., & Bemlohr, D. A. (2008). Oxidative stress and covalent modification protein with bioactive aldehydes. *J. Biol. Chem.*, 283(32), 21837–21841. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2494933>.
- Grzeszczak, W., Wystrychowski, G., & Franek, E. (2013). The role of haemodynamik and metabolic factors in the development of diabetic nephropathy. *Postepy Nauk Medycznych*, XXVI(3), 216–219. URL: [http://www.pnmedycznych.pl/wp-content/uploads/2014/08/pnm\\_2013\\_216\\_219.pdf](http://www.pnmedycznych.pl/wp-content/uploads/2014/08/pnm_2013_216_219.pdf).
- Gupta, B. L., & Baquer, N. Z. (1999). Hexokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and antioxidant enzymes in diabetic reticulocytes: effect of insulin and vanadate. *Biochem. and Mol. Biol. Inter.*, 46(6), 1145–1152. doi: 10.1080/15216549800204702.
- Halder, A. B., & Grabbe, M. J. C. (1984). Bovine lens aldehyde reductase (aldose reductase): purification, kinetics and mechanism. *Biochem. J.*, 219(1), 33–39. doi: 10.1042/bj2190033
- Haneda, M., Kikkawa, R., Arimura, T., Ebata, K., Togawa, M., Naeda, S., Sawada, T., Horide, N., & Shigeta, Y. (1990). Glucose inhibits myoinositol content in cultured rat glomerular mesangial cells. *Metabolism*, 39, 39–45. doi: 10.1016/0026-0495(90)-90145-3.
- Hao, W., Tashiro, S., Hasegawa, T., Sato, Y., Kobayfshi, T., Tando, T., Kaisuyama, E., Fujie, A., Watanabe, R., Morita, M., Miyamoto, K., Morioka, H., Nakamura, M., Matsumoto, M., Amizuka, N., Toyama, Y., & Miyamoto, T. (2015). Hypertglycemia promotes Schwann cells de-differentiation and de-myelination via sorbitol accumulation and Igfl protein down – regulation. *J. Biol. Chem.*, 290(28), 17106–17115. doi: 10.1074/jbc.M114.631291.
- Hashimoto, J., Yamagishi, S.-I., Mizucami, H., Yabe-Nishimura, C., Lim, S. W., Kwon, H. M., & Yagihashi, S. (2014). Polyol pathway and diabetic nephropathy revisited: early tubular cell changes and glomerulopathy in diabetic mice overexpressing human aldose reductase. *J. Diabet. Invest.*, 2(2), 111–122. doi: 10.1111/j.2040-1124.2010.00071.x.
- Hayman, S., & Kinoshita, J. H. (1965). Isolation and properties of lens aldose reductase. *J. Biol. Chem.*, 240, 877–882. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14275148>.
- Hers, H. G. (1956). Le mechanism de la transformation de glucose en fructose par les vesicules seminales. *Biochim. Biophys. Acta*, 22, 202–203. doi: 10.1016/0006-3002(56)90247-5.
- Hoffman, P. L., Wermuth, B., von Wartburg, J.-P. (1980). Human brain aldehyde reductase: relationship to succini semi aldehyde reductase and aldose reductase. *J. Neurochem*, 35(2), 354–366. doi: 10.1111/j.1471-4159.1980.tb06272.x.
- Horvath, J. J., Witmer, C. M., & Witz, G. (1992). Nephrotoxicity of the 1:lacrolein-glutathi-one adduct in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 117(2), 200–207. doi: 10.1016/0041-008X(92)90238-N.
- Hosseini, A., & Abdollahi, M. (2013). Diabetic neuropathy and oxidative stress: therapeutic perspective. *Oxidative Med. And Cell. Longevity*, 2013, 168039. doi: 10.1155/2013/168039.
- Hotta, N. (1997). New concepts and insight of pathogenesis: polyol pathway and its inhibition. *Nagoja J. Med. Sci.*, 60, 89–107.
- Huang, P., Jiang, Z., Teng, S., Wong, Y. C., Frohman, M. A., & Chung, S. K. (2006). Synergism between phospholipase D2 and sorbitol accumulation in diabetic cataract formation through modulation Na, K-ATPase activity and osmotic stress. *Experiment. Eye Res*, 83(4), 939–948. doi: 10.1016/j.exer.2006.05.001.
- Jayasree, N., Reddy, V. J., Sudharshini, V. S. et al. (2018). Diabetic retinopathy: an over-view and role herbal plants. *Eur. J. Biomed. and Pharm. Sci.*, 5, 187–194. URL: [https://www.ejbps.com/ejbps/abstract\\_id/4950](https://www.ejbps.com/ejbps/abstract_id/4950).
- Jedziniak, J. A., Chylak, L. T., Cheng, H.-M., & Gillis, K. M. (1981). The sorbitol pathway in the human lens: aldose reductase and polyol dehydrogenase. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 20(3), 314–326. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6782033>.
- Jeffery, J., & Jornval, H. (1983). Enzyme relationships in a sorbitol pathway that byphases glycolysis and pentose phosphate in glucose metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80, 901–905. doi: 10.1073/pnas.80.4.901.
- Jez, J. M., & Penning, T. M. (2001). The aldo-keto reductase (AKR) superfamily: an up-date. *Chem. Biol. Interact.*, 130–132, 499–525. doi: 10.1016/s0009-2797(00)00295-7.
- Jez, J. M., Flynn, T. G., & Penning, T. M. (1997). A new nomenclature for the aldo-keto-reductase superfamily. *Biochem. Pharmacol*, 54(6), 639–647. doi: 10.1016/s0006-2952(97)84253-0.
- Jez, J. M., Flynn, T. G., & Penning, T. M. (1997). A nomenclature system for the aldo-keto-reductase superfamily. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 414, 579–600. doi: 10.1007/978-1-4615-5871-2\_66.



- Jez, J., Bennet, M. J., Schlegel, B. P., Levis, M., & Penning, T. M. (1997). Comparative anatomy of the aldose reductase superfamily. *Biochem. J.*, 326(3), 625–636. doi: 10.1042%2Fbj3260625.
- Kador, P. F., & Kinoshita, J. H. (1984). Diabetic and galactosemic cataracts. *Ciba Foundation Symposium*, 106, 110–131.
- Kador, P. F., Kinoshita, J. H., Brittain, J. D., & Mirrlees, D. J. (1986). Purified lens aldose reductase. Polyol production in vitro and its inhibition by aldose reductase inhibitors. *Biochem. J.*, 240(1), 233–237. doi: 10.1042%2Fbj2400233.
- Kador, P. F., Robinson, W. J. Jr., & Kinoshita, J. H. (1985). The pharmacology of aldose reductase inhibitors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 25, 691–714. doi: 10.1146/annurev.pa.25.040185.003355.
- Kandakis, S. A., Pipen, C., Topouzis, F., & Papavassiliou, A. S. (2014). Emerging role of advanced glycation end products (AGEs) in the pathobiology of eye diseases. *Progress in Retinal and Eye Res*, 42, 85–102. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.05.002.
- Kasajima, H., Yamagishi, S., Sudai, S., Yagihashi, N., & Yagihashi, S. (2001). Enhanced in situ expression of aldose reductase in peripheral nerve and renal glomeruli in diabetic patient. *Virchows Arch.*, 439, 46–54.
- Kawasaki, N., Tanimoto, T., & Tanaka, A. (1989). Characterization of aldose reductase and aldehyde reductase from rat testis. *Biochim. Biophys. Acta*, 996(1–2), 30–36. doi: 10.1016/0167-4838(89)90090-3.
- Kinoshita, J. H. (1965). Pathways of glucose metabolism in the lens. *Invest. Ophthalmol.*, 4, 619–628. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14340173>.
- Kinoshita, J. H. (1965). Cataracts in galactosemia. The Jonas S. Friedenwald memorial lecture. *Invest. Ophthalmol*, 4, 786–799.
- Kinoshita, J. H. (1974). Mechanism initiating cataract formation. Proctor lecture. *Invest. Ophthalmol*, 13, 713–724.
- Kinoshita, J. H., Fukushi, S., Kador, P., & Merola, L. O. (1979). Aldose reductase in diabetic complication of the eye. *Metabolism*, 28(4), 462–469. doi: 10.1016/0026-0495(79)90057-X.
- Kinoshita, J. H., Kador, P., & Catiles, M. (1981). Aldose reductase in diabetic cataract. *J. Am. Med. Assn.*, 246, 257–261.
- Kitada, M., Zkand, Z., Mima, A., & King, G. L. (2010). Molecular mechanism of diabetic vascular complications. *J. Diabet. Invest.*, 1(3), 77–89. doi: 10.1111/j.2040-1124.2010.00018.x.
- Kowlury, R. A., & Chen, P-S. (2007). Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Exp. Diabetes Res.*, 2007, 043603. doi: 10.1155/2007/43603.
- Kresiun, N. V. (2013). Патofізіологічні механізми формування діабетичної ретинопатії та обґрунтування нових підходів до її лікування. *Інтернативна Антропологія*, 1, 43–47 (in Ukrainian).
- Kubiseski, T. J., Hyndman, D. J., Morjana, N. A., & Flynn, T. G. (1992). Studies of pig muscle aldose reductase: kinetic mechanism and evidence for slow conformation change upon coenzyme binding. *J. Biol. Chem.*, 267(10), 6510–6517. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1551865>.
- Kuchmerovska, T. M. (1999). Diabetychna neiropatia. *Endokrynolohiia*, 4, 159–167 (in Ukrainian).
- Lachman, S. S., Sharma, P., Kaur, G., & Kaur, G. (1994). Changes in glucose metabolism from discrete regions of rat brain and its relationship to reproductive failure during experimental diabetes. *Mol. Cell Biol.*, 14(1), 97–102. doi: 10.1007/BF00926172.
- Lal, S., Szwergold, B. S., & Taylor, A. H. (1995). Metabolism of fructose-3-phosphate in the diabetic rat lens. *Arch. Biochem. Biophys*, 247, 191–199.
- Lal, S., Szwergold, B. S., Kapler, F., & Brown, T. (1993). Detection of fructose-3-phosphokinase activity in intact mammalian lenses by <sup>31</sup>P-NMR spectroscopy. *J. Biol. Chem.*, 268, 7763–7767.
- Lanaspa, M. A., Ishimoto, T., Cicerchi, C., Tamura, Y., Roncal-Jimenes, C. A., Chen, W., Tanabe, K., Andres-Hernando, A., Oreicky, D. J., Finol, E., Inaba, S., Li, N., Rivard, C. J., Kosugi, T., Sanchez-Lozada, L. G., Petrush, J. M., Sautin, Y. Y., Ejaz, A. A., Kitagawa, W., Garcia, G. E., Bothron, D. T., Asipu, A. A., Diggle, C. P., Rodrigues-Iturbe, B., Nakagawa, T., & Johnson, R. (2014). Endogenous fructose production and fructokinase activation mediate renal injury in diabetic nephropathy. *J. American Soc. Nephrol.*, 25, 2526–2538. doi: 10.1681/asn.2013080901.
- Lasseque, B., & Clempus, R. E. (2003). Vascular NAD(P)H oxidase: specific features, expression, and regulation. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 285(2), 277–297. doi: 10.1152/ajpregu.00758.2002.
- Lee, J. S., Hodosec, M., Brooks, B. R., & Kador, P. F. (1998). Catalytic mechanism of aldose reductase studied by combined potentials quantum mechanics and molecular mechanics. *Biophys. Chem.*, 70(3), 203–216. doi: 10.1016/S0301-4622(97)00115-4.
- Li, D., Ferrari, M., & Ellis, E. M. (2012). Human aldoketoreductase AKR 7A2 protect against the cytotoxicity and mutagenicity of reactive aldehydes and lowers intracellular reactive oxygen species hamster V79-4 cell. *Chem. Biol. Interact*, 195(1), 25–34. doi: 10.1016/j.cbi.2011.09.007.
- Li, W.-C., Kusza, J. R., Dunn, K., Wang, R. R., Ma, W., Wang, G. M., Spector, A., Leib, M., Cotliar, A. M., & Weiss, M. (1995). Lens lens epithelial cell apoptosis appears to be a common cellular basis for non-congenital cataract development in human and animals. *J. Cell Biol.*, 130(1), 169–181. doi: 10.1083%2Fjcb.130.1.169.
- Lin, J. (1997). Pathophysiology of cataracts. Cooper ion and peroxidation in diabetics. *Jpn. J. Ophthalmol.*, 41(3), 130–137. doi: 10.1016/S0021-5155(97)00030-0.
- Liu, Y., Xu, G., Sayre, L. M. (2003). Carnosine inhibits (E)-4-hydroxy-nonenal-induced protein cross linking. Structural characterization of carnosine-HNE adducts. *Chem. Res. Toxicol.*, 16(12), 1589–1597. doi: 10.1021/tx034160a.
- Loboda, O. M., Dudar, I. O., & Aliexsieieva, V. V. (2010). Механізм розвитку та проGRESування діабетичної нефропатії. *Кліні. імунологія, алергологія, інфектологія*, 9–10, 46–50 (in Ukrainian).

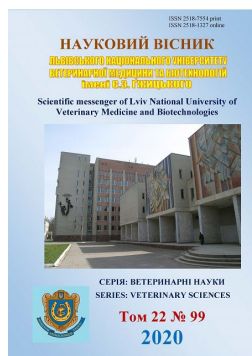
- LoPachin, R. M., Lavin, T., Peterson, D. R., & Barber, D. (2009). Molecular mechanism of 4-hydroxy-2-nonenal and acrolein toxicity. Nucleophilic target and adduct formation. *Chem. Res. Toxicol.*, 22, 1499–1508. doi: 10.1021/tx900147g.
- Lorenzi, M. (2007). Polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient. *Exp. Diabetes Res.*, 2007, 61038. doi: 10.1155/2007/61038.
- Lozynska, L. M., & Semchyshyn, H. M. (2012). Biolo-hichni aspekty ne enzymatychnoho hlikozylivannia. *Ukr. Biokhim. Zhurn.*, 84, 16–37 (in Ukrainian).
- Luis-Rodrigues, D., Martinez-Castelao, A., & Gorriz, J. L. (2012). Pathophysiological role and therapeutic impli-cations in inflammation in diabetic nephropathy. *World J. Diabetes*, 3(1), 7–18. doi: 10.4239/wjd.v3.i1.7.
- Luzzatto, L. (1967). Regulation of the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase by NADP<sup>+</sup> and NADPH. *Biochim. Biophys. Acta (BBA). Enzymology*, 146(1), 23–36. doi: 10.1016/0005-2744(67)90069-1.
- Lyon, R. C., Li, D., Mc Garvie, G., & Ellis, E. M. (2013). Aldo-ketoreductase mediate constitutive and inducible protection against aldehyde toxicity in human neuro-blastoma SH-SY5Y cell. *Neurochem. Inter.*, 62(1), 113–121. doi: 10.1016/j.neuint.2012.10.007.
- Makuh, E. M., & Golovackij, I. D. (1989). Aktivnost' i nekotora ja harakteristika sorbitoldehidrogenazy pecheni, myshe i syvorotki krovi korov. *Nauch. Tehn. Bjull. Ukr. NIIF i B s/h zhivotn.*, 11(2), 24–26 (in Russian).
- Makukh, Ye., Oliiarnyk, O., Vyhnan, D., & Krasnevych, A. (2007). Biokhimiia aldozoreduktazy. *Visnyk Lviv. un-tu im. I Franka. Serii a biolohichna*, 45, 45–62 (in Ukrainian).
- Martins, R. N., Stokes, G. B., & Masters C. L. (1986). Regulation liver and brain hexo-se monophosphate dehydrogenases by insulin and dietary intake in the female rat. *Mol. Cell Biochem*, 70, 169–175. doi: 10.1007/BF00229431.
- Matebula, S. D. (2015). Polyol pathway: possible mecha-nism of diabetes complicati-on in the eye. *African Vision and eye health*, 74(1), a13. doi: 10.4102/aveh.v74i1.13.
- Mc Cord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxid dis-mutase. An enzymic function for erythrocyte (he-mocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244(22), 6049–6055. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5389100>.
- Mc Dermott, B. M., Flatt, P. R., & Strain, J. J. (1994). Effect of cooper deficiency and experimental diabetes on tissue antioxidant enzyme levels in rat. *Ann. Nutr. Metab*, 38, 263–269. doi: 10.1159/000177820.
- Mochisuki, S., & Neely, J. R. (1979). Control of glycer-aldehydes-3-phosphate dehydrogenase in cardial mus-cle. *J. Mol. Cell Cardiol*, 11(3), 221–236. doi: 10.1016/0022-2828(79)90437-1.
- Morjana, N. A., & Flynn, T. G. (1989). Aldose reductase from human psoas muscle. Puri-fication, substrate spec-ificity immunological characterization and effect of drugs and inhibitors. *J. Biol. Chem.*, 264(5), 2906–2911. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2492526>.
- Morrison, A. D., Clements, R. S., Travis, S. B., Oski, F., & Winegrad, A. G. (1980). Glucose utilization by the polyol pathway in human erythrocytes. *Biochem. Bio-phys. Res. Commun*, 40(1), 199–205. doi: 10.1016/0006-291X(70)91066-1.
- Mulhern, M. L., Madson, C. J., Danford, A., Ikesugi, K., Kador, P. F., & Shinohara, T. (2006). The un folded protein response in lens epithelial cells from galacto-semic rat lenses. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 47(9), 3951–3959. doi: 10.1167/iovs.06-0193.
- Negm, F. B. (1986). Purification and properties of an NADPH – aldose reductase (aldehyde reductase ) from *Euonymus japonica* leaves. *Plant. Physiol*, 80(4), 972–977. doi: 10.1104%2Fpp.80.4.972.
- Ng, T. F., Lee, F. K., Song, Z. T., Calcutt, N. A., Lee, A. Y., Chung, S. S., Chung, S. K., Ng, D. T., & Lee, L. W. (1998). Effect of sorbitol dehydrogenase deficiency on nerve conduction in experimental diabetes mice. *Diabe-tes*, 47, 961–966. doi: 10.2337/diabetes.47.6.961.
- Nishimura, C., Matsuura, J., Kokai, J., Akera, T., Carper, D., Morjana, N., Lyons, C., & Flynn, T. G. (1990). Cloning and expression of human aldose reductase. *J. Biol. Chem.*, 265(17), 9788–9792. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2112546>.
- Niwa, T. (1999). 3-deoxyglucosone: metabolism, analy-sis, biological activity, biological activity, and clinical implications. *J. Chromat. Biomed. Sci.*, 146, 18–25.
- Nucada, H. (2014). Ischemia and diabetic neuropathy. *Handbook clinical neurology*, 126, 469–487. doi: 10.1016/B978-0-444-53480-4.00023-0.
- Obrosova, I. G., & Kador, P. (2010). Aldose reduc-tase/polyol inhibitor for diabetic rethinopathy. *Current Pharm. Biotechnol.*, 12(3), 373–385. doi: 10.2174/138920111794480642.
- Obrosova, I. G., Fathallah, L., Lang, H. J., & Greene D. A. (1999). Evaluation of sorbitol dehydrogenase in-hibitor on diabetic peripheral nerve metabolism: a prevention study. *Diabetologia*, 42, 1187–1194. doi: 10.1007/s001250051290.
- Obrosova, I. G., Minchenko, A. G., Vasapuram, R., White, L., Abatan, O. I., Kumagai, A. K., Frank, P. N., & Stevens, M. J. (2003). Aldose reductase inhibi-tor fidarestat prevent retina oxidative stress and vascu-lar endothelial growth factor overexpression in strep-tozotocin – diabetic rats. *Diabetes*, 52(3), 864–871. doi: 10.2337/diabetes.52.3.864.
- Ohta, M., Tanimoto, T., & Tanaka, A. (1991). Localiza-tion, isolation and properties of three NADP-dependent aldehyde reducing enzymes from dog kid-ney. *Biochim. Biophys. Acta*, 1078(3), 395–403. doi: 10.1016/0167-4838(91)90162-s.
- Oishi, N., Moricubo, S., Takamura, Y., Kubo, E., Tsuzu-ki, S., Tanimoto, T., & Acagi, J. (2006). Correlation between adult diadetic cataracts and red blood cell al-dose reductase levels. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 47, 2061–2064. doi: 10.1167/iovs.05-1042.
- Olofsson, E. M., Marklund, S. L., & Behndig, A. (2009). Enhanced diabetic--induced cata-ract copper-zink su-peroxid dismutase null mice. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 50, 2913–2918. doi: 10.1167/iovs.09-3510.
- Olofsson, E. M., Marklund, S. L., Karlsson, K., Brannstrom, T., & Behndig, A. (2005). In vitro glu-cose-induced cataract copper-zink superoxid dis-

- mutase null mice. *Experiment. Eye Res.*, 81(6), 639–646. doi: 10.1016/j.exer.2005.03.022.
- Ookawara, T., Kawamura, N., Kitagawa, J., & Taniguchi, N. (1992). Site specific of random fragmentation of Cu, Zn-superoxid dismutase by glycation reaction. Implication of reactive oxygen species. *J. Biol. Chem.*, 267(26), 18503–18510. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1326527>.
- Orioli, M., Aldini, G., Benfatto, M. C., Facino, R. M., & Carini, M. (2007). HNE Michael adduct to histidine and containing peptide as biomarkers of lipid derived carbonyl stress in urines. LC-MS/MS profiling in Zucker obese rats. *Anal. Chem.*, 79(23), 9174–9184. doi: 10.1021/ac7016184.
- Pai, E. E., & Schulz, G. E. (1983). The catalytic mechanism of glutathione reductase as derived of reaction intermediates domain. *J. Biol. Chem.*, 258(3), 1752–1757. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6822532>.
- Pankiv, V. I. (2007). Diabetychna neiropatiia: patohenez, klinika, diahnozyka. *Mezhdunarodn. Jendokrinol zhurn.*, 4. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/2883> (in Ukrainian).
- Pankiv, V. I. (2012). Patohenetychne likuvannia diabetychnoi neiropatii: kompleksnyi pidkhid. *Mezhdunarodn. Jendokrinol zhurn.*, 7. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/34898>.
- Parchwani, D. N., & Upadhyay, A. H. (2012). Diabetic nephropathy: progression and pathophysiology. *Inter. J. Med. Sci. and Public Health*, 1(2), 59–70. doi: 10.5455/ijmsph.2012.1.59-70.
- Patel, P., Jivani, N., Malaviya, S., & Gohil, T. (2012). Cataract: a major secondary diabetic complication. *Inter. Current Pharmaceut. J.*, 1(4), 180–185. doi: 10.1016/S2222-1808(11)60075-3.
- Pereira, B., Rosa, L. F. B., & Safi, D. A. (1994). Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the lymphoid organs of diabetics rats. *J. Endocrinol.*, 142(1), 113–165. doi: 10.1677/joe.0.1420161.
- Petrash, J. M. (2004). All in the family: aldose reductase and closely related aldo-ketoreductase. *Cell. and Moll. Life Sci.*, 61(7-8), 737–749. doi: 10.1007/s00018-003-3402-3.
- Petrash, J. M., Tarle, I., Wilson, K. D., Quioho, F. A. (1994). Aldose reductase catalysis crystallography. Insights from recent advances in enzyme structure and function. *Diabetes*, 43(8), 955–959. doi: 10.2337/diab.43.8.955.
- Poli, G., Albano, E., & Dianzani, M. U. (1987). The role of lipid peroxidation in liver damage. *Chem. Phys. Lipids*, 45(2-4), 117–142. doi: 10.1016/0009-3084(87)90063-6.
- Pollreisz, A., & Schmidt-Erfurth, U. (2010). Diabetic cataract-pathogenesis, epidemiology and treatment. *J. Ophthalmol.*, 2010, 608751. doi: 10.1155/2010/608751.
- Ramana, K. V., Dixit, B. L., Srivastava, S., Balendrian, G. K., Srivastava, S. K., Bhatnagar, A., & Srivastava, S. K. (2000). Selective recognition of glutathiolated aldehydes by aldose reductase. *Biochemistry*, 39(40), 12172–12180. doi: 10.1021/bi000796e.
- Ramana, K. V., Dixit, B. L., Srivastava, S., Bhatnagar, A., Balendiran, G. K., Watowich, S. J., Petrash, J. M., & Srivastava, S. K. (2001). Characterization of the glutathione binding site of aldose reductase. *Chem. Biol. Interact.*, 130–132, 537–548. doi: 10.1016/S0009-2797(00)00297-0.
- Ramkissoon, J. S., Mahomoodally, M. F., Subratty, A. H., & Ahmed, N. (2016). Inhibition of glucose and fructose-mediated protein glycation by infusions and ethanolic extracts on ten culinary herbs and spices. *Asian Pacific J. Tropical Biomed.*, 6, 492–500.
- Riachi, Y., Cohen, G., Shamni, O., & Sasson, S. (2010). Signaling and cytotoxic function of 4-hydroxyalkenals. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 299(6), E879–E886. doi: 10.1152/ajpendo.00508.2010.
- Rondeay, J.-M., Tete-Favier, F., Pojarny, A., Reymann, J. M., Barth, P., Biellmann, J. F., & Moras, D. (1992). Novel NADPH-binding domain revealed by the crystal structure of aldose reductase. *Nature*, 335, 469–477. doi: 10.1038/355469a0.
- Safi, S. Z., Qvist, R., Kumar, S. et al. (2014). Molecular mechanism of diabetic retinopathy. General preventive strategies, and novel therapeutic targets. *Biomed. Res. Int.*, 2014, 801269. doi: 10.1155/2014/801269.
- Schneider, C., Porter, N. A., & Brash, A. R. (1993). Roles of 4-hydroxynonenal: fundamental issues in the mechanism of lipid peroxidation. *J. Biol. Chem.*, 268, 25687–25693.
- Schulz, G. E., Schirmer, R. H., Sachsenheimer, E. F., & Pai, E. F. (1978). The structure of flavoenzyme glutathione reductase. *Nature*, 273(5658), 120–124. doi: 10.1038/273120a0.
- Semchyshyn, H. M. (2013). Fructation in vivo: Detrimental and protective effect of fructose. *Biomed. Res. Int.*, 2013, 343914. doi: 10.1155/2013/343914.
- Serhiienko, O. O., Yefimov, A. S., Yefimov, D. A., & Kryvko, Yu. Ya. (2003). Diabetychni neiropatii. V-tvo "Atlas", Lviv-Kyiv, 5–212 (in Ukrainian).
- Shahbazian, H., & Resaii, I. (2013). Diabetic kidney disease; review of the current knowledge. *J. Renal Injury Prevent.*, 2(2), 73–80. doi: 10.12861/jrip.2013.24.
- Sharma, V., & Sharma, P. L. (2013). Role of different molecular pathway in the development of diabetes-induced nephropathy. *J. Diabetes and Metabolism*, 59, 004. doi: 10.4172/2155-6156.S9-004.
- Shaur, R. J. (2003). Basic aspects of the biochemical reactivity of 4-hydroxynonenal. *Mol. Aspects Med.*, 24(4-5), 149–159. doi: 10.1016/s0098-2997(03)00009-8.
- Sheys, G. C., & Doudy, G. C. (1971). The reaction mechanism of aldose reductase from *Rhodotorula*. *Biochim. Biophys. Acta*, 224(3), 523–531. doi: 10.1016/0005-2744(71)90145-8.
- Shuliarenko, L. V. (2013). Khronichna diabetychna khvoroba nyrok: suchasnyi pohliad na problemu. *Endocrinologia*, 18, 73–82 (in Ukrainian).
- Siems, W., & Grune, T. (2003). Intracellular metabolism of 4-hydroxynonenal. *Mol. Aspects Med.*, 24(4-5), 167–175. doi: 10.1016/S0098-2997(03)00011-6.
- Singh, V. P., Bali, A., Singh, N., & Jaggi, A. S. (2014). Advanced glycation end products and diabetic complication. *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, 18, 1–14.
- Siu, S. Q., Bhatnagar, A., & Srivastava, S. K. (1993). Bovine lens aldose reductase: pH-dependence of steady-state kinetic parameters and nucleotide bind-

- ing. *J. Biol. Chem.*, 268(34), 25494–25499. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8244985>.
- Solanki N. D., Bhavsar S. K., Randya D. T. (2018). Role of phytotherapy in diabetic neuropathy and neurodegeneration: from pathogenesis to treatment. *J. Phytopharmacol.*, 7(2), 152–161. URL: [http://www.phytopharmajournal.com/Vol7\\_Issue2\\_09.pdf](http://www.phytopharmajournal.com/Vol7_Issue2_09.pdf).
- Son, O. H. (2017). Suchasni pidkhody do likuvannia diabetichnoi retynopatii. *Dosiahnennia biol. ta med.*, 2, 75–80 (in Ukrainian).
- Spite, M., Baba, S. P., Ahmed, J., Barski, O. A., Nijhavan, K., Petrash, M. J., Bhatnagar, A., & Srivastava, S. (2007). Substrate specificity and catalytic efficiency of aldoketo reductases with phospholipid aldehydes. *J. Biochem J.*, 405(1), 95–105. doi: 10.1042%2FBJ20061743.
- Srivastava, S. K., Ansari, N. H., Hair, G., & Das, B. (1984). Aldose and aldehyde reductase in human tissues. *Biochim. Biophys. Acta*, 800, 220–227. doi: 10.1016/0304-4165(84)90399-4.
- Srivastava, S. K., Ramana, K. V., & Bhatnagar, A. (2005). Role aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic option. *Endocrine Rev.*, 26(3), 380–393. doi: 10.1210/er.2004-0028.
- Srivastava, S., Chandra, A., Bhatnagar, A., Srivastava, S. K., & Ansari, N. H. (1995). Lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal and its conjugate with GSH are excellent substrate of bovine lens aldose reductase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 217(3), 741–746. doi: 10.1006/bbrc.1995.2835.
- Srivastava, S., Chandra, A., Wang, L-F., Srivastava, S. K., & Bhatnagar, A. (1998). Metabolism of lipid peroxidation product of 4-hydroxy-trans-2-nonenal in isolated perfused rat heart. *J. Biol. Chem.*, 273(18), 10893–10900. doi: 10.1074/jbc.273.18.10893.
- Srivastava, S., Dixit, B. L., Cai, J., Sharma, S., Hurst, H. E., Bhatnagar, A., & Srivastava, S. K. (2000). Metabolism of lipid peroxidation product, 4-hydroxynonenal (HNE) in rat erythrocytes: role of aldose reductase. *Free Radic. Biol. Med.*, 29(7), 642–651. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00351-8.
- Srivastava, S., Spite, M., Trent, J.O., West, M. B., Ahmed, Y., & Bhatnagar, A. (2004). Aldose reductase catalyzed reduction of aldehydes phospholipids. *J. Biol. Chem.*, 279(51), 53395–53406. doi: 10.1074%2Fjbc.M403416200.
- Srivastava, S., Watowich, S. J., & Petrash, J. M. (1999). Structure and kinetic determinants of aldehyde reduction by aldose reductase. *Biochemistry*, 38(1), 42–54. URL: <https://doi.org/10.1021/bi981794l>.
- Stavniichuk, R. V., & Kuchmerovska, T. M. (2014). Diabetichna neiropatii. Rol 12/15 lipoksyhenazy ta metabolizmu arakhidonovoi kysloty. *Endokrynolohiia*, 19, 156–165 (in Ukrainian).
- Stavniichuk, R., Shevalye, H., Hirooka, H., Madler, J. L., & Obrosova, I. G. (2012). Interplay of sorbitol pathway of glucose metabolism, 12/15 lipoxygenase, and mitogen activated protein kinase in the pathogenesis peripheral neuropathy. *Biochem. Pharmacol.*, 83(7), 932–940. doi: 10.1016/j.bcp.2012.01.015.
- Steer, K. F., Sochor, M., & Mc Lean, P. (1985). Renal hypertrophy in experimental diabetes. Changes in pentose phosphate pathway activity. *Diabetes*, 34(5), 485–490. doi: 10.2337/diab.34.5.485.
- Steuber, H., Zengraf, M., La Motta, C., Sartinia, S., Heine, A., Klebe, H. (2007). Evidence for a novel binding site conformer of aldose reductase in ligand-bound state. *J. Mol. Biol.*, 369(1), 186–197. doi: 10.1016/j.jmb.2007.03.021.
- Suares, G., Rajaram, R., Oronsky, A. I., & Gawinowich, M. A. (1989). Non-enzymatic glycation of bovine serum albumin by fructose (fructation): comparison with the Maillard reaction initiated by glucose. *J. Biol. Chem.*, 264(7), 3674–3679. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2537288>.
- Szwergold, B. S., Kapler, F., & Brown, T. R. (1990). Identification of fructose-3-phosphate in the lens of diabetic rats. *Science*, 247(4941), 451–454. doi: 10.1126/science.2300805.
- Takamura, Y., Sugimoto, Y., Kubo, E., Takahashi, J., & Akagi, Y. (2001). Immunohistochemical study of apoptosis of lens epithelial cell in human and diabetic rats cataract. *Japanes J. Ophthalmol.*, 44(5), 559–563. doi: 10.1016/S0021-5155(00)00238-0.
- Tanimoto, T., Fucuda, H., & Kawamura, J. (1983). Purification and some properties of aldose reductase from rabbit lens. *Chem. and Pharmacol. Bull.*, 31(7), 2395–2403. doi: 10.1248/cpb.31.2395.
- Tanimoto, T., Fucuda, H., Yamaha, T., Tanaka, C. (1986). Reaction and inhibition mechanism of aldose reductase from rabbit lens. *Chem. and Pharmacol. Bull.*, 34(10), 4183–4189. doi: 10.1248/cpb.34.4183.
- Tarle, I., Borhani, D. W., Wilson, D. K., Quioho, F. A., & Petrash, J. M. (1993). Probing the active site of human aldose reductase; site directed mutagenesis of Asp-43, Tyr-48, Lys-77 and His-110. *J. Biol. Chem.*, 268(34), 25687–25693. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8245005>.
- Tarr, J. M., Kaul, K., Chopra, M., Kohner, E. M., & Chibber, R. (2013). Pathophysiology of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*, 2013.
- Terubayashi, H., Sato, S., Nishimura, C. et al. (1989). Localization of aldose and aldehyde reductase in the kidney. *Kidney International.*, 1(36), 843–851.
- Terubayashi, H., Sato, S., Nishimura, C., Kador, P. F., & Kinoshita, J. H. (1989). Localization of aldose and aldehyde reductase in the kidney. *Kidney Int.*, 36(5), 843–851. doi: 10.1038/ki.1989.270.
- Thurston, J. H., Mc Dougal, D. B. Jr., Haubart, R. E., & Schulz, D. W. (1995). Effect of acute, subacute and chronic diabetes on carbohydrate and energy metabolism in rat sciatic nerve: regulation to mechanisms peripheral neuropathy. *Diabetes*, 44(2), 190–195. doi: 10.2337/diab.44.2.190.
- Tilton, R. G., Baler, L. D., Harlow, J. E., Smith, S. R., Ostrow, E., & Williamson, J. R. (1992). Diabetic-induced glomerular dysfunction links to a more reduced cytosolic ratio of NADH/NAD<sup>+</sup>. *Kidney Inter.*, 41(4), 778–788. doi: 10.1038/ki.1992.121.
- Ulus, N. N., Sahilli, M., Avci, A., Canbolat, O., Ozansoy, G., Ari, N., Bali, M., Stefek, M., Stolc, S., Gajdosik, A., & Karasu, C. (2003). Pentose phosphate

- pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effect of stobadine and vitamin E. *Neuro-chem. Res.*, 28(6), 815–823. doi: 10.1023/a:1023202805255.
- Urhuntsev, A., Tete-Favier, F., Mitschler, A., Barlanton, J., Barth, P., Urhunteva, L., Biellmann, J. F., Pojarny, A. D. & Moras, D. (1992). A “specificity” pocket inferred from the crystal structure of the complex of aldose reductase with the pharmaceutically important inhibitors tolrestat and sorbinil. *Structure*, 5(5), 601–612. doi: 10.1016/S0969-2126(97)00216-5.
- van Heyningen, R. (1958). Formation of polyol by the lens with “sugar” cataract. *Nature*, 184, 194–195.
- Vander Jagt, D. L., Stangebyee, L. A., Hunsaker, L. A., Eaton, R. P., & Sibbi, W. L. (1988). Purification of aldose reductase from human placenta and stabilization of the inhibitor binding site. *Biochem. Pharmacol.*, 37(6), 1051–1056. doi: 10.1016/0006-2952(88)90509-6.
- Varnai P., Richards W. G., & Lyne P. D. (1999). Modelling of the catalytic reaction in human aldose reductase. *Proteins*, 37(2), 218–228. doi: 10.1002/(SICI)1097-0134(19991101)37:2%3C218::AID-PROT7%3E3.0.CO;2-E.
- Varnai, P., Warshel, A. (2000). Computer simulation of human aldose reductase. *J. Am. Chem. Soc.*, 122(16), 3848–3860. doi: 10.1021/ja994246j.
- Veech, R. L., Eggleston, L. V., & Krebs, H. A. (1969). The redox state of free nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate in the cytoplasm of rat liver. *Biochem. J.*, 115, 609–619. doi: 10.1042%2Fbj1150609a.
- Vincent, A. M., Russel, J. W., Low, P., & Feldman, E. L. (2004). Oxidative stress in the pathogenesis neuropathy. *Endocrine Rev.*, 25(4), 612–628. doi: 10.1210/er.2003-0019.
- Wermuth, B., & von Wartburg, J. P. (1982). Aldose reductase from human tissues. *Meth. Enzymol.*, 89, 181–187. doi: 10.1016/S0076-6879(82)89032-0.
- Wermuth, B., Bohren, K., Burgisser, H., & von Wartburg, J. P. (1982). Purification and characterization of human brain aldose reductase. *Eur. J. Biochem.*, 127(2), 279–284. doi: 10.1111/j.1432-1033.1982.tb06867.x.
- Williamson, J. R., Chang, K., Frangos, M., Hasan, K. S., Ido, Y., Kawamura, T., Nyengaard, J. R., van Den Enden, M., Kilo, C., & Tilton, K. G. (1993). Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes*, 42(6), 801–813. doi: 10.2337/diab.42.6.801.
- Williamson, J. R., Chang, K., Frangos, M., Hasan, K. S., Ido, Y., Kawamura, T., Nyengaard, J. R., van den Enden, M., Kilo, C., & Tilton, R. G. (1993). Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes*, 42(6), 801–813. doi: 10.2337/diab.42.6.801.
- Wilson, D. K., Bohren, K. M., Gabbay, K. H., & Qiocho, F. H. (1992). Unlikely by sugar substrate site in the human aldose reductase holoenzyme implicated in diabetic complication. *Science*, 257, 81–84.
- Wilson, D. K., Tarle, I., Petrash, J. M., & Quioho, F. A. (1993). Refined 1,8A structure of human aldose reductase complexed with the potent inhibitor zopolrestat. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90, 9847–9851. doi: 10.1073/pnas.90.21.9847.
- Wilson, M. E., Jr., Levin, A. V., Trivedi, R. H., Kruger, S. J., Elliot, L. A., Ainswort, J. R., Awner, S., Cruz, O. A., Kilvin, J., Wroman, D. T., & Young, W. O. (2007). Cataract associated with type 1 diabetes mellitus in the pediatric population. *J. of AAPOS*, 11, 162–165.
- Wolff, S. P., & Dean, R. T. (1987). Glucose autooxidation and protein modification. The potential role of autooxidative glycosylation in diabetes. *Biochem. J.*, 245(1), 243–250. doi: 10.1042%2Fbj2450243.
- Wright, R. A., Nucada, H. (1994). Vascular and metabolic factors in the pathogenesis of experimental diabetic neuropathy in mature rats. *Brain*, 117(6), 1395–1407. doi: 10.1093/brain/117.6.1395.
- Wu, M.-J., Yiang, G.-T., Lai, T. T. et al. (2018). The oxidative stress and mitochondrial dysfunction during the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Oxidative Med. and cellular longevity*, 2018, 3420187. doi: 10.1155/2018/3420187.
- Xe, Q., Khanna, P., & Srivastava, S. (1999). Reduction 4-hydroxynonenal and hydroxyhe-xenal by retina aldose reductas. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 247, 719–722.
- Xie, Z., Baba, S. P., & Sweeney, B. R. (2013). Detoxification of aldehyde by histidine-containing dipeptides: from chemistry to clinical implication. *Chem. Biol. Interact.*, 202(1-3), 288–297. doi: 10.1016/j.cbi.2012.12.017.
- Yabe-Nishimura, C. (1988). Aldose reductase in glucose toxicity: a potential for prevention diabetic complication. *Pharmacol. Rev.*, 50(1), 21–32. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9549756>.
- Yagihashi, S., Mizucami, H., & Sugimoto, K. (2011). Mechanism of diabetic neuropathy: where are we now and where to go? *J. Diabet. Investig.*, 2(1), 18–32. doi: 10.1111/j.2040-1124.2010.00070.x.
- Yagihashi, S., Yamagishi, S. I., Wada, Ri., R., Baba, M., Hohman, T. C., Yabe-Nishimura, C., & Kokai, Y. (2001). Neuropathy in diabetic mice over expression human aldose reductase and effect of aldose reductase inhibitor. *Brain*, 124(12), 2448–2458. doi: 10.1093/brain/124.12.2448.
- Yakobchuk, S. O., Iftodii, A. H., Kolotylo, O. B., & Moskaliuk O. P. (2012). Pytannia patohenezu diabetichnoi polineiropatii. *Bukovynskyi Med. Visn.*, 16, 21–24 (in Ukrainian).
- Yan, L.-J. (2018). Redox imbalance stress in diabetes mellitus: role of the polyol pathway. *Animal Model Exp. Med.*, 1(1), 7–13. doi: 10.1002/ame2.12001.
- Yoo, H., & McGuinness, E. T. (1987). Pig brain aldose reductase: purification, significance of the amino acid composition, substrate specificity and mechanism. *Int. J. Bio-chem.*, 19(9), 865–871. doi: 10.1016/0020-711X(87)90247-3.
- Zan, J., Kuai, C., & Huang, F. (2017). The primary biochemical mechanism of diabetic peripheral neuropathy (DPN). *J. Pharmacol. Res.*, 1, 6–9.
- Zengraf, M. (2006). Characterization of binding pocket flexibility of aldose reductase. Dissertation zur Erlangung des doctorates der Naturwissenschaften, Marburg.

- Zhou, S., & Decker, E. A. (1999). Ability of carnosine and other skeletal muscle component to quench unsaturated aldehydic lipid oxidation products. *J. Agric. Food. Chem.*, 47(1), 51–55. doi: 10.1021/jf980780j.
- Zopf, S., Flamig, J., Schmid, H., Miosge, N., Blaschke, S., Hahn, E. G., Muller, G. A., & Grunewald, R. (2009). Localization of the polyol pathway in the human kidney. *Histol. and Histopathol.*, 24, 447–455. doi: 10.14670/HH-24.447.
- Zopf, S., Flamig, J., Schmid, H., Miosge, N., Blaschke, S., Muller, G. A., & Grunewald, R. W. (2009). Localization of the polyol pathway in the human kidney. *Histol. and Histopathol.*, 24, 447–455. doi: 10.14670/HH-24.447.
- Zychowska, M., Rojewska, E., Przewlocka, B., & Mica, J. (2013). Mechanism and pharmacology of diabetic neuropathy-experimental and clinical studies. *Pharmacol. Reports*, 65(6), 1601–1610. doi: 10.1016/s1734-1140(13)71521-4.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9921  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 436.52.58 + 619

## Possibility to use erythrocyte antigens and feather coloration genes to determine resistance to non-plastic diseases

L. P. Livoschenko, Y. M. Livoschenko

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

### Article info

Received 14.09.2020  
Received in revised form  
12.10.2020  
Accepted 13.10.2020

Sumy National Agrarian  
University, G. Kondrat'eva, 160,  
Sumy, 40000, Ukraine.  
Tel.: +38-050-102-93-78  
E-mail: [evglivshhenko@gmail.com](mailto:evglivshhenko@gmail.com)

**Livoschenko, L. P., & Livoschenko, Y. M. (2020). Possibility to use erythrocyte antigens and feather coloration genes to determine resistance to non-plastic diseases. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 143–147. doi: 10.32718/nvlvet9921**

Non-plastic diseases are a problem in both medical and veterinary practice. These include lymphoid leukemia (LL) and Marek's disease (CM). It should be noted that HM causes losses to poultry three times higher than LL. CM is a highly contagious viral neoplastic disease of chickens. It is known that the degree of resistance of different breeds and lines of chickens to Marek's disease (CM) and lymphoid leukemia (LL) is not the same. To date, little attention has been paid to the role of erythrocyte antigenic factors in the bird's response to morbidity. There is a relationship between the incidence among vaccinated birds and the natural susceptibility to HM birds of certain breeds and lines. The effect of protective reactions in chickens associated with erythrocyte antigenic factors in poultry selected for resistance to non-plastic diseases is still unclear. The objects of the study were chickens and 11-day-old embryos of poultry from one of the farms of Ukraine. The studies were performed on Rhode Island, Leghorn D4 and P-37 chickens. Standard strains of Rouse's sarcoma virus (HRV) were used in the study. Embryos of 11 days of incubation were infected with Rouse virus on the chorio-allantoic membrane (CAM). The results of the studies proved that the resistance to HRV had a significantly opposite correlation only with the presence of B<sub>16</sub> antigen and the absence of X<sub>31</sub>. In chickens of the P-37 line we noted a probable difference in the number of birds of different genetic groups at loci B<sub>18</sub> and E 8. Among birds of this line of genotypes rs and ss no individuals with locus E<sub>8</sub> were found, while among chickens with genotype rr rarely found a bird with a locus B<sub>18</sub>. In hens of line D-4 with genotype rr, the frequency of the A<sub>12</sub> locus was set more often than in genotypes rs and ss. As for the frequency of the B<sub>33</sub> locus, the opposite pattern was observed. Tumor regression was probably more common in birds with antigenic factor B<sub>1</sub> and in the absence of B<sub>33</sub>. Hypersensitivity to non-plastic diseases of chickens carrying B<sub>2</sub>, B<sub>21</sub>, B<sub>29</sub>, X<sub>50</sub> antigens has been established. The bird, more resistant to neoplasms, had an increased number of antigens B<sub>3</sub>, B<sub>18</sub>, C<sub>26</sub>. and research in this direction continues. It is assumed that the plumage color gene (s), if present in homozygous form, is an inhibitor of sensitivity. The experiments used embryos and chickens with different plumage color: red, black, white with a yellow tinge, pure white. Their ratio is approximately 2:1:1 or 3 parts "colored" and 1 part white. It was found that among the "colored" embryos were more stable than sensitive. In fact, the resulting cleavage was close to expected.

**Key words:** chickens, embryos, leukemia-sarcoma complex viruses, Raus sarcoma virus, Marek's disease, erythrocyte antigens, plumage gene.

## Можливість використання антигенів еритроцитів і генів забарвлення оперення птиці для визначення стійкості до непластичних захворювань

Л. П. Лівощенко, Є. М. Лівощенко

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Непластичні захворювання є проблемою як в медичній, так і в ветеринарній практиці. До них відносяться лімфоїдний лейкоз (ЛЛ) і хвороба Марека (ХМ). Треба відмітити, що ХМ завдає птахівництву збитків в тричі вищих, ніж ЛЛ. ХМ високо контагіозне вірусне неопластичне захворювання курей. Відомо, що ступінь стійкості різних порід і ліній курей до хвороби Марека (ХМ) і лімфоїдному лейкозу (ЛЛ) неоднакова. До теперішнього часу мало уваги приділялося ролі антигенним факторам еритроцитів в реакції організму птиці на захворюваність. Є залежність між захворюваністю серед вакцинованої птиці і природною чутливістю до ХМ птиці певних порід і ліній. Вплив захисних реакцій у курей, що пов'язаний з антигенними фактори еритроцитів у птиці, селекціонованих за стійкістю до непластичних захворювань досі залишаються нез'ясованими. Об'єктами дослідження були кури і 11-денні зародки птиці одного із господарств України. Дослідження проводили на курах породи род-айленд, леггорн лінії Д<sub>4</sub> та полтавській глинястій породи П<sub>37</sub>. В роботі були використані стандартні штами вірусу саркоми Рауса (ВСР). Ембріони 11-денної інкубації заражали вірусом Рауса на хоріо-аллантоїсну оболонку (ХАО). Результати досліджень довели, що стійкість до ВСР мала вірогідно протилежну кореляцію тільки з наявністю антигену В<sub>16</sub> і відсутністю Х<sub>31</sub>. У курей лінії П-37 нами відзначена вірогідна різниця в кількості птиці різних генетичних груп по локусам В<sub>18</sub> і Е<sub>8</sub>. Серед птиці цієї лінії генотипів rs і ss не встановлено особин, що мають локус Е<sub>8</sub>, в той час як серед курей з генотипом gg вірогідно рідше виявляли птицю з локусом В<sub>18</sub>. У курей лінії Д-4 з генотипом gg частота локусу А<sub>12</sub> установлювали частіше, ніж у генотипів rs і ss. Що стосується частоти локусу В<sub>33</sub>, то спостерігали зворотну закономірність. Регресія пухлин вірогідно частіше відбувалася у птиці, що мала антигенний фактор В<sub>1</sub> і при відсутності В<sub>33</sub>. Встановлена підвищена чутливість до непластичних захворювань курей носіїв антигенів В<sub>2</sub>, В<sub>21</sub>, В<sub>29</sub>, Х<sub>50</sub>. Більш стійка до неоплазматичних захворювань мала підвищену кількість антигенів В<sub>3</sub>, В<sub>18</sub>, С<sub>26</sub>. Дослідження в цьому напрямку тривають. Припускається, що ген забарвлення оперення (і), якщо він є в гомозиготній формі, являється інгібітором чутливості. В досліді використовувалися ембріони і курчата з різним забарвленням оперення: червоні, чорні, білі з жовтим відтінком, чисто білі. Співвідношення їх приблизно 2:1:1 або 3 частини "забарвлених" і 1 частина білих. Установлено, що серед "забарвлених" ембріонів стійких було більше, ніж чутливі. Фактично отримане розщеплення виявилось близьким до очікуваного.

**Ключові слова:** курчата, ембріони, віруси лейкозо-саркомного комплексу, вірус саркоми Рауса, хвороба Марека, антигени еритроцитів, ген забарвлення оперення.

## Вступ

Сучасне птахівництво – одна з рентабельних галузей тваринництва. Яйце і м'ясо птиці є дієтичним продуктом для харчування людини (Tsang et al., 1999; Plachý et al., 2017; Vahrusheva, 2020). На жаль, стримують подальший розвиток промислового птахівництва різні захворювання птиці заразної етіології (Plotnikov et al., 2013). До таких відносяться неопластичні хвороби птиці, що рееструються серед усіх порід і ліній курей. За даними ряду авторів економічні збитки, які завдає ХМ, в три рази перевищує збитки, що наноситься хворобами лейкозо-саркомної групи (Payne & Nair, 2012; Bhutia & Damodar, 2017). Птиця, що уражена онкарновірусами, втрачає вагу, уповільнює ріст (Rubin, 2011). Загибель від ХМ і ЛЛ і вимушений забій завдає величезний економічний збиток, який може коливатися від 10 % до 60 %, залежно від форми прояву хвороби. Крім того, необхідно враховувати і витрати на ветеринарно-санітарні заходи, по ліквідації захворювання та збитки за рахунок зниження продуктивності (Payne & Venugopal, 2000; Soujanya et al., 2019; Vahrusheva, 2020).

Відомо, що ступінь стійкості різних порід і ліній курей до хвороби Марека (ХМ) і лімфоїдному лейкозу (ЛЛ) неоднакова. До теперішнього часу мало уваги приділялося ролі антигенним факторам еритроцитів в реакції організму птиці на захворюваність.

Є залежність між захворюваністю серед вакцинованої птиці і природною чутливістю до ХМ птиці певних порід і ліній. Вплив захисних реакцій у курей, що пов'язаний з антигенними фактори еритроцитів у птиці, селекціонованих за стійкістю до непластичних захворювань досі залишаються нез'ясованими (Payne & Venugopal, 2000; Plachý et al., 2017).

**Мета роботи:** дослідити вплив антигенних факторів еритроцитів і генів забарвлення оперення птиці на стійкість до неопластичних хвороб в стаді курей порід леггорн і полтавська глиняста, селекціонованих на підвищену стійкість до онкорнавірусів.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на курах породи род-айленд, леггорн лінії Д<sub>4</sub> та полтавській глинястій породи П<sub>37</sub>.

В роботі були використані стандартні штами вірусу саркоми Рауса (ВСР), що належать до різних підгруп вірусів лейкозо-саркомної групи (Бріан, RAV-2), вірус еритроїдного лейкозу штаму R, вірус хвороби Марека (штам ЗК). Матеріалом для зараження служив вірус в розведенні 10<sup>-1.5</sup>, 10<sup>-2.5</sup>, 10<sup>-4.5</sup>, 10<sup>-5.5</sup> (за вихідний матеріал брали пухлинну тканину. 30 % суспензія відповідала розведення 10<sup>-0.5</sup>). Кожним розведенням вірусу в об'ємі 0.1 мл заражали в перетинку крила чотирьох курчат. Перший облік реакції проводили на 10 день після інфікування, а наступні - через 2 дні протягом двох тижнів. За позитивну реакцію на введення вірусу вважали утворення пухлини на місці ін'єкції пухлинного матеріалу.

Ембріони 11-денної інкубації заражали вірусом Рауса на хоріо-аллантоїсну оболонку. З цією метою робили штучну повітряну камеру з боку поверхні яйця. Ця операція проводилася наступним чином. Під контролем овоскопа визначали місце розташування природної пуги і робили прокол шкаралупи на середині повітряної камери. Далі на бічній поверхні пропилювали шкаралупу, розривали підшкаралупну оболонку і під контролем овоскопа з допомогою пастерівської піпетки і надітої на неї гумової трубочки відсмоктували повітря. Хоріо-аллантоїсна оболонка відділялася від підшкаралупної, утворюючи повітряну камеру. Ембріони клали на спеціальні лоточки в горизонтальному положенні штучно утвореним отвором вгору і поміщали в термостат на 1,5–2 години для фіксації пуги. Потім на оболонку наносили вірус в об'ємі 0.1 мл.

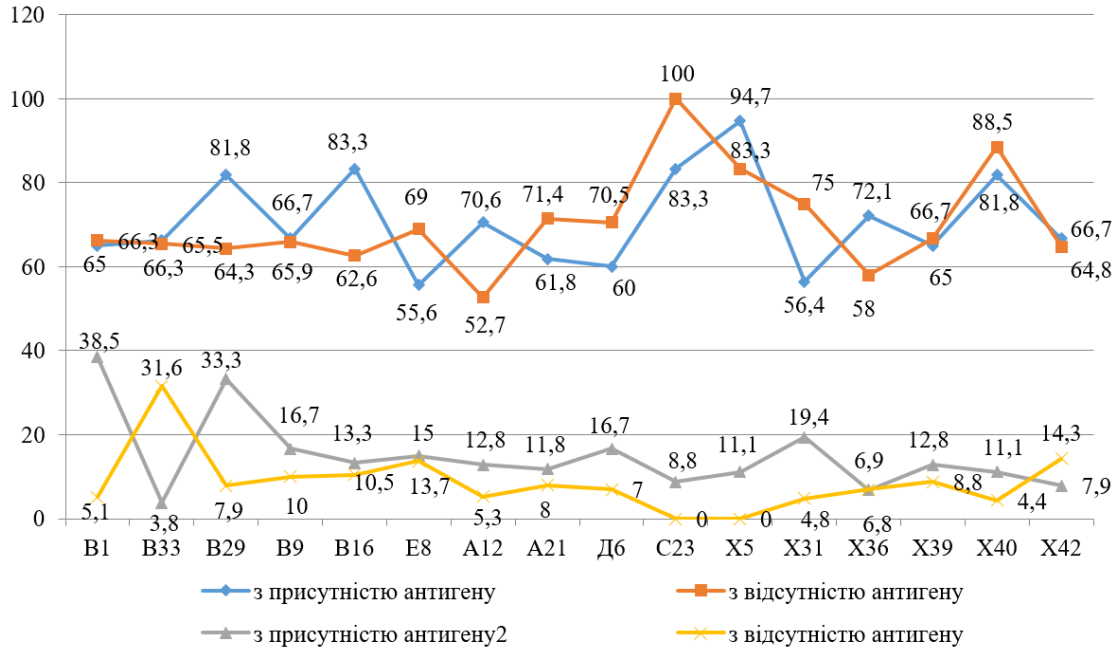


**Результати та їх обговорення**

Згідно з літературними даними встановлений зв'язок між наявністю певних еритроцитарних антигенів та захворюваністю птиці на неопластичні хвороби. Дослідження проводилися з сироватками, що не пройшли міжнародної атестації на здатність диференціювати певні локуси. Це ускладнювало виявлення серед них тих сироваток, які, згідно з літературними

даними, виявляють серед птиці стійкі особини до неоплазм. Виходячи з цього, нами проведено дослідження багатьох антигенних факторів еритроцитів у птиці, що різнилися по чутливості до ВСР, здатності до регресії пухлин і стійкості до хвороби Марека.

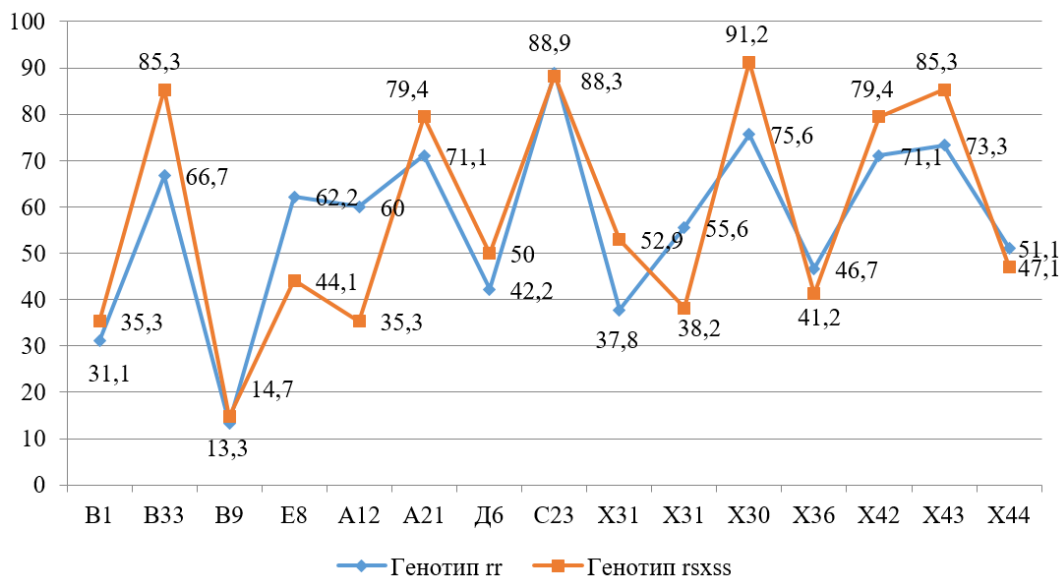
На рисунку 1 представлені дані про стійкості до ВСР птиці з різною частотою певних антигенних факторів еритроцитів.



**Рис. 1.** Вплив еритроцитарних антигенів на стійкість птиці на стійкість до ВСР

Згідно з даними рисунка 1 стійкість до ВСР мала вірогідно протилежну кореляцію тільки з наявністю антигену B16 і відсутністю X31. Повторні дослідження, проведені на птиці лінії Д-4, не підтвердили такого зв'язку з зазначеними антигенами.

Нами досліджувався зв'язок між наявністю певних еритроцитарних антигенів та стійкістю до ВСР птиці різних генотипів (рис. 2).



**Рис. 2.** Частота еритроцитарних антигенів у птиці лінії Д4 до ВСР

У курей лінії П-37 нами відзначена вірогідна різниця в кількості птиці різних генетичних груп по локусам  $V_{18}$  і  $E_8$ . Серед птиці цієї лінії генотипів  $rs$  і  $ss$  не встановлено особин, що мають локус  $E_8$ , в той час як серед курей з генотипом  $rr$  вірогідно рідше виявляли птицю з локусом  $V_{18}$ . У курей лінії Д-4 з генотипом  $rr$  частота локусу  $A_{12}$  установлювали частіше, ніж у генотипів  $rs$  і  $ss$ . Що стосується частоти локусу  $V_{33}$ , то спостерігали зворотну закономірність.

Повторні дослідження частоти антигенних факторів не виявлено закономірності повторення даних про наявність чи відсутність раніше названих чинників.

Ймовірно, немає зв'язку між наявністю визначених чинників еритроцитів у досліджуваних генотипів птиці по стійкості до інфікування ВСР або в нашому банку сироваток були відсутні такі, які виявляли б цей зв'язок.

Регресія пухлин вірогідно частіше відбувалася у птиці, що мала антигенний фактор  $V_1$  і при відсутності  $V_{33}$  (рис. 3).

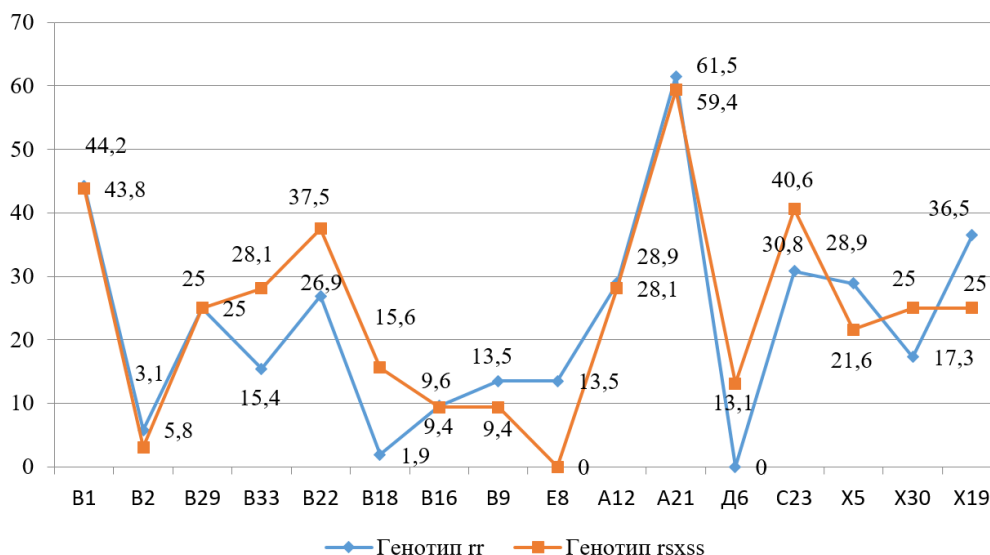


Рис. 3. Частота еритроцитарних антигенів у птиці лінії П37 до ВСР

Встановлена підвищена чутливість до непластичних захворювань курей носіїв антигенів  $B_2$ ,  $B_{21}$ ,  $B_{29}$ ,  $X_{50}$ .

Payne L. N. співавтори висловлювали припущення, що ген забарвлення оперення (i), якщо він є в гомозиготній формі, являється інгібітором чутливості (Payne & Venugopal, 2000; Payne & Nair, 2012). Для перевірки цієї гіпотези в досліді використовувалися ембріони і курчата з різним забарвленням оперення: червоні, чорні, білі з жовтим відтінком, чисто білі. Оскільки у зародків важко розрізнити відтінки, всі білі з різними

відтінками були віднесені до групи “білі”. З 74 досліджених ембріонів червоних було 36 шт., Чорних 17, білих – 21, тобто співвідношення їх приблизно 2:1:1 або 3 частини “забарвлених” і 1 частина білих.

При зараженні ембріонів відповідно до схеми дігібридного схрещування передбачалося, що співвідношення стійких і чутливих зародків серед “забарвлених” і “незабарвлених” має бути однаковим (1:1), адже схрещували генотипи. Насправді вийшло, що серед “забарвлених” ембріонів стійких було більше, ніж чутливі (табл. 1).

Таблиця 1

Зв'язок гена забарвлення оперення з геном чутливості до онкарновірусів

Забарвлення ембріонів	Досліджено ембріонів, штук	Співвідношення стійких до чутливих			Критерії Хі-квадрат	
		фактичне	теоретично очікуємо		1–2	1–3
			Без дії інгібітору	При дії інгібітору		
Червоні	36	27–9	18–18	27–9	8,6	0,00
Чорні	17	13–4	8–9	17–0	6,2	1,88
Білі	21	15–6	11–10	–	3,0	–

Фактично отримане розщеплення виявилось близьким до очікуваного, якщо допустити, що діє інгібітор. Але оскільки була проведена тільки одна серія дослідів, остаточний висновок зробити неможливо.

Можна лише зробити висновок, що ген забарвлення оперення все-таки якимось чином пов'язаний з геном чутливості.

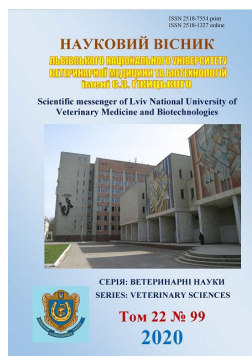
### Висновки

Птиця фенотипу К-А має менше поширення серед птиці з забарвленим оперенням (полтавська глиниста, род-айленд). Леггорни всіх популяцій (за винятком канадського леггорну лінії В-7) відрізняються високою наявністю названого фенотипу. Характер успадкування ознаки клітинної сприйнятливості неоднаковий у генетично різних груп курей: у леггорнів він успадковується за типом неповного домінування, у полтавських глинистих також домінування відсутнє і, мабуть, воно пригнічується геном забарвлення оперення. Ген забарвлення оперення має певний зв'язок з геном чутливості до онкарновірусів.

*Перспективи подальших досліджень.* На підставі отриманих результатів досліджень в подальшому планується показники антигенів еритроцитів і генів забарвлення оперення птиці використовувати для визначення стійкості до непластичних захворювань.

### References

- Bhutia, L. D., & Damodar, S. Y. (2017). Occurrence of lymphoid leukosis in poultry population of Mizoram. *Indian Journal of Veterinary Pathology*, 41(3), 228–231. doi: 10.5958/0973-970X.2017.00056.6.
- Payne, L. N., & Venugopal, K. (2000). Neoplastic diseases: Marek's disease, avian leukosis and reticuloendotheliosis. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 19(2), 544–564. doi: 10.20506/rst.19.2.1226.
- Payne, L., & Nair, V. (2012). The long view: 40 years of avian leukosis research. *Avian Pathology*, 41(1), 11–19. doi: 10.1080/03079457.2011.646237.
- Plachý, J., Reinišová, M., Kučerová, D. et al. (2017). Identification of New World Quails Susceptible to Infection with Avian Leukosis Virus Subgroup J. *J. Virol*, 91(3), e02002-16. doi: 10.1128/JVI.02002-16.
- Plotnikov, V. A., Grebennikova, T. V., Dudnikova, E. K. et al. (2013). O rasprostraneni virusa lejkoza ptic v pticevodcheskih hozjajstvah Rossijskoj Federacii. *Sel'skohozjajstvennaja biologija*, 6, 36–42. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/o-rasprostraneni-virusa-leykoza-ptits-v-ptitsevodcheskih-hozyaystvah-na-territorii-rossii/viewer> (in Russian).
- Rubin, H. (2011). The early history of tumor virology: Rous, RIF, and RAV. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(35), 14389–14396. doi: 10.1073/pnas.1108655108.
- Soujanya, S, Lakshman, M., & Madhuri, D. (2019). Occurrence of lymphoid leukosis in chicken. *The Pharma Innovation Journal*, 8(1), 159–162. URL: <https://www.thepharmajournal.com/archives/2019/vol8issue1/PartC/7-12-87-759.pdf>.
- Tsang, S. X., Switzer, W.M., Shanmugam, V. et al. (1999). Evidence of avian leukosis virus subgroup E and endogenous avian virus in measles and mumps vaccines derived from chicken cells: investigation of transmission to vaccine recipients. *J Virol*, 73(7), 5843–5851. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC112645>.
- Vahrusheva, T. I. (2020). Osobennosti patomorfologicheskikh projavlenij hronicheskogo mieloidnogo lejkoza u kur. *Vestnik KrasGAU*, 1(154), 62–75. doi: 10.36718/1819-4036-2020-1-62-75 (in Russian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9922  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.2.6091:616.908:636.92

## Pathomorphological characteristics of viral hemorrhagic disease of rabbits

S. S. Zaika, L. V. Bezditko, S. V. Gural'ska, T. F. Kot, Z. V. Khomenko

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

### Article info

Received 14.09.2020  
Received in revised form  
12.10.2020  
Accepted 13.10.2020

Polissia National University,  
Stary Boulevard, 7, Zhytomyr,  
10008, Ukraine.  
Tel.: +38-097-890-50-35  
E-mail: lana\_zaika@ukr.net

**Zaika, S. S., Bezditko, L. V., Gural'ska, S. V., Kot, T. F., & Khomenko, Z. V. (2020). Pathomorphological characteristics of viral hemorrhagic disease of rabbits. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 148–154. doi: 10.32718/nvlvet9922**

*The dead animals have a pathomorphological picture with a brightly expressed hemorrhagic diathesis, in many organs there is venous stasis. Blood does not clot for several hours, and at autopsy of organs (heart, lungs, liver, kidneys) it is poured in significant amounts into the body cavity. Macroscopically, the most significant changes are observed in the respiratory system. The lungs are blood-filled, intensely swollen and unevenly colored, have a grayish-pink color with single or multiple spotted and spotted hemorrhages under the pleura. Red or almost colorless liquid flows down from the incision surface, foamy exudate is released from the bronchi when pressed on. There are no patterns in the localization of pathomorphological changes in any part of the lungs (apical, cardiac, diaphragmatic): all parts are damaged at once, or mainly in one or another part. The walls of the trachea, nasal cavities, to a lesser extent the larynx are distinctly hemorrhagic. Their red color is more often caused by venous hyperemia. The lumen of the trachea and larynx is filled with red or colorless foamy fluid. Changes in the liver are constant, but not always the same type and are due to the degree of its blood supply, which causes a change in color, amount and consistency. In the first hours after the death of the animal, the liver is usually completely blood-filled, enlarged, easily torn, has a reddish-brown color with a yellowish tinge in the central parts of the lobes. The capillary network of the body looks like red streaks and dots of irregular shape. Spotted hemorrhages are sometimes observed under the capsule of the organ. The gallbladder contains some bile, its mucous is rough, a bit exfoliated. The spleen is increased in size by 1.5–3 times, swollen, dark cherry in color with a typical purple tinge. The kidneys are completely blood-filled, reddish-brown and increased in several times. The thymus is slightly reddened, often with multiple spotted or spotted hemorrhages in the chest. Lymph nodes are pulpy, grayish-pink, rarely red, not significantly changed in size. The heart (especially its right half) is filled with a large amount of black and red blood, increased in size, the walls of the ventricles are stretched, thin, have flabby consistency. Multiple spotted and spotted hemorrhages under the epicardium and endocardium are common. Changes in the gastrointestinal tract characterize catarrhal (rarely catarrhal-hemorrhagic) inflammation, sometimes hemorrhage in the duodenum and rectum, exfoliation of the gastric mucosa. In the form of hemorrhage, pathological and anatomical changes are found in the uterus and adrenal glands, in the form of congestive hyperemia – in the genitals, goiter, brain.*

**Key words:** rabbits, hemorrhagic disease, lungs, liver, spleen, ovary, fallopian tube.

## Патоморфологічна характеристика вірусної геморагічної хвороби кролів

С. С. Заїка, Л. В. Бездітко, С. В. Гуральська, Т. Ф. Кот, З. В. Хоменко

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

*У загинув тварин розвивається яскрава, з вираженим геморагічним діатезом патоморфологічна картина, у багатьох органах спостерігається венозний застій. Кров не згортається протягом декількох годин, а при розтині органів (серце, легені, печінка, нирки) виливається в великих обсягах в порожнину тіла. Макроскопічно найбільш значні зміни спостерігаються в органах дихання. Легені кровонаповнені, інтенсивно набряклі і нерівномірно забарвлені, мають сірувато-рожевий колір з поодинокими або множинними крапковими і плямистими крововиливами під плеврою. З поверхні їх розрізу стікає червона або майже безбарвна рідина, з*

бронхів при натисканні виділяється пінистий ексудат. Закономірностей в локалізації патоморфологічних змін в будь-якій частці легень (верхівкова, серцева, діафрагмальна) немає: уражуються всі частки відразу, або переважно та чи інша частина. Стінки трахеї, носових порожнин, в меншій ступені гортані різко геморагічні. Їх червоний колір частіше обумовлює венозна гіперемія. Просвіт трахеї і гортані заповнює червона або безбарвна піниста рідина. Зміни в печінці постійні, але не завжди однотипові і обумовлені ступенем її кровонаповнення, що викликає зміна кольору, об'єму і консистенції. У перші години після загибелі тварини печінка зазвичай кровонаповнена, збільшена в об'ємі, легко рветься, має червонувато-коричневий колір з жовтуватим відтінком в центральних ділянках часток. Капілярна мережа органу має вигляд червоних рисок і крапок неправильної форми. Іноді під капсулою органа спостерігали крапчасті геморагії. Жовчний міхур містить трохи жовчі, його слизова шорстка, трохи відшаровувалася. Селезінка в 1,5–3 рази збільшена в об'ємі, набрякла, темно-вишневого кольору з характерним фіолетовим відтінком. Нирки різко кровонаповнені, червоно-коричневого кольору і збільшені в кілька разів. Тимус злегка почервонілий, нерідко з множинними крапковими або плямистими крововиливами в грудній частині. Лімфатичні вузли соковиті, сірвато-рожевого, рідше червоного кольору, в розмірах істотно не змінені. Серце (особливо його права половина) заповнене великим об'ємом чорно-червоної крові, збільшене в об'ємі, стінки шлуночків розтягнуті, витончені, мали в'ялу консистенцію. Часто зустрічаються множинні крапчасті і плямисті крововиливи під епі- і ендокардом. Зміни в шлунково-кишковому тракті характеризують катаральне (рідше катарально-геморагічне) запалення, іноді крововиливи в дванадцятипалій і прямій кишках, відшарування слизової шлунка. У формі геморагії патолого-анатомічні зміни знаходяться в матці і надниркових залозах, у вигляді застійної гіперемії – в статевих органах, зубній залозі, головному мозку.

**Ключові слова:** кролі, геморагічна хвороба, легені, печінка, селезінка, яєчник, маткова труба.

## Вступ

Серед різноманіття видів тварин помітне місце, як в дикій природі, так і в сільському господарстві займають кролики. З давніх часів вони приносять людині величезну користь: дають м'ясо, шкурки, пух, служать об'єктами полювання, а також є продуцентами біологічних препаратів для медицини та ветеринарії.

В Україні найбільш актуальною проблемою в патології кролів слід вважати вірусну геморагічну хворобу (ВГХК). Вона завдає значних економічних збитків, які складаються з летальності тварин, і, отже, з недоотримання м'яса і шкурок, а також із значних матеріальних витрат на заходи боротьби і профілактики. Летальність від ВГХК становить 90–100 % (Zharov, 2000; Shevchenko & Shevchenko, 2000).

*Актуальність теми.* Вивченню вірусної геморагічної хвороби кролів (ВГХК) присвячено чималу кількість досліджень, в яких, в основному, висвітлені питання етіології, епізоотології, серологічної і вірусологічної діагностики, заходів по боротьбі і профілактиці з хворобою (Mitro & Krauss, 1993; O'Keefe et al., 1998; Puggioni & Cavadini, 2013). Патоморфології при даній хворобі присвячено незначну кількість робіт, в основному – зарубіжних (Mouss et al., 1992; Cooke & Fenner, 2002).

До сьогоднішнього дня залишається відкритим питання про патогенез і причини такого швидкого настання смерті при ВГХК. Деякі автори вважають основною ланкою патогенезу ураження судин, а ураження інших органів його наслідком (Korniyenko et al., 2003; Farnos et al., 2007). Інші вважають судинні порушення вторинними і викликаними дисфункцією печінки (Le Gall-Recule et al., 2003; Delibes-Mateos et al., 2007; 2008; Dalton et al., 2014; Serdyukov & Myrs'ka, 2014).

Отже, вивчення патоморфології вірусної геморагічної хвороби кроликів слід вважати науковою стороною актуального завдання сучасного кролівництва.

*Метою* наших досліджень було вивчити патоморфологію вірусної геморагічної хвороби кролів. Для досягнення мети були поставлені такі завдання: 1) вивчити патоморфологію при спонтанному виникненні хвороби; 2) доповнити критерії диференційної

діагностики вірусної геморагічної хвороби кролів. Тобто перед нами стояло завдання описати найбільш характерні патоморфологічні зміни вірусної геморагічної хвороби кролів (ВГХК), які дозволять встановити діагноз в перший день загибелі.

## Матеріал і методи досліджень

Поставлені завдання були вирішені шляхом дослідження патологічного матеріалу, взятого при спонтанному виникненні вірусної геморагічної хвороби кроликів.

Матеріал надходив на кафедру анатомії і гістології Поліського національного університету з підсобного господарства приватного сектора смт. Черняхів, Черняхівського району, Житомирської області в період епізоотії.

Діагноз на вірусну геморагічну хворобу кролів встановлювали на підставі епізоотологічних даних, клінічних ознак, картини патологоанатомічного розтину та гістологічних досліджень.

Патологоанатомічний розтин здійснювали за методом Шора з повною евісцерацією органів (Bancroft et al., 2013). Для гістологічного дослідження брали шматочки печінки та селезінки, які фіксували в 10 %-му водному розчині нейтрального формаліну. Основна частина матеріалу була залита в парафін, потім з цих блоків на санному мікромомі МС-2 виготовляли гістологічні зрізи. При фарбуванні зрізів застосовували загальноприйняті методики (Horalskyi et al., 2005). Дослідження проводили за допомогою світлових мікроскопів МБС-10, Micros МС-50. Мікрофотографування гістологічних препаратів здійснювали за допомогою відеокамери САМ V 200, вмонтованої у мікроскоп Micros МС-50 і підключеної до персонального комп'ютера.

## Результати та їх обговорення

Незважаючи на деякі відмінності в деталях, картина розтину у більшості кролів характеризувалась певною сталістю.

Трупи кролів були добре розвинені і вгодовані. У ряді випадків вони лежали на правому боці з витягну-

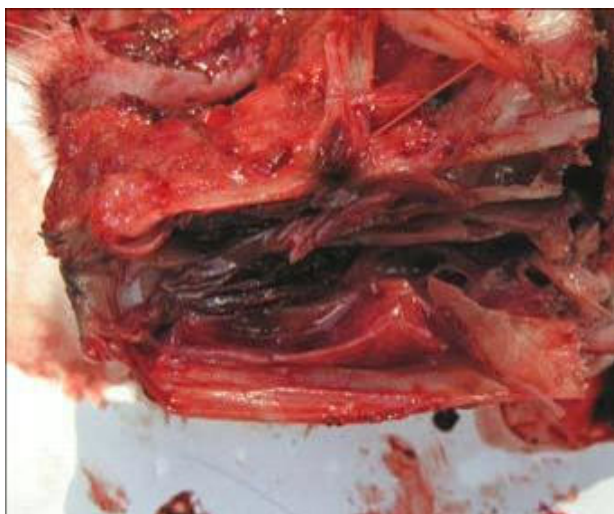
тими кінцівками, шия і голова повернені вліво і назад. В інших випадках вони лежали на грудях, підібравши під себе передні кінцівки, задня частина тіла витягнута назад і повернута вправо.

Шерсть, як правило, гладка або дещо скуйовджена, злегка блискуча, слабо утримувалась в волосяних фолікулах. Природні отвори чисті, сухі. Іноді шерсть біля носових ходів була забруднена кров'ю або серозним ексудатом (рис. 1).



**Рис. 1.** Виділення геморагічного ексудату з носової порожнини при вірусній геморагічній хворобі у загиблого кроля

Носова порожнина: слизова оболонка забарвлена від світло-рожевого до темно-червоного кольору, з чітко видимою мережею гіперемійованих судин. Вона всяна геморагіями, набрякла, іноді драглиста внаслідок інфільтрації її серозним ексудатом. Нерідко поверхня слизової оболонки вкрита рідким, кров'яним, в деяких випадках з домішками слизу вмістом, при видаленні якого виявляється набрякла поверхня, яка сильно гіперемійована і всяна крововиливами різної величини (рис. 2).



**Рис. 2.** Носова порожнина. Набряк і гіперемія слизової оболонки

У ряді випадків видимі зміни слизової оболонки не виявляли. Слизова оболонка гортані набрякла, гіперемійована, іноді була вкрита крапчастими крововиливами. Слизова оболонка трахеї набрякла і дифузно гіперемійована, від світло- до темно-червоного кольору. Добре видно дрібну мережу налитих кров'ю судин. Найбільш сильно гіперемія виражена між кільцями трахеї.

Серце: міокард в'ялий, блідо-коричневого кольору. Судини сильно ін'єковані. Передсердя темно-вишневого, іноді – чорного кольору, їх стінки напружені, кровонаповнені, часто видно крововиливи під епікардом. Вони мають вигляд темно-червоних або чорних крапок, смуг і плям, розташованих окремо, групами або майже суцільно по всьому передсердю, уздовж вінцевих судин або на значній частині поверхні серця. При цьому в порожнині перикарда виявлявся ексудат від рожевого до темно-червоного (дещо) кольору, нерідко в значній кількості. Під ендокардом в окремих випадках виявляли крапчасті і смугасті чорно-червоні геморагії. У порожнинах серця кров погано згорнулася, її згустки пухкі, легко рвалися.

Тимус набряклий, у молодих тварин усіяний крапчастими або великими розлитими крововиливами, у дорослих (при його наявності) міг бути без виражених змін.

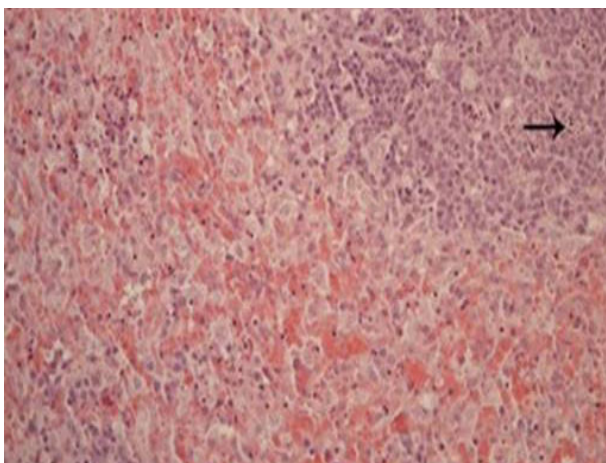
Селезінка: від темно-червоного до темно-фіолетового кольору з синюватим відтінком, збільшена в 1,5–3 рази, кровонаповнена, краї сильно заокруглені, при розрізі не сходились, капсула напружена, пульпа соковита, давала значний зішкріб.

З поверхні розрізу стікала темна густа кров'яниста рідина. Трабекули і фолікули завуальовані набряклого пульпою. Іноді спостерігали незначне збільшення і розм'якшення органу, малюнок при цьому, як правило, згладжений. Часто під капсулою виявляли крововиливи різного розміру. У кролят у віці до трьох-чотирьох місяців і у частини дорослих особин (що узгоджується з даними [Le Gall-Recule, 2003](#)) селезінка звичайного розміру, блідо забарвлена в рожево-коричневий з синім відтінком колір, в'яла, дає незначний зішкріб з розрізу.

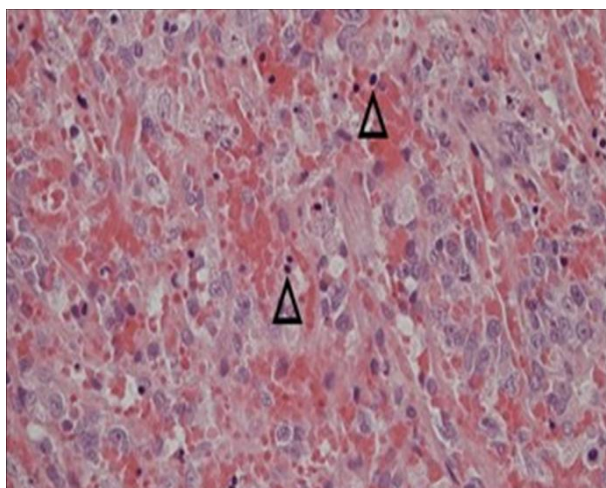
По тяжкості, постійності і діагностичній значимості гістологічних змін, органи можна розташувати наступним чином: печінка, органи дихання, нирки, селезінка, серце, головний мозок, тимус, інші органи. У загиблих тварин печінка уражається в 100 % випадків.

В селезінці спостерігається практично повна відсутність формених елементів крові, яскраво виражений набряк ретикулярного каркасу (рис. 3, 4). Міокард знаходиться в стані зернистої дистрофії, серцеві судини кровонаповнені, сполучна тканина набрякла, іноді пронизана еритроцитами.

Легені: колір від рожевого до темно-червоного і вишневого. Видно чергування рожевих і темно-червоних ділянок. Консистенція в'яла, при взятті пінцетом легені легко рвуться. Шматочки легень в воді важко плавали, а деякі тонули (з найтемніших ділянок).



**Рис. 3.** Фрагмент мікроскопічної будови селезінки кроля, загиблого від вірусної геморагічної хвороби (стрілкою показано гіперплазію макрофагів в червоній пульпі). Гематоксилін Ерліха та еозин. X 200



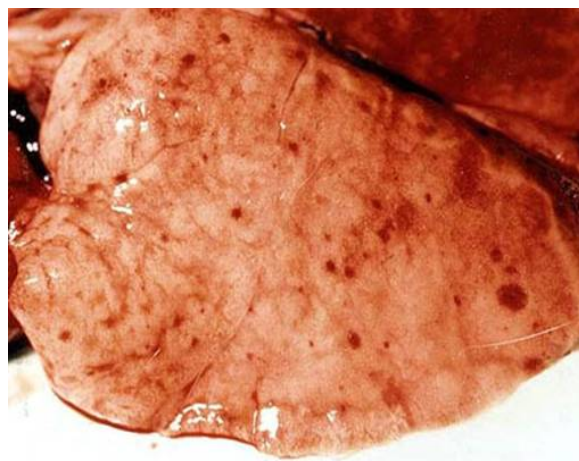
**Рис. 4.** Фрагмент мікроскопічної будови селезінки кроля, загиблого від вірусної геморагічної хвороби (конусами вказані пікнотичні клітини). Гематоксилін Ерліха та еозин. X 400

З розрізу стікав кров'янистий пінистий ексудат. З розширених венозних судин витікала темна кров. Крапчасті, плямисті і смугасті, темно-червоні геморагії зустрічалися як під плеврою, так і в глибині паренхіми органу. Часто спостерігалось явище серозно-геморагічної пневмонії (рис. 5).

Середостінні лімфатичні вузли збільшені, розм'якшені, сіро-червоного або темно-червоного кольору, на розрізі сіро-червоні, краї розрізу не сходяться, поверхня розрізу опукла, з неї стікала каламутна червона рідина. Підщелепові, передлопаткові, пахові, мезентеріальні лімфатичні вузли незначно збільшені, з розрізу стікала прозора світла рідина.

Діафрагма: сухожильна частина світло-сіра, гладенька, блискуча, м'язова частина – від блідо-рожевого до темно-червоного кольору, іноді на ній виявляли ділянки гіперемії і крововиливів. Малюнок м'язових волокон виражений.

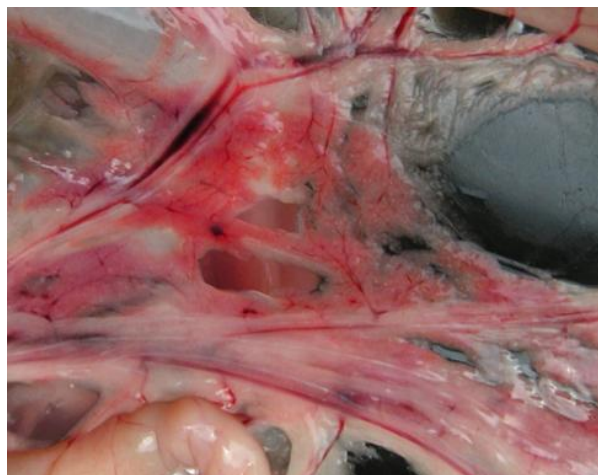
Підшлункова залоза дещо збільшена і почервоніла, соковита, дольчата, пружна.



**Рис. 5.** Легені загиблого кроля (набряклі і мають численні крововиливи)

Шлунок: вміст кашкоподібної консистенції, буро або жовто-зеленого кольору. Слизова оболонка мала колір від сіруватого до темно-червоного, набрякла. У деяких випадках вона була каламутна, плямисто гіперемійована або всяяна крововиливами та ерозіями з темно-червоним дном різної величини.

Тонкий кишечник був заповнений хімусом. Слизова оболонка каламутна, набрякла, колір від сіро-жовтого до темно-червоного, в деяких випадках слизова дифузно гіперемійована і / або пронизана множинними крапковими, смугастими і плямистими крововиливами. Гіперемія і геморагії найвиразніше виступали на верхівках складок. Кровоносні судини ін'єктовані кров'ю. На брижі різко виступали деревоподібні розгалуження із гіперемійованих судин, які переходять на стінки кишечника (рис. 6). Навколо дрібних судин відзначали різко виражений діатез.



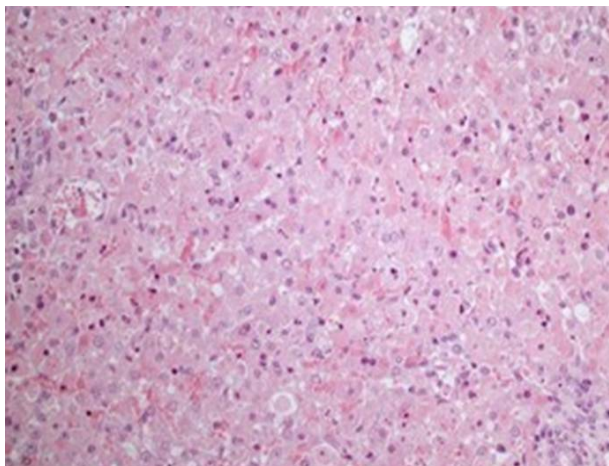
**Рис. 6.** Кровонаповнення судин брижі. Крововиливи в ній

Товстий кишечник: калові маси сформовані, слизова оболонка сіро-рожева, гладенька, блискуча. Кровоносні судини помірно ін'єктовані кров'ю.

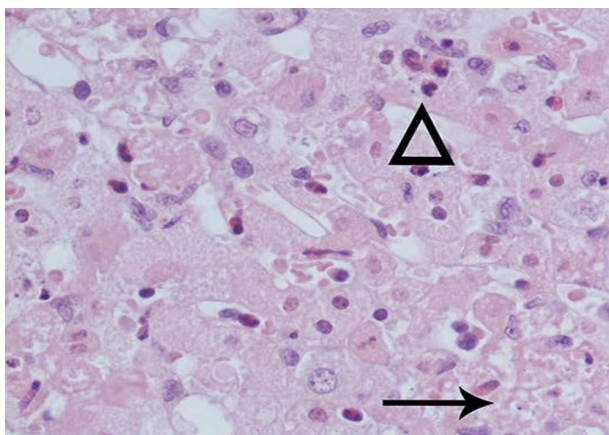
Печінка була від світло- або жовто-коричневого до темно-коричневого або темно-червоного з синюватим відтінком кольору, збільшена, в'яла, легко рвалася, капсула напружена. Зазвичай центральна частина

часточок дещо темніше периферії. Печінкові часточки збільшені, межі їх дещо згладжені. З поверхні розрізу стікала темна кров. Під капсулою в ряді випадків чітко видно дрібні крапчасті крововиливи, зрідка – смугасті (альтеративний гепатит). Часто в черевній порожнині знаходили геморагічний ексудат та вогнищеві некрози в печінці. Жовчний міхур заповнений темно-зеленою жовчю, іноді збільшений в 1,5–2 рази, слизова оболонка гладка, бархатиста.

Ураження печінки у кроликів були переважно в перипортальній області. Кількість поодиноких або невеликих груп перипортальних гепатоцитів, включаючи випадкові клітини, були некротизовані (рис. 7).



**Рис. 7.** Фрагмент мікроскопічної будови печінки кроля, загиблого від вірусної геморагічної хвороби (спостерігається печінково-клітинна дегенерація та некроз). Гематоксилін Ерліха та еозин. X 200



**Рис. 8.** Фрагмент мікроскопічної будови печінки кроля, загиблого від вірусної геморагічної хвороби (стрілками вказані ділянки некротизованих гепатоцитів). Гематоксилін Ерліха та еозин. X 400

Уражені гепатоцити мали гіпереозинофільну цитоплазму, що супроводжувалось каріорексисом або пікнозом ядер. На пізніх стадіях клітини або клітинні фрагменти округлювалися, зменшувалися в розмірах, часто містили пікнотичні ядерні фрагменти. Рідше уражені гіпереозинофільні гепатоцити зберігали свою

форму, а ядра зникали (каріолізіс). В інших частинах печінки були виявлені серед фрагментованих залишків гепатоцитів осередки некрозу і іноді кровотечі (рис. 8).

Нирки злегка збільшені в об'ємі, в'ялі, капсула помірно напружена, легко знімалася. Забарвлення на поверхні від світло- до темно-червоного або червоно-синюватого. На поверхні нирок і в паренхімі зустрічали темно-червоні крапчасті або смугасті вогнища гіперемії з нечіткими краями. З поверхні розрізу стікала незначна кількість темної крові. Найбільш різко гіперемійовані кірковий і мозковий шари. Патологія нирок складається з порушення мікроциркуляції і процесів некродистрофічного характеру і зачіпає кірковий і мозковий шари.

Сечовий міхур помірно наповнений, а іноді переповнений сечею, забарвленою в жовто-солом'яний або червонуватий колір. Слизова оболонка в багатьох випадках каламутна, набрякла, в окремих випадках – потовщена, гіперемійована і всіяна численними крапчастими і смугастими крововиливами.

Надниркові залози від жовтуватого до сіро-жовтого кольору, збільшені, в'ялі, легко рвуться при натисканні, набряклі, іноді значно набряклі, особливо в кірковій частині, яка має смугасто-строкате забарвлення. Нерідко на сіро-жовтому тлі залози видно крапчасті крововиливи.

Щитоподібна залоза від червоно-коричневого до темно-червоного кольору, збільшена, поверхня розрізу соковита, забарвлена дещо темніше, з синюватим відтінком, з неї стікає темна кров, іноді виявляли дрібні крововиливи.

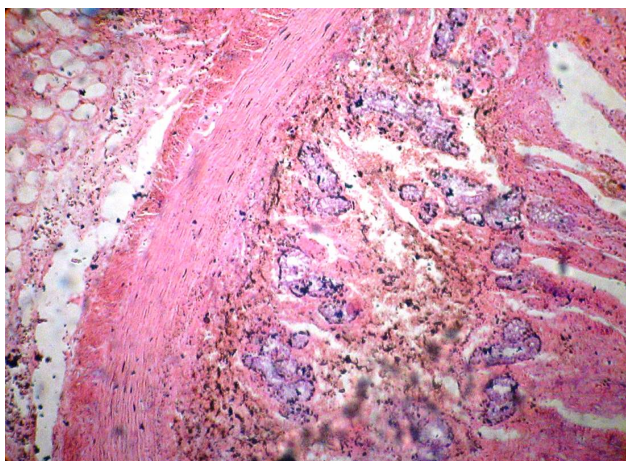
Слинні залози збільшені в об'ємі, тістоподібної консистенції, набряклі, поверхня розрізу нерівномірно забарвлена в сіро-червоно і темно-червоно коліри, зустрічалися поодинокі крапчасті крововиливи.

Сльозні залози світлі, сіро-рожеві, м'якої консистенції.

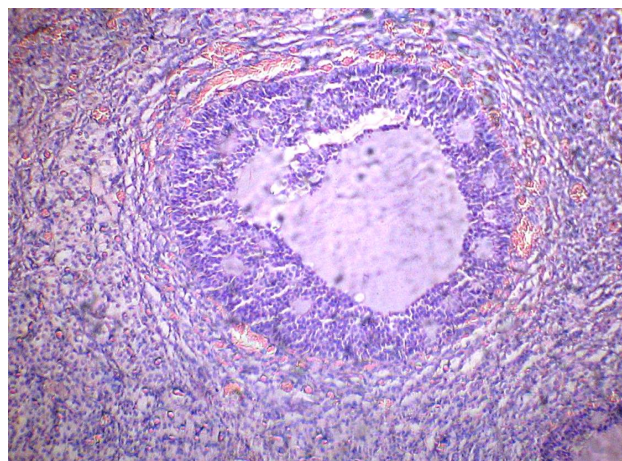
Головний мозок часто міг бути без видимих патологічних змін, в деяких випадках кровоносні судини мозку і його оболонки ін'єктовані кров'ю. Оболонки і речовина мозку набряклі. Речовина мозку волога, пружно-м'якої консистенції, межа між сірою і білою речовиною виражена чітко.

Статеві органи. У самок виявляли крововиливи в піхву, іноді – гематоми між серозним і м'язовим шарами, в ряді випадків – потовщення ендометрія, геморагічний ендометрит і вагініт. У самців макроскопічних змін нами не виявлено. У самок в матці виявляли відшарування оболонок, гіперплазію і набряк ендометрія, який виступав у вигляді складок, був інфільтрований лімфоїдними клітинами і гістіоцитами. Волокна міометрія розпушені, зустрічали діapedезні крововиливи і клітинні інфільтрати з лімфоцитів і гістіоцитів. Периметрій набряклий. У матковій трубці – набряк підслизового і серозного шарів (рис. 9). В яєчниках – різке кровонаповнення, набряк-тканинної оболонки фолікула (рис. 10).





**Рис. 9.** Фрагмент маткової труби. набряк підслизового і серозного шарів. Гематоксилін Ерліха та еозин. X 150



**Рис. 10.** Яєчник. набряк тканинної оболонки фолікула, різке кровонаповнення. Гематоксилін Ерліха та еозин. X 150

Отже, провідними патологоанатомічними змінами при вірусній геморагічній хворобі кролів є: а) венозний застій в стінках носових порожнин і трахеї (“червона трахея”); б) нерівномірне забарвлення, набряк і крововиливи в легенях; в) збільшення селезінки в 1,5–3 рази (слід враховувати, що селезінка може бути без видимих змін), г) в’яла печінка, вона різко кровонаповнена і дещо збільшена або світла, жовто-коричнева і в’яла (“варена печінка”); д) кровонаповнення і збільшення нирок; е) геморагії в тимусі і серці; ж) загальний венозний застій крові.

Найбільш значущі патоморфологічні зміни при постановці діагнозу на ВГХК є:

- венозний застій в стінках носових порожнин і трахеї (“червона трахея”);
- нерівномірне забарвлення, набряк і крововиливи в легенях; венозна гіперемія;
- збільшення селезінки в 1,5–3 рази, ліловий, з характерним фіолетовим відтінком колір органу;
- набряк ретикулярної тканини і загальне збіднення лімфоцитами червоної пульпи;
- в’яла печінка, вона різко кровонаповнена і дещо збільшена 3–4 години після загибелі тварини, а також блідість і ущільнення (“варена печінка”) в більш пізні терміни;
- тотальний некроз гепатоцитів і епітелію жовчного міхура при збереженні цілісності епітелію жовчних протоків;
- крововиливи, червоно-коричневе забарвлення і збільшення нирок;
- дистрофія і некроз паренхіми;
- множинні крапчасті геморагії в тимусі і серці;
- зерниста дистрофія міокарда;
- загальний венозний застій крові, виражений особливо яскраво у великих венах і серці.

Виявлення більшості з цих змін дозволяє поставити патоморфологічний діагноз на вірусну геморагічну хворобу кролів.

### Висновки

1. Патоморфологічні зміни при вірусній геморагічній хворобі кролів в паренхіматозних органах виражені порушенням гемодинаміки (гіперемія, набряки, крововиливи), дистрофічними і некротичними процесами в печінці (альтеративний гепатит), запальними і некротичними змінами в нирках (серозно-геморагічний гломерулонефрит, тубулярний некроз епітелію ниркових канальців), серозно-геморагічною бронхопневмонією і катарально-геморагічним гастроентеритом. У головному мозку виявлено зміни, характерні для гострого негнійного лімфоцитарного енцефаліту, справжня й несправжня нейронофагія, утворення клітин-тіней, гіперхроматоз і пікноз нейронів.

2. При проведенні аутопсії слід в першу чергу звертати увагу на застійну гіперемію в трахеї, гортані, носової порожнини, набряк, почервоніння і крововиливи в легенях. В інших органах (тимус, печінка, нирки, селезінка, серце та ін.) зміни можуть бути відсутні.

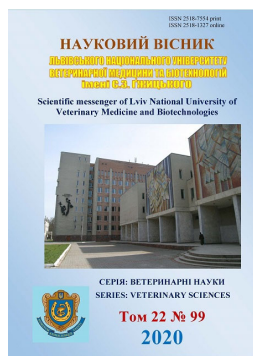
3. В паразитоподібній залозі також встановлені певні зміни (вакуольна дистрофія оксифільних клітин), слизових залоз (тромбоз судин, ядра епітеліоцитів не сприймали забарвлення) і статевих органах самок (різке кровонаповнення судин матки, крововиливи в піхву, іноді – гематоми, в ряді випадків – вагініт, ендометрит. В маткових трубах набряки підслизового і серозного шарів. У яєчниках різке кровонаповнення, набряк сполучнотканинних оболонок фолікулів).

Перспективи подальших досліджень є встановлення морфометричних показників патологічно змінених органів.

### References

- Bancroft, J. D., Layton, C., & Suvana, S. K. (2013). Bancroft’s Theory and Practice of Histological Techniques. 7th edition. Churchill Livingstone: Elsevier, 672.
- Cooke, B. D., & Fenner, F. (2002). Rabbit haemorrhagic disease and the biological control of wild rabbits,

- Oryctolagus cuniculus*, in Australia and New Zealand. *Wildl Res*, 29, 689–706. doi: 10.1071/WR02010.
- Dalton, K. P., Nicieza, I., & Abrantes, J. (2014). Spread of new variant RHDV in domestic rabbits on the Iberian Peninsula. *Veterinary Microbiology*, 169(1–2), 67–73. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.12.015.
- Delibes-Mateos, M., Delibes, M., Ferreras, P., & Villafuerte, R. (2008). Key role of European rabbits in the conservation of the Western Mediterranean basin hotspot. *Conserv Biol*, 22, 1106–1117. doi: 10.1111/j.1523-1739.2008.00993.
- Delibes-Mateos, M., Ferreras, P., & Villafuerte, R. (2008). Rabbit populations and game management: the situation after 15 years of rabbit haemorrhagic disease in central southern Spain. *Biodivers Conserv*, 17(3), 559–574. doi: 10.1007/s10531-007-9272-5.
- Delibes-Mateos, M., Redpath, S. M., Angulo, E., Ferreras, P., & Villafuerte, R. (2007). Rabbits as a keystone species in southern Europe. *Biol Conserv*, 137(1), 149–156. doi: 10.1016/j.biocon.2007.01.024.
- Farnos, O., Rodriguez, D., Valdes, O., Chiong, M., Parra, F., Toledo, J. R., Fernandez, E., Leonart, R., & Suarez, M. (2007). Molecular and antigenic characterization of rabbit hemorrhagic disease virus isolated in Cuba indicates a distinct antigenic subtype. *Arch Virol*, 152(6), 1215–1221. doi: 10.1007/s00705-006-0926-5.
- Horalskyi, L. P., Khomych, V. T., & Kononskyi, O. I. (2005). *Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii: navchalnyi posibnyk*. Zhytomyr: Polissia (in Ukrainian).
- Korniyenko, L. Ye., Dombrovskyy, O. B., Ponomar, S. I., & Antipov, A. A. (2003). *Infektsiyni ta invazyjni khvoroby kroliv. Bila Tserkva* (in Ukrainian).
- Le Gall-Recule, G., Zwingelstein, F., Laurent S., de Boissesson, C., Portejoie, Y., & Rasschaert, D. (2003). Phylogenetic analysis of rabbit haemorrhagic disease virus in France between 1993 and 2000, and the characterisation of RHDV antigenic variants. *Arch Virol*, 148, 65–81. doi: 10.1007/s00705-002-0908-1.
- Mitro, S., & Krauss, H. (1993). Rabbit hemorrhagic disease: a review with special reference to its epizootiology. *Eur J Epidemiol*, 9, 70–78. doi: 10.1007/BF00463093.
- Mouss, A., Chasey, D., Lavazza, A., Capucci, L., Smid, B., Meyers, G., Rossi, C., Thiel, H. J., Vlasak, R., Ronsholt, L., Nowotny, N., McCullough, K., & Gavier-Widen, D. (1992). Haemorrhagic disease of lagomorphs: evidence for a calicivirus. *Vet Microbiol*, 33(1-4), 375–381. doi: 10.1016/0378-1135(92)90065-2.
- O'Keefe, J. S., Tempero, J., Atkinson, P. H., Pacciarini, L., Fallacara, F., Horner, G. W., & Motha, J. (1998). Typing of rabbit haemorrhagic disease virus from New Zealand wild rabbits. *N Z Vet J*, 46(1), 42–43. doi: 10.1080/00480169.1998.36053.
- Puggioni, G., & Cavadini, P. (2013). The new French 2010 Rabbit Hemorrhagic Disease Virus causes an RHD-like disease in the Sardinian Cape hare (*Lepus capensis mediterraneus*). *Veterinary Research*, 44, 96–103. doi: 10.1186/1297-9716-44-96.
- Serdyukov, Ya. K., & Myrs'ka, L. R. (2014). *Patomorfologiya pechinky, nyrok ta lehen' kroliv pry virusniy hemorahichniy khvorobi. Problemy zoonzheneriyi ta veterynarnoyi medytsyny*, 28(2), 637–639. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm\\_2014\\_28%28%29\\_147](http://nbuv.gov.ua/UJRN/pzvm_2014_28%28%29_147) (in Ukrainian).
- Shevchenko, A. A., & Shevchenko, L. V. (2000). *Virusnyye bolezni krolikov*. Moskva: Akvarium (in Russian).
- Zharov, A. V. (2000). *Vskrytiye i patomorfologicheskaya diagnostika bolezney zhivotnykh*. Moskva: Kolos (in Russian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9923  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.52/.58.68.8

## Influence of protein-mineral feed additive from marine aquatic organisms on growth intensity and nonspecific resistance of broiler chickens under different microclimate conditions

N. I. Dankevych<sup>1</sup>, V. Z. Salata<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Odessa State Agrarian University, Odessa, Ukraine

<sup>2</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

### Article info

Received 14.09.2020

Received in revised form

13.10.2020

Accepted 14.10.2020

Odessa State Agrarian University,  
Panteleymonivska Str., 13, Odessa,  
65012, Ukraine.  
Tel.: (048) 785-10-43  
E-mail: dankevych82@gmail.com

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010,  
Ukraine.  
Tel.: +38-067-728-89-33  
E-mail: salatavolod@ukr.net

*Dankevych, N. I., & Salata, V. Z. (2020). Influence of protein-mineral feed additive from marine aquatic organisms on growth intensity and nonspecific resistance of broiler chickens under different microclimate conditions. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 155–160. doi: 10.32718/nvlvet9923*

The conducted research was aimed at determination of the impact produced by feeding protein and mineral feed additive produced out of the primary processing aquatic organisms wastes: sea mussels, red algae as well as of the sea water upon the productivity and non-specific resistance of broiler chickens raised in conditions of the normative and non-normative characteristics of the broiler house microclimate. The feed additive was applied to 20–42 day broiler chickens of “Ross 308” cross. The studied broilers were clinically healthy. Throughout the entire experiment, a series of the sanitary and hygienic microclimate parameters were determined, such as temperature, humidity, rate of changes as well as bacterial contamination of air, content of ammonia and carbon dioxide in air, and illumination of the broiler house. The house temperature was measured every day with the aid of a common spirit-in glass thermometer. Air humidity was established with the aid of an August psychrometer, air draft speed, harmful gas concentrations and illumination indicators were measured in compliance with the generally accepted methods. Bacterial contamination was determined with the use of the method of microorganism precipitation on a solid breeding ground placed in Petri dishes followed by a count of the bacterial colonies per 1 m<sup>3</sup>. The blood analysis included determination of haemoglobin, erythrocytes and leukocytes. In the blood serum, the lysozyme activity (LABS) and bactericidal activity (BABS) were determined. It was established that enriching the basic ration with the protein and mineral additive in quantity of 7 % in addition to the feed mass under conditions of the normative microclimate produced a positive effect on the growth intensity, livability and non-specific resistance indices of the broiler chickens. Thus, the live weight of broilers was reliably greater by 4.7 % and the livability equalled 100 %. The haemoglobin content was reliably greater by 7.6 %, erythrocytes – by 11.5 %, BABS – by 34.5 % and LABS – by 35.9 % as compared with the control group of broiler chickens. At the same time, when the studied feed additive was fed to broiler chickens kept in the microclimate conditions that did not meet the normative requirements, the reliable difference to the control indices was not established. Hence, the research results have proved that application of the protein and mineral feed additive is effective under the optimal microclimate conditions. High figures of livability and growth intensity of broiler chickens are based on a high resistance which is being formed provided the optimal microclimate and application of feed additives have been provided.

**Key words:** broiler chickens, aquatic organisms, mussels, red algae, haemoglobin, erythrocytes, bactericidal lysozyme activity, microclimate parameters.

## Вплив білково-мінеральної кормової добавки з морських гідробіонтів на інтенсивність росту і неспецифічну резистентність курчат-бройлерів за різних умов мікроклімату

Н. І. Данкевич<sup>1</sup>, В. З. Салата<sup>2</sup><sup>1</sup>Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна<sup>3</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Метою досліджень було встановити вплив згодкування білково-мінеральної кормової добавки, виготовленої з відходів первинної переробки гідробіонтів: морських мідій, червоних морських водоростей, а також морської води на стан продуктивності і неспецифічної резистентності курчат-бройлерів в умовах нормативних і ненормативних параметрів мікроклімату пташників. Застосування кормової добавки проводили на курчатах-бройлерах кросу "Ross 308" 20–42-добового віку. Під час дослідів птиця була клінічно здоровою. Упродовж усього експерименту визначали низку санітарно-гігієнічних параметрів мікроклімату: температуру, вологість і швидкість руху, а також бактеріальне забруднення повітря, вміст у ньому аміаку і вуглекислого газу, а також освітленість приміщення. Вимірювання температури приміщення проводили щоденно за допомогою побутового спиртового термометра. Вологість повітря встановлювали за допомоги психрометра Августа, показники швидкості руху повітря, концентрацію шкідливих газів, показники освітленості – за загальноприйнятими методиками. Бактеріальне забруднення повітря визначали методом осадження мікроорганізмів на тверде поживне середовище у чашках Петрі з наступним підрахунком колоній бактерій на 1 м<sup>3</sup>. У крові визначали вміст гемоглобіну, еритроцитів і лейкоцитів. У сироватці крові визначали лізоцимну активність (ЛАСК), а також бактерицидну активність (БАСК). Встановлено, що збагачення основного раціону білково-мінеральною кормовою добавкою в кількості 7 % додатково до маси корму в умовах нормативного мікроклімату позитивно вплинуло на інтенсивність росту, збереженість, а також показники неспецифічної резистентності курчат-бройлерів. Так, жива маса курчат була достовірно більшою на 4,7 %, збереженість становила 100 %. Порівняно з контролем були достовірно більшими: вміст гемоглобіну на 7,6 %, еритроцитів – на 11,5 %, БАСК – на 34,5 %, ЛАСК – на 35,9 %. Натомість, за умови згодкування досліджуваної кормової добавки курчатам-бройлерам в умовах мікроклімату, що не відповідав нормативним вимогам, достовірної різниці з показниками контролю не встановлено. Отже, результати дослідження засвідчили, що використання білково-мінеральної кормової добавки є ефективним в умовах оптимального мікроклімату. Високі показники збереженості і інтенсивності росту курчат-бройлерів забезпечуються високою резистентністю, що формується за умови забезпечення оптимального мікроклімату і використання кормових добавок.

**Ключові слова:** курчата, морські гідробіонти, еритроцити, гемоглобін, БАСК, ЛАСК, параметри мікроклімату.

### Вступ

Продуктивність курей залежить від багатьох санітарно-гігієнічних та технологічних факторів: способу утримання, розміру груп, щільності посадки, параметрів мікроклімату, організації годівлі. За кожним санітарно-гігієнічним показником (температура, вологість, швидкість руху повітря і ступінь його забруднення, фронт годівлі і напування, світловий режим) встановлено певні діапазони їх значень, за яких птахи витрачають мінімальну кількість енергії для підтримки фізіологічних процесів на оптимальному рівні (Demchuk et al., 2006; Bogatko et al., 2017; Ventura & da Silva, 2019). У той же час, використання кормових добавок може значно покращити кількісні і якісні показники їх продуктивності, забезпечити ефективне використання кормових ресурсів (Szabó et al., 2005; Beski et al., 2015; Kukhtyn et al., 2020).

Можливим джерелом збагачення раціонів сільськогосподарських тварин поживними і біологічно активними речовинами є морські гідробіонти. Одними з них можуть бути морські мідії і червоні водорості (Ikusika et al., 2019). До складу стулок мідій входять Кальцій, Фосфор, інші макро- і мікроелементи, що необхідні організму тварин і добре засвоюються. Тіла мідій містять значну кількість повноцінного протеїну (Morris et al., 2019). Враховуючи, що м'ясо мідій є цінним продуктом для людини, в годівлі тварин його не застосовують. Для виготовлення кормових добавок можна використовувати відходи їх первинної переробки: стулки великих і тіла дрібних мідій (Jonsson & Elwinger, 2009). Червоні морські водорості є багатим джерелом поживних і біологічно активних речовин, найбільш "врожайними" рослинами моря. За вмістом

поживних речовин їх прирівнюють до якісного зерна. У значній кількості такі водорості містять протеїн, жир, клітковину, безазотні екстрактивні мінеральні речовини, а також Йод (Gómez-Ordóñez et al., 2012; Souza et al., 2012; de Jesus Raposo et al., 2015).

Використання морських гідробіонтів в годівлі сільськогосподарської птиці є перспективним заходом з точки зору підвищення якості яєць, м'яса, ефективності використання корму (Świątkiewicz & Arczewska-Wlosek, 2012). Крім того, використання відходів первинної переробки морських гідробіонтів у годівлі сільськогосподарських тварин сприяло б вирішенню важливої екологічної і економічної проблеми – їх утилізації (McLaughlan et al., 2014).

Мета роботи – встановити вплив білково-мінеральної кормової добавки, виготовленої з морських гідробіонтів на стан продуктивності і неспецифічної резистентності курчат-бройлерів в умовах нормативних і ненормативних параметрів мікроклімату пташників.

### Матеріал і методи досліджень

Експериментальні дослідження проводили на курчатах-бройлерах кросу "Ross 308" в ПП "АГРОФІР-МА БУДАКИ" Одеської обл. Під час дослідів птиця була клінічно здоровою. Утримання курчат та маніпуляції з ними виконували згідно положень документу "Загальні етичні принципи експериментів на тваринах", ухваленого Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.).

Перші 20 днів курчата знаходились в однакових умовах годівлі і утримання. На 21 добу було сформовано 3 групи птиці (контрольну і дві дослідні) по

50 голів, яких утримували у клітках різних пташників за утримання на підлозі. Всього дослід тривав 42 доби. Упродовж нього курчата контрольної групи отримували тільки основний раціон, що був збалансованим за основними показниками (табл. 1).

Курчата-бройлери першої і другої дослідної групи отримували раціон, до якого додавали білково-мінеральну кормову добавку (табл. 2).

**Таблиця 1**

Склад повнораціонного комбікорму для курчат-бройлерів віком 4–6 тижнів

Показники	Склад комбікорму	
	%	г
Пшениця	30	30
Ячмінь	3	3
Кукурудза	25	25
Макуха соняшникова	10	10
Макуха соєва	25	25
Білково-вітамінна добавка для курчат-бройлерів віком 1–3 тижнів	5	5
5 % “Годівля Нова”		
Соняшникова або соєва олія, фуз олійний	2	2
Разом	100	100

**Таблиця 2**

Схема дослідів

Група	Тривалість періоду, діб		Кількість курчат, гол.	Особливості годівлі
	зрівняльний	основний		
Контрольна	8	22	50	Основний раціон
Дослідна 1	8	22	50	ОР + білково-мінеральна добавка у кількості 7 г/100 г комбікорму
Дослідна 2	8	22	50	ОР + білково-мінеральна добавка у кількості 7 г/100 г комбікорму

Птицю утримували в клітках двох пташників. Птицю контрольної і першої дослідної групи утримували у пташнику, де підтримували показники мікроклімату, що відповідали нормативним параметрам згідно ВНТП-АПК-04.05. Птицю другої дослідної групи утримували в пташнику, де параметри мікроклімату не повністю відповідали цим параметрам.

Упродовж усього дослідів визначали низку санітарно-гігієнічних параметрів мікроклімату: температуру, вологість і швидкість руху, а також бактеріальне забруднення повітря, вміст у ньому аміаку і вуглекислого газу, а також освітленість приміщення. Вимірювання температури приміщення проводили щоденно за допомогою побутового спиртового термометра. Вологість повітря визначали психрометром Августа, показники швидкості руху повітря, концентрацію шкідливих газів, показники освітленості – за загальноприйнятими методиками (Demchuk et al., 2006). Бактеріальне забруднення повітря визначали методом осадження мікроорганізмів на тверде поживне середовище у чашках Петрі з наступним підрахунком колоній бактерій та перерахунком на 1 м<sup>3</sup> повітря.

Білково-мінеральну кормову добавку використовували в формі пасти, що була виготовлена з дрібно мелених відходів первинної переробки морських гідробіонтів: стулок великих і тіл дрібних чорноморських мідій (*Mytilus galloprovincialis*), морської червоної водорості філофори ребристої (*Phyllophora nervosa*) – “йодки”, а також морської води (Kovbasenko & Dronova, 2008; Kovbasenko & Karajvan, 2009).

У крові визначали кількість гемоглобіну, еритроцитів і лейкоцитів. У сироватці крові визначали лізоцимну активність (ЛАСК) нефелометричним методом за Дорофейчуком В. Г. (1968), а також бактерицидну активність (БАСК) фотонфелометричним кюветним методом за Ю.М. Марковим (Vlizlo et al., 2012).

### Результати та їх обговорення

Гігієнічні показники (щільність посадки, світловий режим, газовий склад повітря) у пташнику, де утримували курчат контрольної і першої дослідної групи, відповідав параметрам ВНТП-АПК-03-05. (птахівничі підприємництва). Щільність посадки становила 7 гол. курчат на 1 м<sup>2</sup> підлоги, освітленість – лк/м<sup>2</sup>.

За результатами визначення санітарно-гігієнічного стану мікроклімату в приміщенні для курчат-бройлерів контрольної і першої дослідної групи, яке виконували впродовж кожного дня останнього тижня дослідів, встановлено такі його показники (табл. 3): температура повітря – 24,4 ± 0,21 °С, його відносна вологість – 57,3 ± 0,78 %, швидкість руху 0,35 ± 0,04 м/с, вміст у ньому аміаку – 18,5 ± 0,04 мг/м<sup>3</sup>, вміст вуглекислого газу – 2,4 ± 0,01 л/м<sup>3</sup>, бактеріальне забруднення повітря – 178,61 ± 5,87 тис. КУО/м<sup>3</sup>. У клітці курчат другої дослідної групи показники мікроклімату відрізнялись від таких контрольної і першої дослідної групи і становили: температура повітря – 27,6 ± 0,23 °С, його відносна вологість – 68,4 ± 2,51 %, його швидкість

руху –  $0,28 \pm 0,03$  м/с, уміст аміаку –  $26,4 \pm 0,05$  мг/м<sup>3</sup>, уміст вуглекислого газу –  $2,8 \pm 0,01$  л/м<sup>3</sup>, бактеріальне забруднення повітря –  $258,43 \pm 6,87$  тис. КУО/м<sup>3</sup>.

Отже, параметри мікроклімату в приміщенні, де утримували курчат другої дослідної групи, не в пов-

ній мірі відповідав нормативам, рекомендованих ВНТП-АПК-04.05.

За результатами забою курчат-бройлерів, який було проведено в кінці дослідження, було встановлено такі їх показники (табл. 4).

**Таблиця 3**

Параметри мікроклімату в приміщеннях для курчат-бройлерів,  $M \pm m$ ,  $n = 7$

Показники, що досліджували	Група			Нормативи
	контрольна	дослідна 1	дослідна 2	
Температура повітря, °С		$24,4 \pm 0,21$	$27,6 \pm 0,23$	20
Відносна вологість повітря, %		$57,3 \pm 0,78$	$68,4 \pm 2,51$	65–70
Швидкість руху повітря, м/с		$0,35 \pm 0,04$	$0,28 \pm 0,03$	0,1–0,5
Концентрація (аміак) NH <sub>3</sub> , мг/м <sup>3</sup>		$18,5 \pm 0,04$	$26,4 \pm 0,05$	15,0
Концентрація (вуглекислота) CO <sub>2</sub> , л/м <sup>3</sup>		$2,4 \pm 0,01$	$2,8 \pm 0,01$	0,25
Бактеріальне забруднення повітря, тис. КУО/м <sup>3</sup>		$178,61 \pm 5,87$	$258,43 \pm 6,87$	50

**Таблиця 4**

Показники живої маси і витрат корму для курчат-бройлерів за різних умов утримання і згодовування кормової добавки,  $M \pm m$ ,  $n = 50$

Показники	Група		
	Контрольна	Дослідна 1	Дослідна 2
Голів у групі:			
- на початок дослідження	50	50	50
- в кінці дослідження	50	50	46
Маса тіла курчат, г:			
- на початок дослідження	42,05	42,03	41,93
Жива маса у віці 20 днів, г	$830,2 \pm 24,3$	$828,0 \pm 20,80$	$832,7 \pm 22,7$
Жива маса у віці 42 доби, г	$2617,1 \pm 28,38$	$2740,3 \pm 25,82^{**}$	$2636,0 \pm 19,54$
Приріст живої маси на групу, кг	89,35	95,62	82,95
Середньодобовий приріст, г	61,3	64,2	61,6
Збереженість, %	100,0	100,0	96,0
Спожито корму за 22 доби, г/гол.	3396	3393	3397
Витрати корму на групу, кг	169,8	169,65	169,85
Спожито БМД за 22 доби, г/гол.	—	237,95	237,95
Затрати корму за дослід, г/гол.	930,0	911,0	916,0
Затрати корму на 1 кг приросту, кг	1,90	1,77	2,05

Примітка: \*\* –  $P \leq 0,01$  порівняно до контролю

За результатами дослідження встановлено, що збереженість курчат контрольної і першої дослідної групи становила 100 %, другої дослідної групи – 96,0 %. Жива маса курчат першої дослідної групи порівняно з контролем була більшою на 4,7 % ( $P \leq 0,01$ ), другої дослідної групи – на 0,7 %. Відповідно, добовий приріст був більшим у курчат першої дослідної групи на 4,8 %, другої – на 0,5 %. Наші дані щодо збільшення показника збереженості і інтенсивності росту курчат-бройлерів за використання білково-мінеральної кормової добавки, виготовленої з морських гідробіонтів підтверджують інформацію [Oso et al. \(2011\)](#), [Xing et al. \(2020\)](#) про збільшення збереженості і маси тіла курей, а також курчат-бройлерів за використання кормових добавок, виготовлених з морських моллюсків. З іншого боку, отримані нами дані щодо відсутності стимулюючого впливу на інтенсивність росту курчат-бройлерів другої дослідної групи узгоджується з інформацією [Buğdaycı et al. \(2019\)](#) щодо відсутності збільшення маси тіла японських перепелів за використання ступок середземноморських мідій.

Відмінності в інтенсивності росту, споживанні корму і збереженості курчат дослідних і контрольної груп зумовили різницю в показниках затрат корму на 1 кг приросту живої маси. Якщо за період дослідження у контрольній птиці витрати корму становили 1,90 кг на 1 кг приросту маси тіла, то в першій дослідній групі – 1,77 кг, у другій дослідній групі – 2,05 кг, що було відповідно менше на 6,8 % і більше на 7,9 %.

Як відомо, морфологічні показники крові курчат об'єктивно відображають їх адаптаційну здатність до гігієно-технологічних факторів, інтенсивність перебігу фізіологічних процесів, рівень обміну речовин. Кількість формених елементів крові є “дзеркалом” стану неспецифічної резистентності тварин ([Bueno et al., 2017](#)). Основні морфологічні показники крові курчат контрольної і дослідних груп, яким застосовували кормову добавку, яку виготовляли з відходів первинної переробки морських гідробіонтів, приведено в табл. 5.

**Таблиця 5**

Морфологічні показники крові курчат дослідних груп,  $M \pm m$ ,  $n = 10$

Показники	Група		
	контрольна	дослідна 1	дослідна 2
Гемоглобін, г/л	86,08 ± 1,83	92,61 ± 1,77*	85,90 ± 1,60
Еритроцити, Т/л	2,88 ± 0,11	3,21 ± 0,17	2,97 ± 0,23
Лейкоцити, Г/л	29,34 ± 1,08	31,88 ± 1,62	28,03 ± 1,34

Примітка: \* –  $P \leq 0,05$  порівняно до контролю

Згідно даним, наведеним в таблиці, використання кормової добавки з морських гідробіонтів в умовах нормативного мікроклімату сприяло збільшенню деяких показників крові курчат-бройлерів на 42 добу експерименту. Так, рівень гемоглобіну був більший на 7,6 % ( $P \leq 0,01$ ), еритроцитів – на 11,5 %. Одержані нами дані узгоджуються з інформацією [Hrabčáková et al. \(2014\)](#) стосовно наявності позитивної кореляції в птахів між кількістю еритроцитів, гемоглобіну і лейкоцитів. За використання кормової добавки в умовах

невідповідного нормативам мікроклімату такі зміни не були достовірними. Уміст лейкоцитів у крові курчат першої і другої дослідних груп порівняно з контрольною групою достовірної різниці не мав.

Гуморальним фактором захисту у підтримці неспецифічної резистентності організму належить важлива роль. БАСК, як інтегральний показник природної резистентності, що відображає імунний стан організму. Результати визначення БАСК і ЛАСК у курчат дослідних груп наведені в табл. 6.

**Таблиця 6**

Гуморальні фактори неспецифічної резистентності крові курчат-бройлерів 42-добового віку,  $M \pm m$ ;  $n = 5$

Показник	Група		
	контрольна	дослідна 1	дослідна 2
БАСК	30,08 ± 2,15	40,46 ± 2,08**	32,47 ± 0,94
ЛАСК	29,60 ± 2,51	40,22 ± 3,03*	30,20 ± 1,46

Примітка: \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$  порівняно до контролю

При визначенні потенційних можливостей гуморального імунітету в порівняльному аспекті дослідили ЛАСК і БАСК курчат контрольної і двох дослідних груп. Експериментальні дані вказують на те, що при утриманні курчат за умов нормативного мікроклімату і використанні білково-мінеральної добавки у них збільшується БАСК. Так, на 42 добу зафіксували підвищення цього показника в курчат першої дослідної групи на 34,5 % ( $P \leq 0,01$ ). Згодовування кормової добавки в умовах ненормативного мікроклімату порівняно з контролем цей показник достовірно не змінило, він був більшим на 7,9 % ( $P > 0,05$ ). Аналогічно до змін БАСК, в кінці терміну вирощування ЛАСК у курчат першої дослідної групи була на 35,9 % більшою ( $P \leq 0,05$ ), ніж в контролі. У курчат-бройлерів другої дослідної групи цей показник був більшим тільки на 2,0 % ( $P > 0,05$ ).

Таким чином, результати дослідження показали, що адаптаційно-захисні функції в організмі дослідних курчат-бройлерів, які забезпечують високу резистентність і продуктивність, формуються за умови забезпечення в пташниках оптимальних показників мікроклімату і використання кормових добавок. Використання кормових добавок в умовах ненормативного мікроклімату показники продуктивності курчат і неспецифічної резистентності не збільшило.

### Висновки

1. Згодовування курчатам-бройлерам білково-мінеральної кормової добавки, виготовленої з морських гідробіонтів в умовах нормативного

мікроклімату позитивно вплинуло на організм, сприяло високій збереженості, яка в курчат контрольної і першої дослідної групи становила 100 %, курчат другої дослідної групи – 96,0 %, а також більшим приростам живої маси курчат першої дослідної групи на 4,7 %, другої дослідної групи – на 0,7 %. Відповідно добовий приріст був більшим у курчат першої дослідної групи на 4,6 %, другої дослідної групи – на 0,6 %.

2. Згодовування білково-мінеральної кормової добавки в умовах нормативного мікроклімату стимулювало еритроцитопоез, про що свідчило збільшення вмісту гемоглобіну на 7,6 %, еритроцитів – на 11,5 %.

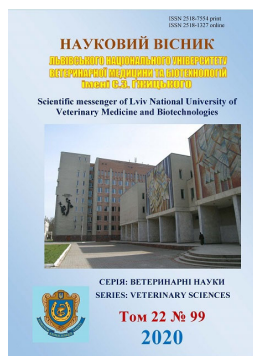
3. При використанні білково-мінеральної добавки при утриманні курчат за умов нормативного мікроклімату у них збільшується БАСК на 34,5 % ( $P \leq 0,01$ ), ЛАСК – на 35,9 % ( $P \leq 0,05$ ).

### References

- Beski S. S. M., Swick R. A., & Iji, P. A. (2015). Specialized protein products in broiler chicken nutrition: A review. *Animal Nutrition*, 1(2), 47–53. doi: 10.1016/j.aninu.2015.05.005.
- Bogatko, N., Bogatko, L., Salata, V., Semaniuk, V., Serdioucov, J., & Schyrevuch, G. (2017). Veterinary-sanitary control of safety and quality of meat products. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(73), 7–10. doi: 10.15421/nvlvet7302.

- Bueno, J. P. R., Nascimento, M. R. B. M., Martins, J. M. S., Marchini, C. F. P., Gotardo, L. R. M., Sousa, G. M. R., Mundim, A. V., Guimarães, E. C., & Rinaldi, F. P. (2017). Effect of age and cyclical heat stress on the serum biochemical profile of broiler chickens. *Influência da idade e do estresse cíclico de calor no perfil bioquímico sérico em frangos de corte*. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 38(3), 1383–1392. doi: 10.32819/2020.81009.
- Buğdaycı, K. E., Gümüş, H., Oğuz, M. N., Karakaş Oğuz, F., & Gülle, İ. (2019). Effects of Mediterranean Mussel Shell (*Mytilus galloprovincialis*) on Performance and Egg Quality in Laying Quails. *Acta Vet Eurasia*, 45, 22–29. doi: 10.26650/actavet.2019.18010.
- de Jesus Raposo, M. F., de Moraes, A. M., & de Moraes, R. M. (2015). Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Marine Drugs*, 13, 2967–3028. doi: 10.3390/md13052967.
- Demchuk, M. V., Chorny`j, M. V., Zaxarenko, M. O., & Vy`sokos, M. P. (2006). *Gigiyena tvary`n: pidruchny`k*. Xarkiv: Espada (in Ukrainian).
- Gómez-Ordóñez, E., Jiménez-Escrig, A., & Rupérez, P. (2012). Effect of the red seaweed *Mastocarpus stellatus* intake on lipid metabolism and antioxidant status in healthy Wistar rats. *Food Chemistry*, 135, 806–811. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.04.138.
- Hrabčáková, P., Voslářová, E., Bedáňová, I., Pištěková, V., Chloupek, J., & Večerek, V. (2014). Haematological and biochemical parameters during the laying period in common pheasant hens housed in enhanced cages. *ScientificWorldJournal*, 2014, 364602. doi: 10.1155/2014/364602.
- Ikusika, O. O., Mpendulo, C. T., Zindove, T. J., & Okoh, A. I. (2019). Fossil shell flour in livestock production: A Review. *Animals (Basel)*, 9(3), 70. doi: 10.3390/ani9030070.
- Jonsson, L., & Elwinger, K. (2009). Mussel meal as a replacement for fish meal in feeds for organic poultry – a pilot short term study. *Acta Agriculturae Scandinavica – Section A. Animal Science*, 59, 22–27. doi: 10.1080/09064700902730158.
- Kovbasenko, V. M., & Dronova, N. I. (2008). Sposib oderzhannya kormovoyi dobavky` z mors`ky`x gidrobiontiv dlya pty`ci: pat. 34634 Ukrayina. u4200808275; zayavl. 19.06.2008; opubl. 11.08.2008; Byul. 15, 4 (in Ukrainian).
- Kovbasenko V. M., & Karajvan N. I. (2009). Sposib oderzhannya kormovoyi dobavky` z mors`ky`x gidrobiontiv dlya pty`ci: pat. 42687 Ukrayina. u 4200903402; zayavl. 09.04.2009; opubl. 10.07.2009; Byul. 13, 4 (in Ukrainian).
- Kukhtyn, M., Salata, V., Berhilevych, O., Malimon, Z., Tsvihun, A., Gutyj, B., & Horiuk, Y. (2020). Evaluation of storage methods of beef by microbiological and chemical indicators. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14, 602–611. doi: 10.5219/1381.
- McLaughlan, C., Rose, P., David, C., & Aldridge, D. C. (2014). Making the Best of a Pest: The potential for using invasive zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) biomass as a supplement to commercial chicken feed. *Environmental Management*, 54, 1102–1109. doi: 10.1007/s00267-014-0335-6.
- Morris, J. P., Backeljau, T., & Chapelle, G. (2019). Shells from aquaculture: a valuable biomaterial, not a nuisance waste product. *Reviews in Aquaculture*, 11, 42–57. doi: 10.1111/raq.12225.
- Oso, A. O., Idowu, A. A., & Niameh, O. T. (2011). Growth response, nutrient and mineral retention, bone mineralisation and walking ability of broiler chickens fed with dietary inclusion of various unconventional mineral sources. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 95(4), 461–467. doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.01073.x.
- Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Teixeira, J. A., Coimbra, M., & Vicente A. (2012). Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. *Food Hydrocolloids*, 27, 287–292. doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.10.005.
- Świątkiewicz, S., & Arczewska-Włosek, A. (2012). Bone quality characteristics and performance in broiler chickens fed diets supplemented with organic acids. *Czech Journal of Animal Science*, 57(4), 193–205. doi: 10.17221/6004-cjas.
- Szabó, A., Mézes, M., Horn, P., Sütő, Z., Bázár, G. Y., & Romvári, R. (2005). Developmental dynamics of some blood biochemical parameters in the growing turkey (*Meleagris gallopavo*). *Acta Veterinaria Hungarica*, 53(4), 397–409. doi: 10.1556/AVet.53.2005.4.1.
- Ventura, M. V. A., & da Silva, R. M. (2019). Bone problems caused by the deficiency of calcium and phosphorus in the feeding of broilers. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 16(4), 12223–12226. doi: 10.26717/BJSTR.2019.16.002886.
- Vlizo, V. V., Fedoruk, R. S., & Raty`ch, I. B. (2012). *Laboratorni metody` doslidzhennya u biologiyi, tvary`nny`cztyvi ta vetery`narnij medy`cy`ni: dovidny`k*. L`viv: Spolom (in Ukrainian).
- Xing, R., Yang, H., Wang, X., Yu, H., Liu, S., & Li, P. (2020). Effects of calcium source and calcium level on growth performance, immune organ indexes, serum components, intestinal microbiota, and intestinal morphology of broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research*, 29(1), 106–120. doi: 10.3382/japr/pfz033.





Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9924  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.98:579.842.23:616-07:636

## Clinical signs in dogs attributed to *Yersinia enterocolitica* antigen 0:9

I. Zon, G. Zon, L. Ivanovskaya

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

### Article info

Received 14.09.2020  
Received in revised form  
15.10.2020  
Accepted 16.10.2020

Sumy National Agrarian University,  
G. Kondratieva Street, 160, Sumy,  
40021, Ukraine.  
Tel.: +38-05-03-076-090,  
+38-09-92-545-215,  
+38-09-96-833-414  
E-mail: zonilya@hotmail.com,  
zon\_g@ukr.net,  
lusj0951@gmail.com

**Zon, I., Zon, G., & Ivanovskaya, L. (2020). Clinical signs in dogs attributed to *Yersinia enterocolitica* antigen 0:9. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 22(99), 161–166. doi: 10.32718/nvlvet9924**

Canine yersiniosis is currently a scantily researched disease. Two agents predominately cause yersiniosis: *Y. enterocolitica* (gut yersiniosis), *Y. pseudotuberculosis* (yersiniosis). There are three clinical forms of the disease: intestinal, generalized and secondary-focal. Current available research states the prevalence of *Y. enterocolitica* against other biovariants in canine infections. The majority of infected dogs demonstrate both asymptomatic clinical course and unspecific symptoms or serve as a carrier. Meanwhile yersiniosis pose a threat to human health causing a severe complex of symptoms. In some cases the disease can be lethal, thus the disease has both epizootological and epidemiological value. The goal of this paper was to generalize clinical signs in dogs that demonstrated positive reaction to *Y. enterocolitica* antigen 0:9, which is a dominant causative agent of yersiniosis in the northeastern region of Ukraine. The study was conducted based on clinical data, biochemical and hematological laboratory studies. Contamination of canine subjects with *Y. enterocolitica* 0:9 was conducted using agglutination reaction using respective antigen. The research showed, that the dominant symptoms in canines, affected by *Yersinia* serovariant 0:9 were gastrointestinal lesions in 100 % of the cases. The clinical signs included melena or bloody stool, general depression, anorexia, cachexia, more rarely – vomiting, tachypnea and breathing irregularities. The results of biochemical blood assays and CBC were heterogeneous and cannot be used as a specific marker of *Yersinia* infection. The main method of confirmation for *Yersinia* infection would be a serological agglutination reaction, which can identify positive diagnostic titers in animal blood samples. Further research is planned to study mono- and concurrent course of *Yersiniosis* with different infectious diseases.

**Key words:** dogs, *Yersiniosis*, antigen *Y. enterocolitica* 0:9, clinical signs.

## Клінічні ознаки у собак, що позитивно реагують на антиген *Yersinia enterocolitica* 0:9

I. Г. Зон, Г. А. Зон, Л. Б. Івановська

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Ієрсиніоз собак досі маловивчене захворювання. Найчастіше його викликають два збудники – *Y. enterocolitica* (кишковий ієрсиніоз) і *Y. pseudotuberculosis* (ієрсиніоз). Виділяють три клінічні форми хвороби: кишкову, генералізовану, вторинно-вогнецеву. Відомі дослідження вказують на переважання *Y. enterocolitica* над іншими біоварами в інфекційному процесі у собак. У більшості інфікованих собак захворювання перебігає безсимптомно з неспецифічною клінічною картиною або у вигляді бактеріоносійства. Водночас ієрсиніози становляють загрозу здоров'ю людини, проявляючись складним симптомокомплексом, а в окремих випадках закінчуються летально. Тому ієрсиніоз має як епізоотологічне, так і епідеміологічне значення. Мета роботи – узагальнити клінічні ознаки у собак, які в діагностичних титрах реагували на ієрсиніозний антиген *Y. enterocolitica* 0:9, домінуючий збудник кишкового ієрсиніозу собак в північно-східному регіоні України. У роботі використовували клінічні, гематологічні та біохімічні дослідження. Позитивні реакції на контамінацію організму собак *Y. enterocolitica* 0:9 визначали в реакції аглютинації з відповідним антигеном. Дослідження показали, що домінуючими симптомами при ураженні собак сероваром 0:9 у 100 % випадків було ураження шлунково-кишкового тракту з діареєю, з домішками крові у фекаліях, на тлі пригнічення, анорексії, кахексії. Рідше хвороба супроводжувалася блюванням і порушенням ритму дихання. Результати гематологічних та біохімічних досліджень у

собак з позитивною реакцією на ієрсиніозний антиген 0:9 характеризувалися різноманітністю і не можуть служити діагностичним маркером ієрсиніозної інфекції. Основною підозрою на захворювання кишкового ієрсиніозом може слугувати серологічна реакція аглютинації з виявленням позитивно реагуючих тварин в діагностичних титрах. Подальші дослідження плануються спрямувати на вивчення моно- і асоційованого перебігу ієрсиніозу з іншими захворюваннями собак інфекційної природи.

**Ключові слова:** собаки, ієрсиніоз, антиген *Y. enterocolitica* 0:9, клінічні ознаки.

## Вступ

Ієрсиніоз собак найчастіше спричиняється двома бактеріальними збудниками: *Yersinia enterocolitica* і *Yersinia pseudotuberculosis*. Найбільше поширення має так званий кишковий ієрсиніоз, що спричиняється *Y. enterocolitica* і є особливо небезпечним для цуценят (Skibitskiy & Kozlovska, 2012). В окремих повідомленнях описуються факти контамінації собак *Y. intermedia* та *Y. frederiksenii* (Fukushima et al., 1984). При кишковому ієрсиніозі інкубаційний період становить 1–6, іноді до 9 діб.

Смертність собак від кишкового ієрсиніозу може коливатися в межах 1–5 %. Частіше у тварин реєструють безсимптомний перебіг хвороби, який виявляють на фоні ускладнень іншими захворюваннями (Babkin & Nikolaenko, 2005).

Експериментально доведено, що в організмі собак *Y. enterocolitica* може перебувати протягом 23 діб за відсутності симптомів (Fenwich et al., 1994; Hayashidani et al., 1995).

Інфіковані собаки можуть бути небезпечними для людей, особливо з низьким рівнем імунітету (Andreotti et al., 2007; Latiful et al., 2011; Bancercz-Kisiel & Szweda, 2015), а також спричиняти забруднення доквілля при їх вигулі (Platt-Samoraj et al., 2000; Hetem et al., 2013). Про небезпечність захворювання для людини свідчить той факт, що в Німеччині (Rosher, 2010) і ЄС загалом ієрсиніози посідають третє місце після кампілобактеріозу і сальмонельозу (Polischuk, 2008; Drobyaschenko et al., 2010; Ushkalov, 2013).

Для виникнення хвороби має значення вірулентність збудника, вгодованість і вік тварини, наявність сприятливих факторів, а саме порушення в режимі й годівлі, якості кормів і утримання, наявності інших інфекційних та інвазійних хвороб (Babkin & Nikolaenko, 2005). Зазвичай ієрсинії, що потрапляють в шлунок, гинуть за рахунок кислого середовища (рН 2,5–4,0), але за надвисокої концентрації збудника та зниження рівня імунітету тварини, активної перистальтики, бактерії здатні потрапити далі в кишечник, де відбувається колонізація його епітелію. На фоні катарального запалення *Y. enterocolitica* здатна потрапити у кров (Zon et al., 2013; 2017) і гематогенним шляхом заноситися в різні органи (печінку, нирки, легені тощо) (Murphy et al., 2010; Byun et al., 2011; Wang et al., 2011).

Збудник, уражаючи шлунково-кишковий тракт, спричиняє гастроентерит, діарею, кахексію у цуценят, а в дорослих тварин хвороба перебігає переважно безсимптомно. До основних симптомів зараховують: втрату апетиту, а згодом і відмову від споживання корму, гіпертермію, сонливість, кволість, анемію, іноді жовтяницю, блювання, пронос з домішками

крові у фекаліях (Farsfad et al., 1976; Fukushima et al., 1984; Stamm et al., 2013).

Хвороба може перебігати в трьох формах: кишковій (гастроентерити); генералізованій (гепатити, ураження біліарної системи, нефрити, бронхопневмонія, сепсис); вторинно-вогнищевій (артрити, хронічні ентероколіти та ін.), що виникає внаслідок двох перших форм (Orehova, 2015).

В одних із перших повідомлень була інформація про інфікування собак *Y. enterocolitica*, яке може становити до 6 % і навіть більше. Дослідженнями Fukushima H. et al. (1984) встановлено, що серед обстежених 252 собак 27 були позитивними до ієрсиніозних антигенів, в тому числі до різних сероварів *Y. enterocolitica* (19,8 %), *Yersinia pseudotuberculosis* – 6,3 %, *Y. intermedia* – 2 % та *Y. frederiksenii* – 0,8 %. Ізоляція збудника часто відбувалася за хронічного ентериту (Farstad et al., 1976).

В повідомленнях з різних куточків світу надходить інформація про перевагу *Y. enterocolitica* над іншими біоварами в інфекційному процесі за ієрсиніозної інфекції, а також про різноманітне поширення певних сероварів збудника в різних регіонах. Так, в Європі найбільш поширеними сероварами є 0:3 та 0:9, іноді 0:8; в США – 0:8; в Канаді та Японії – 0:5 і 0:7; в Китаї – 0:3 (Fenwich et al., 1994; Hayashidani et al., 1995). Нашими дослідженнями доведено, що в Україні у собак найпоширенішим сероваром *Y. enterocolitica* є 0:9 (Zon et al., 2013; 2017), і набагато рідше виявляються серовари 0:6.30 та 0:3 (V'yalikh et al., 2009).

Про актуальність досліджень щодо ієрсиніозу собак в Україні повідомляли (Ivanovskaya & Zon, 1999; Zon et al., 2013, Orehova, 2015; Zon et al., 2017). Проте до цього часу такі дослідження мають фрагментарний характер і обмежено висвітлюють ті чи інші сторони проблеми.

З'язок з державними науковими програмами. Дослідження є фрагментом НДР кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці Сумського НАУ “Удосконалення методів ранньої діагностики і лікувально-профілактичних заходів для запобігання емерджентних та економічно значущих хвороб тварин” (№ державної реєстрації 0118U100371).

Метою роботи було узагальнення клінічних ознак у собак, які в діагностичних титрах реагували на ієрсиніозний антиген *Y. enterocolitica* 0:9. Для вирішення мети були поставлені такі завдання: дослідити сироватки крові собак в РА на серопозитивність до антигену *Y. enterocolitica* 0:9; провести диференціальну діагностику парвірусного ентериту; визначити клінічні показники та біохімічний статус позитивно реагуючих собак порівняно зі здоровими тваринами.

### Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на кафедрі вірусології, патантомії та хвороб птиці Сумського НАУ та в клініці ветеринарної медицини “Ветсервіс” м. Суми, яка є філіалом кафедри. В дослідженні використані дані від 7 собак, різних за породою і статтю, віком до 1,5 року, які були позитивні при дослідженні на ієрсиніозний антиген *Y. enterocolitica* 0:9.

Клінічний стан тварин оцінювали на підставі безпосереднього огляду та за анамнестичними даними, отриманими від хазяїв собак та лікарів клініки. Серологічні дослідження (РА) проводили шляхом використання сироваток, отриманих від піддослідних тварин, та антигену *Y. enterocolitica* 0:9 з “Набору компонентів для серологічної діагностики ієрсиніозів тварин”, виготовленого ННЦ “ІЕКВМ” (м. Харків). Кров для отримання сироватки у дослідних тварин відбирали з центральної вени передпліччя з дотриманням асептики і антисептики.

**Таблиця 1**

Результати серологічних досліджень сироваток крові собак

Антиген <i>Y. enterocolitica</i> 0:9	Клички собак						
	Берта ♀	Вайт ♂	Том ♂	Мартін ♂	Лило ♂	Нора ♀	Лапа ♂
Титри (кінцеве розведення в РА)	1:400	1:200	1:200	1:800	1:200	1:400	1:400

На підставі попередніх досліджень нами було встановлено, що розведення 1:200 можна вважати діагностичним титром і визначати тварину як хвору на кишковий ієрсиніоз.

Шляхом обстеження тварин і збору анамнезу були встановлені такі клінічні ознаки, наведені в таблиці 2.

Аналізуючи матеріали таблиці, можна констатувати, що домінуючим симптомом був пронос з вмістом

З метою диференційної діагностики від парвовірусного ентериту проводили дослідження з використанням “Набору антигенів Sens PERT® Canine Parvovirus” (Vet ALL, Korea). Біохімічні дослідження проводили на аналізаторі Spectrumlab 23A, Model №23.407145 (China). Гематологічні показники отримували на аналізаторі Beckman Coulter, Coulter dif. Ас. Т. (USA).

### Результати та їх обговорення

Основна підозра на наявність ієрсиніозної інфекції у собак різних порід віком до 1,5 року виникла за наявності стійкого проносу з фекаліями, які містили кров.

Діагностичні дослідження з використанням тестів “Набору антигенів Sens PERT® Canine Parvovirus” (Vet ALL, Korea) в усіх випадках були негативними.

Позитивність до антигену *Y. enterocolitica* 0:9 серед 7 собак показано в таблиці 1.

крові у фекаліях (100 %), у частини тварин виявляли пригнічення (71,4 %), анорексію та кахексію (по 57,1 %), блювання і порушення ритму дихання (42,8 %). Інші клінічні ознаки мали поодинокі прояви і не можуть розглядатися, як патогномонічні для перебігу ієрсиніозної інфекції.

**Таблиця 2**

Клінічні ознаки у собак, що позитивно реагували на ієрсиніозний антиген *Y. enterocolitica* 0:9

Реакція систем та органів	Симптоми / патології	Клички собак						
		Берта	Вайт	Том	Мартін	Лило	Нора	Лапа
Загальні симптоми	Пригнічення	+	-	+	-	+	+	-
	Анорексія	+	+	-	+	-	-	+
	Блювання	-	+	-	-	+	-	+
	Кахексія	+	+	-	+	-	+	-
Нервової системи	Лихоманка	-	+	-	-	-	+	-
	Тенезми	+	-	+	-	-	-	-
ШКТ	Пронос	+	+	+	+	+	+	+
	Респіраторної системи	Порушення ритму дихання	-	+	-	+	-	-
Системи сечовиділення	Бронхопневмонія	-	-	-	-	-	-	+
	Нефрит	-	-	-	+	-	-	-
	Нефроз	-	+	+	-	-	+	-
Статевої системи	Ендометрит	-	-	-	-	-	+	-
	Мастит	-	-	-	-	-	+	-
	Орхіт	-	-	-	+	-	-	-
Лімфатичної системи	Лімфаденіт	-	-	+	-	-	+	-
	Тонзиліт	-	-	+	-	-	-	-
Суглоби	Артрит /артроз	-	+	-	-	-	-	-
Вуха	Отит	+	-	-	-	-	-	-
Шкіра	Дерматит	-	-	-	-	-	-	+
	Висипи	-	-	-	+	-	-	+

Результати біохімічних досліджень сироваток крові дослідних собак подані в таблиці 3.

Оцінюючи рівень активності ензимів у хворих собак, встановлено, що активність АлАТ та АсАТ тільки в двох випадках була вищою за норму і, ймовірно, пов'язана з ураженням печінки.

Щодо ЛФ – спостерігали підвищення активності в 5 випадках з 7, і це свідчить про ураження більшості паренхіматозних органів (печінка, нирки, підшлунко-

ва залоза та ін.) на клітинному рівні. Водночас показники білірубину (загального та прямого) залишалися в межах норми.

В чотирьох випадках констатували зниження рівня загального протеїну. Лише в одному випадку виявили зростання рівня сечовини (12,97 ммоль/л) проти максимального рівня в нормі – 8,93 ммоль/л. Рівень глюкози, Кальцію, Калію, Натрію і Хлору в більшості тварин залишався в межах норми.

**Таблиця 3**

Біохімічні показники сироваток крові собак, позитивно реагуючих на ієрсиніозний антиген *Y. enterocolitica* 0:9

№ з/п	Показники	Одиниці виміру	Показники норми	Клички собак						
				Берта	Вайт	Том	Мартін	Лило	Нора	Лапа
1	АлАТ	МО/л	8,2–70,0	10	69,2	82	100,2	44	23,6	77,4
2	АсАТ	МО/л	8,9–43,0	44	35,7	39	56,2	70	23,4	25,0
3	ЛФ	МО/л	10–60	152	55	84	96,7	87	13,3	95,7
4	Білірубін загальний	ммоль/л	0,9–10,6	10,3	3,7	7,8	9,0	5,5	4,9	7,7
5	Білірубін прямий	ммоль/л	0–10	1,2	0,7	0,8	2,5	0,6	1,0	2,5
6	Протеїн загальний	г/л	55,1–75,2	42	49,1	66	55,8	51	60,9	54,2
7	Сечовина	ммоль/л	2,86–8,93	4,25	4,8	7,1	6,8	3,52	2,5	12,97
8	Глюкоза	г/л	3,4–6,0	5,21	5,1	4,84	7,4	5,27	4,3	5,78
9	Кальцій	ммоль/л	2–2,7	2,47	2,4	2,42	2,3	2,16	2,4	1,79
10	Калій	ммоль/л	3,5–5,7	4,03	4,7	4,44	4,8	3,86	4,8	5,8
11	Натрій	ммоль/л	141–155	139	146	143	146	137	146	94
12	Хлор	ммоль/л	103–115	106	114	111	110	104	109	57

Примітка: АсАТ – аспаратамінотрансфераза; АлАТ – аланінамінотрансфераза; ЛФ – лужна фосфатаза

Результати гематологічних досліджень крові собак подані в таблиці 4, з якої видно, що концентрація гемоглобіну в двох випадках дещо перевищувала максимальний показник, але водночас у однієї тварини встановили різке зниження цього показника до 55 г/л (проти мінімального рівня 120 г/л). Останнє може бути наслідком певної супутньої патології.

Майже у половини тварин рівень гематокриту був нижчим за нормативний, в одному з випадків навіть удвічі (16,5 % проти 37 %). Рівень еритроцитів у трьох тварин дещо зростав (можливо, за рахунок компенсаторної регенерації) і лише в одному випадку був

удвічі меншим проти мінімального показника. Водночас в показниках середнього об'єму еритроцитів та середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті суттєвих зсувів не виявлено.

У більшості тварин загальна кількість лейкоцитів була в фізіологічних межах, і тільки в однієї тварини констатували різке зменшення показника до 2,92 Г/л, що може бути пов'язано з іншим негативним впливом на організм собаки.

Рівень лімфоцитів в більшості випадків був у межах норми, проте в однієї тварини він зріс до 43 %, а в іншій констатовано різке падіння показника до 1,0 %.

**Таблиця 4**

Гематологічні показники крові собак, позитивно реагуючих з ієрсиніозним антигеном *Y. enterocolitica* 0:9

Показники	Одиниці виміру	Норма	Клички собак						
			Берта	Вайт	Том	Мартін	Лило	Нора	Лапа
Гематокрит	%	37–55	16,5	46,5	51,0	38,5	50,1	30,6	31,1
Гемоглобін	г/л	120–180	55	175	197	146	185	200	133
Еритроцити	Т/л	5,5–6,5	2,64	7,58	8,0	6,54	7,59	8,61	5,75
Середній об'єм еритроцитів	мкм <sup>3</sup>	60–75	61,5	61,3	63,8	58,9	66	98,8	54,1
Середній вміст гемоглобіну в еритроциті	пг	20–25	20,8	23,1	24,6	22,3	24,2	23,2	23,1
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті	г/л	330–380	333	371	386	379	367	395	428
Лейкоцити	Г/л	6–17	2,92	16,72	8,42	13,6	11,88	9,97	12,84
Лімфоцити	%	12–30	18	16	21	43	21	20	1
Нейтрофіли:									
- сегментоядерні	%	60–70	42	44	60	38	59	61	82
- паличкоядерні	%	2–6	9	5	4	8	4	5	11
Моноцити	%	2–7	36	6	12	10	12	3	2
Еозинофіли	%	2–5	-	29	3	-	4	11	4
Базофіли	%	рідко	-	-	-	-	-	-	-
Тромбоцити	Г/л	200–500	400	305	226	483	399	260	182

Якщо у трьох тварин рівень сегментоядерних нейтрофілів був нижчим за норму, а в однієї тварини дещо зріс (до 8,2 Т/л), то рівень паличкоядерних нейтрофілів збільшився тільки у двох випадках з 7. Водночас більше як у половини досліджених встановлювали моноцитоз.

В двох випадках констатували еозінопенію, а у двох інших собак, навпаки – еозінофілію. Рівень тромбоцитів в усіх тварин був у межах норми.

### Висновки

1. Підозра в інфікуванні собак *Y. enterocolitica* підтверджується позитивними реакціями сироваток тварин з відповідними антигенами в РА в діагностичних титрах.

2. Домінуючими клінічними ознаками за кишково-ієрсиніозу, спричиненого *Y. enterocolitica* серовара 0:9, є 100 % ураження кишечника, що супроводжується кривавою діареєю на фоні пригнічення, анорексії, кахексії, рідше блювання та порушення ритму дихання.

3. Біохімічні і гематологічні показники у собак, позитивно реагуючих на ієрсиніозний антиген *Y. enterocolitica* 0:9, характеризуються різноманітністю і не можуть слугувати діагностичними маркерами ієрсиніозної інфекції, а лише орієнтувати на симптоматичну терапію.

### References

Andreotti, O., Budka, H., Buncic, S. ... Vanopdenbosch, E. (2007). Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazard. The EFSA Journal., 595, 1 – 30. doi: 10.2903/j.efsa.2007.595.

Babkin, A. F., & Nikolaenko, M. N. (2005). Serologicheskie issledovaniya sluzhebnykh sobak na brutsellez, iersinioz i hlamidioz v pitomnikakh s uchetom kliniko-epizootologicheskikh danih [Serological studies of service dogs for brucellosis, yersiniosis and chlamydia in kennels, taking into account clinical and epizootological data]. Veterinarna meditsina: mlzhvldomchiy tematichniy naukoviy zblrnik , Harklv: “NNTs” IEKVM, 1, 72–76 (in Russian).

Bancerz-Kisiel, A., & Szweda, W. (2015). Yersiniosis – zoonotic foodborne disease of relevance to public health Ann. Agric. Environ Med., 22(3), 397–402. doi: 10.5604/12321966.1167700.

Byun, J. W., Yoon, S. S., Lum, S. K., Lu, O. S., & Jung, B. Y. (2011). Hepatic Yersiniosis caused by *Yersinia enterocolitica* 4:0:3 in an adult dog. J. Vet. Diagn. Invest., 23(2), 376–378. doi: 10.1177/104063871102300233.

Drobyaschenko, M. A., Pushkareva, V. I., Yurov, D. S., & Polyakov, V. Yu. (2010). Kolonizatsiya i razmnozhenie *Yersinia enterocolitica* 09 v pischevykh produktakh, izgotovlenykh v sovremennykh tehnologicheskikh usloviyakh. [Colonization and propagation of *Yersinia enterocolitica* 09 in food

products manufactured under modern technological conditions]. Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika, 4, 51–57 (in Russian).

Farsfad, L., Landsverk, T., & Lasser, J. (1976). Isolation of *Yersinia enterocolitica* from a dog with chronic enteritis: a case report. Acta vet. Scand., 17(2), 261–263. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/952255>.

Fenwich, S. G., Madie, P., & Wilks, C. R. (1994). Duration of carriage and transmission of *Y. enterocolitica* biotype 4, serotype 0:3 in dogs. Epidemiology and Infection, 113(3), 471–477. doi: 10.1017/%2Fs0950268800068485.

Fukushima, H., Nakamura, R., Iitsuka, S., Tsubokura, M., Otsuki, K., & Kawaoka, Y. (1984). Prospective Systematic study of *Yersinia* spp. in Dogs. J. of Clinical Microbiol, 19(5), 616–692. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC271142>.

Hayashidani, H., Kaneko, K., Sakurai, K. & Ogawa, M. (1995). Experimental infection with *Y. enterocolitica* serovar 0:8 in Beagle dogs. Vet. Microbiol, 47(1-2), 71–72. doi: 10.1016/0378-1135(95)00052-C.

Hetem, D. J., Pekelharing, M., & Thijsen, S. F. T. (2013). Probable transmission of *Yersinia enterocolitica* from a pet dog with diarrhea to 1-year-old infant. BMC Journal, 2013, bcr2013200046. doi: 10.1136/bcr-2013-200046.

Ivanovskaya, L. B., & Zon, M. G. (1999). K izucheniyu roli *Y. enterocolitica* v patologii plotoyadnykh. [To study the role of *Y. enterocolitica* in the pathology of carnivores]. Mater.VII Mezhd. konf. na probl. vet. med. melk. dom. zhivotnykh (3-5 marta 1999 g.). M., 262–263 (in Russian).

Latiful, B., Hossain, M. A., Isshiki, K., & Ukuku, D. (2011). Behavior of *Yersinia enterocolitica* in Foods. Journal of Pathogens, 2011, 420732. doi: 10.4061/2011/420732.

Murphy, B. P., Drummond, N., & Ringwood, T., et al. (2010). First report: *Yersinia enterocolitica* recovered from canine tonsils. Veter. Microbiology, 146(3-4), 336–339. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.05.033.

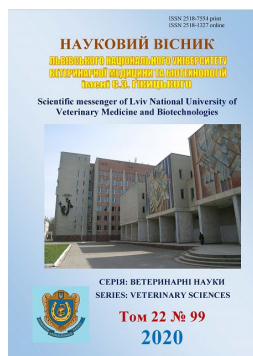
Orehova, G. A. (2015). Kishkoviy iersinioz tvarin (aktualnIst, epIzootologIya, dIagnostika). [Intestinal yersiniosis of animals (relevance, epizootology, diagnosis). NNTs “IEKVM”, N. sb. “Veterinarna meditsina”, 101, 125–129 (in Ukrainian).

Platt-Samoraj, A., Szweda, W., & Siwicki, A. K. (2000). Wplyw zakazen *Y. enterocolitica* psow i kotow na wystepowanie jersiniozy u czlowieka. Med. veter., 56(6), 379–381. URL: <http://www.medycynawet.edu.pl/images/stories/pdf/digital/2000/200006379382.pdf>.

Polischuk, N. M. (2008). Epidemiologichni ta epizootologichni aspekti iersinioziv [Epidemiological and epizootological aspects of yersiniosis]. Annals of Michnicov institute, 4, 5–8 (in Ukrainian).

Rosher, B. M., Stark, K., & Werber, D. (2010). Epidemiology of reported *Yersinia enterocolitica* infection in Germany, 2001-2008. BMC Public Health, 10, 337. doi: 10.1186/1471-2458-10-337.

- Skibitskiy, V. G., & Kozlovska, G. V. (2012). Zbudnik kishkovogo Iersinlozu - Yersinia enterocolitica ta pov'yazanI z nim problem [The causative agent of intestinal yersiniosis is Yersinia enterocolitica and related problems]. GumanItarnI ta resursnI problemi natsionalnoyi bezpeki Ukrayini. Kyiv, kn.2, 19–31 (in Ukrainian).
- Stamm, I., Hailer, M., Depner, B., Kopp, P. A., & Rau, J. (2013). Yersinia enterocolitica in Diagnostic Fecal Samples from European Dogs and Cats: Identification by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry. *J. clin microbio*, 51(3), 887–893. doi: 10.1128/JCM.02506-12.
- Ushkalov, A. V. (2013). EpIzootichna ta epIdemIologIchna charakteristika IersinlozIv. Veterinarna meditsina UkraYini [Epizootic and epidemiological characteristics of yersiniosis. Veterinarna meditsina ukrayini, 11(213), 15–18 (in Ukrainian).
- V'yalih, Zh. E., Yakovenko, T. B., Drobot, O. V., Sorochan, O. S., Gubar, O. V., & Levitska, S. L. (2009). SerologIchna nalezhnIst shtamIv Yersinia enterocolitica, vidIlenih z rIznih ob'EktIv na teritorIYi UkraYini [Serological affiliation of Yersinia enterocolitica strains isolated from different objects on the territory of Ukraine]. *ProfIlaktichna meditsina*, 4(8), 36–39 (in Ukrainian).
- Wang, H., Cui, Y., Wang, Z., Wang, X., Guo, Z., Yan, Y., Li, C., Cui, B., Xiao, X., Yang, Y. et al. (2011). A dog - associated primary pneumonic plague in Qinghai Province, China. *Clin. Infect. Dis.*, 52(2). 185–190. doi: 10.1093/cid/ciq107.
- Zon, G. A., Ivanovskaya, L. B., Kuznetsov, M. Yu., & Kuznetsova, E. Yu. (2013). OtsInka rezultatIv seropozitivnostI sobak z iersinioznimi antigenami [Evaluation of the results of seropositivity of dogs with Yersinia antigens]. *Mizhvid. tem. nauk. zb. "Veterinarna meditsina"*. Harkiv: NNTs "IEKVM", 97, 96–98 (in Ukrainian).
- Zon, G. A., Kuznetsova, E. Yu., & Ivanovskaya, L. B. (2017). Rezultati retrospektivnoYi serologIchnoYi dIagnostiki kishkovogo Iersinlozu sobak v SumskIy oblastI [The results of retrospective serological diagnosis of intestinal yersiniosis in dogs in Sumy region]. *Zb. nauk. prats "Agrarniy vIstnik Prichornomor'ya"*, serIya "Veter. Nauki", Odesa, 83, 93–97 (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9925  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:618.312.2-002:637.438

## Dynamics of morphological and biochemical parameters in the blood of white mice under the action of the drug “Vitosept”

M. P. Soltys<sup>1</sup>, V. M. Gunchak<sup>1</sup>, H. V. Rudyk<sup>2</sup>, R. O. Vasiv<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

<sup>2</sup>State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

### Article info

Received 15.09.2020  
Received in revised form  
15.10.2020  
Accepted 16.10.2020

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.  
Tel.: +38-067-323-51-40  
E-mail: soltysmaria88@gmail.com

State Scientific-Research Control  
Institute of Veterinary Medicinal  
Products and Feed Additives,  
Donetska Str., 11, Lviv,  
79019, Ukraine.

**Soltys, M. P., Gunchak, V. M., Rudyk, H. V., & Vasiv, R. O. (2020). Dynamics of morphological and biochemical parameters in the blood of white mice under the action of the drug “Vitosept”. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 167–172. doi: 10.32718/nvlvet9925**

The paper presents the results of the study of the drug toxicity “Vitosept” in its preclinical studies in intact white mice. It was found that according to the assessment of toxicological parameters of the studied biocidal product is low-toxic. Oral administration of even its highest concentrations (500 mg/l) did not show a pronounced toxic effect. During the action of the drug for 20 days no deviations in the clinical condition, behavioral reactions, reflex activity did not occur. It was found that most of the values that characterize the functional state of the hematopoietic and hepatobiliary systems, against the background of different concentrations of sodium hypochlorite, did not undergo significant changes compared with the control. The hemoglobin content in the blood of white mice in the experimental groups increased compared with the control in the first three experimental groups (concentration of GHN 100–300 mg/l). With increasing concentration of the drug, when administered intraperitoneally, there was a greater number of leukocytes in the blood of laboratory animals. At the same time, a probable increase in this indicator was found only in mice of the II experimental group when administered orally to animals of the lowest test concentration (100 mg/l). The concentration of total protein, urea and glucose in the blood of white mice under the action of “Vitosept” was similar in animals of the control and experimental groups. The revealed tendency to increase the activity of certain enzymes (LF, ALT, AST) was short-lived, and is obviously a compensatory response of animals to the xenobiotic effect of the drug. On the 20th day of the experiment, the studied white mice of the experimental groups were close to those in the control group.

**Key words:** sodium hypochlorite, Vitosept, white mice, toxicity, blood, morphological and biochemical parameters.

## Динаміка морфологічних і біохімічних показників у крові білих мишей за дії препарату “Вітосепт”

М. П. Солтис<sup>1</sup>, В. М. Гунчак<sup>1</sup>, Г. В. Рудик<sup>2</sup>, Р. О. Васів<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

У роботі наведені результати вивчення токсичності препарату “Вітосепт” за його доклінічних досліджень на інтактних білих мишах. Встановлено, що за оцінкою токсикологічних параметрів досліджуваній біоцидний засіб є малотоксичним. Пероральне введення навіть найвищих його концентрацій (500 мг/л) не проявляло вираженого токсичного ефекту. За дії препарату впродовж 20-и діб жодних відхилень у клінічному стані, поведінкових реакціях, рефлексорній діяльності не виникло. З’ясовано, що біль-

ість величин, які характеризують функціональний стан кровотворної і гепатобілярної систем, на тлі дії різних концентрацій натрію гіпохлориту, не зазнавали вірогідних змін, порівняно з контролем. Вміст гемоглобіну у крові білих мишей дослідних груп вірогідно збільшувався, порівняно з контролем у перших трьох дослідних групах (концентрація ГХН 100-300 мг/л). За зростання концентрації препарату, при його внутрішньошлунковому введенні більшою була і у крові лабораторних тварин кількість лейкоцитів. При цьому вірогідне підвищення цього показника виявлено лише у мишей II дослідної групи за перорального застосування тваринам найнижчої досліджуваної концентрації (100 мг/л). Концентрація загального білка, сечовини і глюкози в крові білих мишей за дії "Вітосепту" була подібною у тварин контрольної і дослідних груп. Виявлена тенденція щодо зростання активності окремих ензимів (ЛФ, АЛАТ, АсАТ) була короткотривалою і є, очевидно, компенсаторною реакцією організму тварин на ксенобіотичну дію препарату. На 20-у добу досліджувані показники білих мишей дослідних груп були наближеними до аналогічних в групі контролю.

**Ключові слова:** натрію гіпохлорит, "Вітосепт", білі миші, токсичність, кров, морфологічні і біохімічні показники.

## Вступ

Наявний арсенал антисептичних засобів сьогодні, на жаль, не вирішує проблеми ефективної терапії інфекційної патології. Природна та індукована міцність мікроорганізмів-збудників запальних процесів призводить до підвищення їхньої стійкості внаслідок набуття резистентності – здатності протистояти дії раніше ефективних біоцидів (Salmanov et al., 2010).

У практиці гуманної і ветеринарної медицини традиційні засоби (фурацилін, пергідроль, калію перманганат) для антисептичної обробки ран все частіше втрачають свою актуальність. Серед нових таких препаратів, що з'являються в арсеналі фахівців, не всі повною мірою відповідають сучасним вимогам щодо універсальності, розчинності у воді, активності стосовно широкого спектру мікроорганізмів, стійкості до формування резистентності, екобезпеки тощо (Mandyhra et al., 2012; Proskudina, 2016).

Останнім часом все більше повідомлень щодо використання електрохімічних методик у лікуванні гнійних інфекцій. Найчастіше мова йде про оксигенвмісні препарати та гіпохлорит натрію. На думку Гур'єва (2016), перевагою останнього над іншими антисептичними засобами є простота отримання і відносна дешевизна, відсутність протипоказань, ускладнень, побічних ефектів і резистентності з боку мікроорганізмів, універсальність щодо різних ендотоксинів (Hur'iev et al., 2016).

Вважається, що основним в механізмі бактерицидної дії гіпохлориту натрію, одержаного електрохімічним методом з натрію хлориду, є його здатність в організмі тварин розкладатися на  $\text{ClO}$  і на  $\text{Na}^+$  або на  $\text{O}^-$  і  $\text{NaCl}$ . Гіпохлорит-аніон і атомарний Оксиген, будучи сильними окисниками, мають здатність знижувати резистентність мікроорганізмів до антибіотиків, підвищують ефективність останніх, піддають детоксифікації продукти токсичного метаболізму, в тому числі сприяють розпаду мікробів, лейкоцитів і тканин. При цьому характерним є некролітичний ефект.

На думку багатьох дослідників, бактерицидна, фунгіцидна, спороцидна ефективність гіпохлориту натрію зазвичай залежать від фізико-хімічних характеристик останнього, які своєю чергою визначаються способом отримання (Wintner et al., 2005; Kotsiumbas et al., 2009; Tul'skij et al., 2011; Girenko & Velichenko, 2013; Girenko et al., 2014).

Ми у своїх дослідженнях використовували препарат "Вітосепт", в основі якого є розчин високочистого натрію гіпохлориту (ВНГХ), який одержаний у спеці-

ально розробленому бездіафрагмовому проточному електролізері в процесі прямої електрохімічної реакції, минаючи процес утворення молекулярного хлору. Як вихідний електроліт використовували ізотонічний розчин натрію хлориду (0,9 %  $\text{NaCl}$ ), приготовлений на воді, очищеній за спеціальною технологією. Такі розчини не містять домішок органічних речовин та іонів перехідних металів. Отриманий розчин ВНГХ є оптимальним носієм активного кисню.

З точки зору безпечності новоствореного препарату актуальним та важливим є встановлення його токсикологічних параметрів. Відповідно до вимог щодо оцінки негативного впливу засобу чи субстанції, яка є в основі досліджуваного препарату, такі дослідження проводяться як мінімум на двох видах лабораторних тварин. Через це метою нашої роботи було вивчити токсикологічні аспекти дії новоствореного препарату "Вітосепт" на організм не лише лабораторних шурів, а й білих мишей.

## Матеріал і методи досліджень

Досліди на лабораторних білих мишах проведено у віварії ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок (м. Львів) відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин що використовуються в експериментах і для інших наукових цілей (ETS № 123. Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Експериментальні дослідження виконувались згідно з методами і методиками, що описані в монографії "Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів" (2006) (Kotsiumbas, 2006). Токсикологічну оцінку препарату "Вітосепт" проводили згідно з методичними рекомендаціями "Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин" (1997).

Для вивчення впливу різних концентрацій розчину досліджуваного препарату на гематологічні показники білих мишей за принципом аналогів було сформовано 6 груп тварин ( $n = 15$ ), масою тіла 19–24 г (одну контрольну і п'ять дослідних). Досліджувані розчини задавали щоденно в дозі 0,5 мл впродовж 20-и діб внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду з тупим наконечником. При цьому тварини контрольної групи отримували 0,9 % розчин хлориду натрію, а дослідні II–VI груп розчин препарату "Вітосепт" в концентраціях 100, 200, 300, 400 і 500 мг/л. Упродовж усього дослідження проводили спостереження за клінічним станом та поведінкою тварин.



На 5, 10 та 20-у доби тварин зважували, відбирали по 5 тварин з кожної групи і за легкого ефірного наркозу проводили їх декапітацію та відбирали кров для проведення морфологічних досліджень.

У стабілізованій гепарином крові визначали кількість еритроцитів – фотонейлометрично за методикою Є. С. Гаврилець і співавт. (1966), лейкоцитів – за допомогою сітки Горяєва у лічильній камері (В. Е. Чумаченко, 1991), вміст гемоглобіну – гемоглобінціанідним методом за Г. В. Дервіз і А. Р. Воробйовим (1959). Рівень загального протеїну в сироватці крові визначали за методикою Делекторської (1971), активність амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) за методом Райтмана-Френкеля (1969), лужну фосфатазу і концентрацію глюкози та сечовини за методами окиснення у довіднику за редакцією акад. Влізла В. В. (Vlizlo, 2012).

## Результати та їх обговорення

За з'ясування основних токсикологічних параметрів встановлено, що “Вітосепт” є малотоксичним препаратом. Пероральне введення навіть найвищих концентрацій (500 мг/л) цього біоцидного засобу не викликало вираженої токсичної дії. За оцінкою стану піддослідних тварин, проведеного на основі спостережень, підтверджено, що у лабораторних мишей контрольної і дослідних груп впродовж усього періоду експерименту суттєвих клінічних відхилень, зміни поведінкових реакцій чи ознак фізіологічного дискомфорту не виявлено. Тварини були активними, з апетитом поїдали корм, поведінкові реакції і рефлекторна діяльність були збережені. Будь-яких порушень фізіологічних процесів в організмі тварин не спостерігалось, а про відповідний перебіг метаболічних реакцій в їхньому організмі підтвердженням є маса тіла та окремих органів мишей дослідних і контрольної груп. Препарат істотно не впливав на процеси травлення і сечовиділення (табл. 1).

**Таблиця 1**

Динаміка впливу препарату “Вітосепт” на масу тіла білих мишей (M ± m)

Показники	Групи тварин	Доби дослідю		
		5-а, (n = 15)	10-а, (n = 10)	20-а, (n = 5)
Маса тіла, г	I – Контроль	19,4 ± 0,27	21,9 ± 0,72	24,8 ± 0,57
	II – 100 мг/л	21,9 ± 0,43	23,4 ± 0,23	24,8 ± 0,25
	III – 200 мг/л	22,5 ± 0,47	21,9 ± 0,57	22,3 ± 0,24
	IV – 300 мг/л	21,6 ± 0,43	20,3 ± 0,26	21,1 ± 0,32
	V – 400 мг/л	21,8 ± 0,69	20,8 ± 0,29	20,2 ± 0,51
	VI – 500 мг/л	22,3 ± 0,32	21,6 ± 0,38	21,9 ± 0,52

Із побічних явищ, характерних для досліджуваного засобу, нами виявлено незначне за силою і короткотривале (2–3 год) пригнічення стану центральної нервової системи піддослідних мишей, причиною якого є, очевидно, введення в шлунок значного об'єму рідини. Підтвердженням цього є подібна реакція мишей контрольної групи на поступлення в їх шлунок аналогічного об'єму фізіологічного розчину хлориду натрію.

За подальших досліджень, в тому числі гематологічних, виявлено, що більшість величин, які характеризують функціональний стан кровотворної системи, на тлі застосованого перорального дезінфікаційного засобу, не зазнавали вірогідних змін, порівняно з контролем.

Результати досліджень впливу різних концентрацій препарату “Вітосепт” на рівень гемоглобіну в крові інтактних мишей наведені у табл. 2

**Таблиця 2**

Вплив різних концентрацій препарату “Вітосепт” на рівень гемоглобіну крові інтактних мишей, Г/л, (M ± m, n = 5)

Групи / Концентрація “Вітосепту”	Доби дослідю		
	5-а	10-а	20-а
I – Контроль	104,7 ± 3,69	105,1 ± 2,45	105,2 ± 3,78
II – 100 мг/л	112,8 ± 2,10*	114,4 ± 2,23*	115,6 ± 1,96*
III – 200 мг/л	114,8 ± 3,19*	114,9 ± 2,28*	110,6 ± 2,79
IV – 300 мг/л	118,9 ± 3,04**	114,5 ± 3,03	114,6 ± 1,91
V – 400 мг/л	116,8 ± 5,16	116,1 ± 5,21	112,1 ± 5,15
VI – 500 мг/л	110,7 ± 2,76	110,9 ± 5,12	112,3 ± 5,62

Примітка: вірогідність до контролю \* – P < 0,05; \*\* – P < 0,01

Встановлено, що вже на 5-у добу від початку внутрішньошлункового введення мишам гіпохлоритвмісного препарату в їх крові збільшувався вміст гемоглобіну. При цьому його рівень мав певну залежність від концентрації препарату, що поступав у організм тварин. Нами виявлено вірогідне зростання вмісту

гемоглобіну у крові інтактних мишей II, III і IV груп (100–300 мг/л) порівняно з контролем на 4,7, 8,6 і 13,6 % відповідно. За подальшого підвищення концентрації препарату до 500 мг/л рівень гемоглобіну в крові мишей не зазнавав вірогідних змін.

Подібною була динаміка цього показника і на 10-у добу досліду. Однак вірогідне підвищення концентрації гемоглобіну встановлено лише у тварин, що отримували 100 і 200 мг/л препарату (II і III групи).

На 20-у добу досліду рівень гемоглобіну у крові білих мишей усіх дослідних груп був вищим, ніж у контролі, але дещо зменшувався порівняно з аналогічним показником тварин у попередні періоди досліду.

При цьому у крові лабораторних мишей II дослідної групи концентрація гемоглобіну була на 9,9 % вищою ( $P < 0,05$ ), ніж у тварин, що через зонд внутрішньо-шлунково отримували 0,9 % розчин натрію хлориду (К).

Нами досліджено також дію “Вітосепту” залежно від його концентрації на кількість еритроцитів в крові білих мишей (табл. 3)

**Таблиця 3**

Вплив різних концентрацій препарату “Вітосепт” на кількість еритроцитів в крові інтактних мишей, Т/л, ( $M \pm m, n = 5$ )

Групи тварин	Доби досліду		
	5-а	10-а	20-а
I – Контроль	7,40 ± 0,38	7,52 ± 0,30	7,48 ± 0,29
II – 100 мг/л	7,76 ± 0,30	7,84 ± 0,28	8,60 ± 0,44
III – 200 мг/л	8,20 ± 0,26	8,34 ± 0,26	7,60 ± 0,37
IV – 300 мг/л	8,70 ± 0,52	8,86 ± 0,52	7,72 ± 0,38
V – 400 мг/л	8,56 ± 0,39	8,70 ± 0,40	8,78 ± 0,55
VI – 500 мг/л	8,24 ± 0,42	8,48 ± 0,42	8,24 ± 0,43

Встановлено, що досліджуваний засіб навіть у такому значному діапазоні вмісту діючої речовини в препараті не викликав вірогідних змін в кількості еритроцитів у крові мишей.

Подана в табл. 4 і 5 характеристика гематокриту та показників, що характеризують насиченість еритро-

цитів крові гемоглобіном, є своєрідним маркером відсутності у новоствореного препарату специфічного негативного впливу на еритропоетичні процеси в організмі лабораторних піддослідних тварин.

**Таблиця 4**

Гематокритна величина крові у білих мишей за впливу засобу “Вітосепт”  $M \pm m, n = 5$

№	Групи / Концентрація “Вітосепту”	Доби досліду		
		5-а	10-а	20-а
1	I. – Контроль	31,04 ± 3,12	31,92 ± 4,18	32,16 ± 2,26
2	II. – 100 мг/л	31,16 ± 4,08	31,68 ± 3,62	31,84 ± 3,92
3	III. – 200 мг/л	31,88 ± 3,64	32,26 ± 4,50	32,40 ± 2,06
4	IV. – 300 мг/л	30,88 ± 3,80	31,66 ± 2,11	31,50 ± 4,12
5	V. – 400 мг/л	30,18 ± 3,05	31,20 ± 3,75	31,10 ± 6,02
6	VI. – 500 мг/л	30,24 ± 4,54	31,36 ± 3,28	31,62 ± 3,88

**Таблиця 5**

Динаміка індексів червоної крові у лабораторних мишей за впливу різних концентрацій препарату “Вітосепт” (10 доба)  $M \pm m, n = 5$

№	Групи тварин / Показники	MCV	MCH	MC HC
		(фл.)	(пг.)	(г/100 мл)
1	I – Контроль	41,7 ± 5,12	14,0 ± 1,10	32,9 ± 2,82
2	II – 100 мг/л	40,4 ± 2,90	14,6 ± 0,90	36,1 ± 3,60
3	III – 200 мг/л	38,7 ± 3,70	13,8 ± 1,12	35,6 ± 1,94
4	IV – 300 мг/л	35,7 ± 5,00	12,9 ± 0,64	36,2 ± 6,05
5	V – 400 мг/л	35,9 ± 6,12	13,3 ± 0,88	37,2 ± 5,84
6	VI – 500 мг/л	37,0 ± 3,66	13,1 ± 0,70	35,4 ± 5,75

Кількість лейкоцитів у крові білих мишей, як встановлено нами у процесі експериментальних досліджень, перебувала у прямій залежності від концентрації застосованого препарату.

За даними поданими в табл. 6 можна стверджувати, що зі зростанням концентрації препарату в крові піддослідних тварин збільшувалась кількість клітин білої крові. При цьому вірогідне перевищення анало-

гічного показника тварин контрольної групи, виявлене лише у мишей II дослідної групи за перорального застосування тваринам найнижчої досліджуваної концентрації є, правдоподібно, результатом толерантно-компенсаторних змін (функціональних та морфологічних) не значне за об’ємом поступлення в шлунок ксенобіотичних речовин.

Оцінюючи ефекти за дії “Вітосепту” на організм білих мишей, можна передбачити, що досліджуваний засіб, поступаючи в їх організм через зонд, сприяв корекції газового складу крові, впливав на мембрани клітин і забезпечував нормалізацію периферичної та системної гемодинаміки.

Відсутність негативного впливу досліджуваного препарату на гематобіліарну систему підтверджено нами за дослідження окремих біохімічних показників крові білих мишей (табл. 7).

**Таблиця 6**

Вплив різних концентрацій препарату “Вітосепт” на кількість лейкоцитів в крові інтактних мишей, Г/л ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ )

Групи тварин	Доби досліді		
	5-та	10-та	20-та
I – Контроль	7,80 ± 0,41	7,84 ± 0,39	7,76 ± 0,45
II – 100 мг/л	10,04 ± 0,41**	10,44 ± 0,37**	8,84 ± 0,70
III – 200 мг/л	8,40 ± 0,41	8,68 ± 0,43	9,78 ± 0,9
IV – 300 мг/л	9,14 ± 0,45*	9,44 ± 0,39*	9,36 ± 0,82
V – 400 мг/л	9,44 ± 0,96	9,84 ± 0,69	9,96 ± 1,12
VI – 500 мг/л	9,28 ± 0,73	9,40 ± 0,73	9,48 ± 0,87

**Таблиця 7**

Динаміка окремих біохімічних показників крові білих мишей за впливу “Вітосепту” в різних концентраціях (10-а доба досліді)  $M \pm m$ ,  $n = 5$

№	Показники	Групи тварин		
		Контроль (I)	Дослід	
			II (100 мг/л)	VI (500 мг/л)
1	Загальний білок, г/л	54,84 ± 3,16	55,12 ± 3,64	53,16 ± 2,68
2	Сечовина, ммоль/л	4,64 ± 4,12	4,70 ± 0,15	4,82 ± 0,16
3	Глюкоза, ммоль/л	4,90 ± 2,66	4,66 ± 0,36	5,12 ± 0,24
4	Лужна фосфатаза, Од/л	254,2 ± 13,16	260,16 ± 19,18	294,3 ± 18,18
5	АлАТ, Од/л	90,42 ± 2,14	92,18 ± 3,30	98,2 ± 5,16
6	АсАТ, Од/л	96,16 ± 4,40	100,5 ± 6,60	108,16 ± 6,06

Отже, як підсумок цього фрагменту токсикологічних досліджень можна зробити висновок, що гіпохлорит натрію, у складі препарату “Вітосепт” є нетоксичною сполукою. Він не справляє негативного впливу на клінічні ознаки, функціональний стан центральної нервової системи та перебіг метаболічних процесів в організмі піддослідних білих мишей.

Будь-якого негативного впливу препарату на кровотворну і гепатобіліарну системи піддослідних тварин, залежно від його концентрації, не виявлено, що дає підстави для подальших доклінічних і клінічних випробувань.

*Перспектива подальших досліджень.* З’ясування ембріо- і тератотоксичних властивостей препарату “Вітосепт”.

### References

Girenko, D. V., & Velichenko, A. B. (2013). Rastvory gipohlorita natrija vysokoj chistoty dlja veterinarії i medi-ciny. *Tehnologija poluchenija. Voprosy himii i himicheskoy tehnologii*, 1, 139–143. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vchem\\_2013\\_1\\_29](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vchem_2013_1_29) (in Russian).

Встановлено, що вірогідних змін у концентрації загального білка, сечовини і глюкози в крові мишей II I III дослідних груп за перорального поступлення в їхній організм різних концентрацій “Вітосепту” немає. Виявлена тенденція щодо зростання активності ензимів (ЛФ, АлАТ, АсАТ) є, найімовірніше, компенсаторною реакцією організму піддослідних тварин на ксенобіотичну дію препарату, оскільки аналогічні показники у тварин на 20-у добу досліді вже були близькими до таких у групі контролю.

Girenko, D. V., Pileckaja, A. A., & Velichenko, A. B. (2014). Vlijanie uslovij poluchenija na obrazovanie gipohlorita i hlora pri jelekrolize nizkokoncentrirovannyh rastvorov hloriga natrija. *Voprosy himii i himicheskoy tehnologii*, 1, 138–144. URL: <http://vhht.dp.ua/wp-content/uploads/pdf/2014/1/31.pdf> (in Russian).

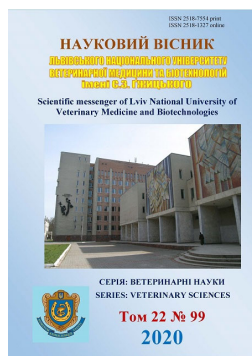
Hur'iev, S. O., Tanasiienko, P. V., Matiash, V. I., & Vasylyv, V. V. (2016). Elektrokhimichna medychna tekhnologhiia likuvannia postrazhdalych z mistsevymy infektsiynymy uskladnenniamy politravmy. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medych-noho universytetu*, 20(2), 421–424. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/vvnmu\\_2016\\_20\\_2\\_26](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vvnmu_2016_20_2_26) (in Ukrainian).

Kotsiumbas, I. Ia. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarykh zasobiv*. Za red. prof. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).

Kotsiumbas, I. Ia., Velichenko, O. B., Kotsiumbas, H. I., ta in (2009). *Perspektyvy zastosuvannia hipokhlorytiv u vete-rynarii medytsyni*. Lviv: Vyd-vo “Afisha” (in Ukrainian).

Mandyhra, M. S., Lysytsia, A. V., Zhyhaliuk, S. V., Dmytriiev, I. M. ta in. (2012). *Analiz zasobiv dlja veterynarnoi dezinfektsii*. *Veterynarna medytsyna*, 96,

- 163–166. URL: <http://jvm.kharkov.ua/sbornik/96/65.pdf> (in Ukrainian).
- Proskudina, N. O. (2016). Suchasni dezinfektanty: pliusy i minusy. Suchasne ptakhivnytstvo, 4(161), 16–22. URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Ptakhivnytstvo/article/view/10219> (in Ukrainian).
- Salmanov, A. H., Mariievskiy, V. F., & Khobzei, M. K. (2010). Rezystentnist bakterii do antyseptikiv ta dezinfikuii-chykh zasobiv. Ukr. med. chasopys, 6/80, 51–56. URL: <https://www.umj.com.ua/article/8544/rezistentnist-bakterij-do-antiseptikiv-ta-dezinfikuyuchix-zasobiv> (in Ukrainian).
- Sergienko, V. I., & Petrosjan, Je. A. (1991). Gipohlorit natrija v lechenii gnojnyh ran. Vestnik hirurgii im. N. I. Grekova, 1, 40–43 (in Russian).
- Tul's'kij, G. G., Smirnov, A. A., & Brovin, A. Ju. (2011). Sovershenstvovanie tehnologii jelektrohimicheskogo sin-teza rastvorov “aktivnogo hlora”. Voprosy himii i himicheskoy tehnologii, 4(2), 236–238. URL: <http://udhtu.edu.ua/public/userfiles/file/VHHT/2011/4/Tulskiy-2.pdf> (in Russian).
- Vlizlo, V. V. (2012). Laboratorni metody doslidzen u biolohii, tvarynytstvi ta veterynarnii medytsyni. Lviv. Spolom (in Ukrainian).
- Wintner, B., Contino, A., & O'Neill, G. (2005). Chlorine dioxide a versatile high-value sterilant for the biopharmaceutical industry. Bioprocess international, 2, 42–46.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9926  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:636.2.618.454

## Cytology of smears of prints with symptomatic forms of infertility in cows

A. S. Revunets, S. B. Zarembluk

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

### Article info

Received 16.09.2020  
Received in revised form  
15.10.2020  
Accepted 16.10.2020

Polissia National University,  
Stary Boulevard, 7, Zhytomyr,  
10002, Ukraine.  
Tel.: (0412) 33-39-50  
E-mail: zarembluk@ukr.net

**Revunets, A. S., & Zarembluk, S. B. (2020). Cytology of smears of prints with symptomatic forms of infertility in cows. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 173–176. doi: 10.32718/nvlvet9926**

Many works of domestic and foreign scientists are devoted to the study of etiological factors, pathogenesis, as well as the development of effective methods of diagnosis and therapy for symptomatic infertility of cows, however, insufficient attention is paid to cytological examination of the genital organs. So the goal of our work was to study the cytology of vaginal mucus at the symptomatic form of infertility of cows. The article presents the cytological composition of vaginal mucus from the mucous membrane of the caudal section of the cervix, the lateral surface of the vagina and the dorsal wall of the vaginal vestibule. Research was carried out with 5 groups of cows 4–5 years old cows 6 animals in each, weighing 500–600 kg, with an average productivity of 7500 kg of milk per lactation. The tests were cows were on the 18–24 day after insemination and during the sexual cycle braking, research of the joint course of uterus and hypotension of the ovarian, the presence of persistent corpus luteum and subclinical chronic endometritis, cysts and persistent corpus luteum of the ovarian body. For sub-clinical chronic endometritis, basal cells (32–41 %) are found in wet prep with vaginal mucosa, which are arranged in layers, parabasal (22–6 %) and superficial (5–21 %), but more interstitial (37–66 %), and bare neutrophil nuclei. According to hypofunction of ovaries in vaginal smears, neutrophils, vacuoles in interstitial cell nuclei (44–56 %), basophilic cells (30–43 %), superficial cells (20–21 %), parabasal cells (3–6 %). Basal cell hypofusions were (3–43%), parabasal (3–6 %), interstitial (44–56 %), superficial (20–21 %), and bilateral (12–26 %) (4–5 %) (36–55 %) and (30–33 %). It should be noted that for the functional state of the body, the cells from the cervix are flat. In addition, the drug contains single white blood cells with light cytoplasm without signs of phagocytosis. They are structurally similar to cells of vaginal smear. During the estrus, the smear is dominated by interstitial and surface cells and white cells, and in the follicular proliferative phase, the number of surface cells increases, while the ovulator phase is characterized by the pronounced maturation of the cells, they are flat and spaced apart.

**Key words:** symptomatic infertility, cows, vaginal smear, basophiles, neutrophils, parabasal cells, hypofunction of the ovaries, endometritis.

## Цитологія мазків відбитків за симптоматичної форми неплідності корів

A. С. Ревунець, С. Б. Заремблук

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

Багато робіт вітчизняних і зарубіжних вчених присвячені вивченню етіологічних чинників, патогенезу, а також розробці ефективних методів діагностики і терапії при симптоматичній неплідності корів, проте цитологічним дослідженням статевих органів автори приділяють недостатньо уваги. Тому метою нашої роботи було вивчення цитології вагінальної слизу при симптоматичній формі неплідності корів. В статті наведено цитологічний склад вагінального слизу із слизової оболонки каудального відділу шийки матки, бокової поверхні піхви і дорсальної стінки присінку піхви. Дослідження проводили на 5 групах корів 4–5-річного віку по 6 голів у кожній, вагою 500–600 кг, середньою продуктивністю 7500 кг молока за лактацію. Контрольними були корови на 18–24 день після отелення і в стадії гальмування статевого циклу, дослідними – за сумісного перебігу гіпотонії матки і гіпофункції яєчників, наявності персистентного жовтого тіла і субклінічного хронічного ендометриу, кісти та персистентного жовтого тіла яєчника. Встановлено, що за субклінічного хронічного ендометриу в мазках із слизової оболонки піхви присутні

базальні клітини (32–41 %), що розташовані пластами, парабазальні (22–6 %) і поверхневі (5–21 %), але найбільше проміжних (37–66 %), та голі ядра нейтрофілів. За гіпофункції яєчників в піхвових мазках виявляли нейтрофіли, вакуолі в ядрах проміжних клітин (44–56 %), базофільні клітини (30–43 %), поверхневі (20–21 %), парабазальні (3–6 %). За гіпофункції яєчників базальних клітин було (3–43 %), парабазальних (3–6 %), проміжних (44–56 %), поверхневих (20–21 %) а при двобічній (12–26 %) – (4–5 %), (36–55 %) та (30–33 %). Варто зазначити, що за функціонального стану організму клітини із шийки матки плоскі. Окрім них, у препараті містяться одиничні лейкоцити зі світлою цитоплазмою без ознак фагоцитозу. За структурою вони подібні до клітин мазків зі слизової оболонки піхви. Під час тічки в мазках переважають проміжні та поверхневі клітини і лейкоцити, а у фолікулярну проліферативну фазу, передтічкову, збільшується число поверхневих клітин, тимчасом як овуляторна фаза характеризується вираженим дозріванням клітин, вони плоскі та розташовуються порізно.

**Ключові слова:** симптоматична неплідність, корови, мазки, базофіли, нейтрофіли, парабазальні клітини, гіпофункція яєчників, едометрит.

## Вступ

На території України найбільшого поширення набула симптоматична форма неплідності корів. У господарствах Житомирської області основними причинами якої є запальні процеси у внутрішніх статевих органах, зокрема: гіпотонія та атонія матки – 36–40 %, гіпофункція яєчників – 27–32 %, персистентне жовте тіло яєчників – 17–21 %, кісти яєчників – 16–19 %, сальпінгіт – 12–17 %, склероз яєчників – 4–5 %, атрофія і склероз яєчників – 6–8 % (Hryshchuk & Revunets, 2017).

Багато робіт вітчизняних і зарубіжних вчених (Causey, 2007; Azawi, 2008; Hoorens et al., 2011) присвячені вивченню етіологічних чинників, патогенезу, а також розробці ефективних методів діагностики і терапії при симптоматичній неплідності корів, проте цитологічним дослідженням статевих органів авторами приділяється недостатньо уваги.

Започатковане ще в 1916 р. дослідження мазків зі слизової оболонки піхви гризунів, а в 1923 році у жінок в менопаузі увійшло в клінічну гінекологічну практику і широко використовується тепер у гуманній медицині (Zegels et al., 2010).

Дослідження епітелію слизових оболонок різних відділів статевих органів корів використовують не тільки для діагностики їхнього функціонального та гормонального стану, а й для виявлення доклінічних ознак різних патологій (Tsiligianni et al., 2001; Sakai et al., 2004; Kim et al., 2014).

За даними (Stravskyi, 2011; Gonchar, 2014), клітинний склад епітелію слизової оболонки піхви впродовж статевого циклу представлений проміжними і поверхневими ороговілими і незроговілими клітинами.

Метою роботи було вивчення цитології вагінальної слизу при симптоматичній формі неплідності корів.

## Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводили протягом листопада–грудня 2014 р. на 5 групах корів 4–5-річного віку по 6 голів у кожній, вагою 500–600 кг, середньою продуктивністю 7500 кг молока за лактацію.

Контрольними були корови на 18–24 день після отелення і в стадії гальмування статевого циклу, дослідними – за сумісного перебігу гіпотонії матки та гіпофункції яєчників, наявності персистентного жов-

того тіла і субклінічного хронічного ендометриту, кісти та персистентного жовтого тіла яєчника.

Відбитки виготовляли зі слизової оболонки каудального відділу шийки, бокової поверхні піхви і дорсальної стінки присінку піхви. Фарбування мазків проводили гематоксиліном та еозином. Дослідження проводили з допомогою мікроскопа, фотографували цифровою камерою.

Цитологічний склад вагінального слизу визначали за кількістю поверхневих, проміжних і парабазальних епітеліальних клітин та станом їх ядер.

Результати дослідження.

Нами досліджено і порівняно цитологічну картину відбитків зі слизової оболонки шийки матки, піхви, присінку піхви в корів за різного стану організму (табл. 1).

Відповідно до класифікації клітинного складу мазків зі слизової оболонки піхви розрізняють 4 реакції, за якими визначають ступінь насичення організму естрогенами.

Перша реакція свідчить про сильно виражену естрогенну недостатність, коли у мазку переважають базальні та проміжні клітини і відсутні елементи поверхневого епітелію.

Друга реакція характеризується наявністю клітин проміжного типу, присутність базальних і поверхневих. Такий тип мазків вказує на виражену естрогенну недостатність.

За третього типу реакції, при незначній естрогенній недостатності в мазках переважають поверхневі базофільні клітини з малим ядром, базальні клітини відсутні або одиничні.

Четвертий тип реакції за переважанням поверхневих ацидофільних клітин з вираженим пікнозом ядер, базофільних з малим ядром, незначною кількістю парабазальних клітин властивий для гіперестрогенної насиченості організму.

За субклінічного хронічного ендометриту в мазках зі слизової оболонки піхви присутні базальні (32–41 %), що розташовані пластами, парабазальні (6–22 %) і поверхневі (5–21 %) клітини, але найбільше проміжних (37–66 %), та голі ядра нейтрофілів (табл. 1).

За даними Dadarwal D., Palmer C. & Griebel P. (2017), цитологічний склад піхвового слизу протягом післятельного періоду змінюється залежно від його перебігу. За фізіологічного стану в мазках переважають поверхневі клітини (49–60 %), а при післятельному ендометриті – проміжні клітини (40–55 %).

За гострого післяродового ендометриту в мазках із піхви виявляли клітини базального шару з гіперхромними ядрами і набухлою базофільною цитоплазмою, проміжні клітини і поверхневі, в малій кількості базальні та парабазальні.

Важливе діагностичне значення має стан ядер епітеліальних клітин: поверхневі клітини з ядром в стані рекситу при ендометриті – 1,8 %, проміжні з нормальним ядром – 55 %, а з рекситом ядра – 10 %, парабазальні з нормальним ядром – 11,6 % (Adnane et al., 2017).

**Таблиця 1**

Клітинний склад слизової оболонки статевих органів корів за різного стану організму, n = 30

Групи корів	Характеристика епітелію		
	Шийка матки	Піхва	Присінок піхви
<b>I – К</b> Після отелення 18–24 день, n = 6	Одиночні поверхневі та парабазальні клітини, виявляються проміжні	Переважають поверхневі клітини з пікнотичними ядрами, значно менше парабазальних та проміжних клітин	Поверхневі клітини, по декілька разом
<b>II – К</b> Стадія гальмування статевого циклу, n = 6	Переважають парабазальні і проміжні клітини, зібрані в пучки	Присутні всі клітини. Поодинокі поверхневі	Присутні всі клітини. Поодинокі поверхневі
<b>III – Д</b> Гіпофункція яєчників і гіпотонія матки, n = 6	Переважають парабазальні та проміжні клітини	Присутні парабазальні клітини по декілька у полі зору базальні та проміжні	Небагато базальних, парабазальних та двоядерних клітин. Спостерігали цитоліз та пікноз ядер
<b>IV – Д</b> Субклінічний хронічний ендометрит і ПЖТ, n = 6	Парабазальні і базальні клітини	Присутні всі клітини. Переважають парабазальні та проміжні	Переважають парабазальні, трапляються базальні, проміжні, одиночні поверхневі клітини
<b>V – Д</b> Фолікулярна кіста яєчника і ПЖТ, n = 6	Переважають парабазальні проміжні, одиночні поверхневі клітини	Переважають проміжні парабазальні клітини, поодинокі базальні	Пласти парабазальних клітин. Поодинокі проміжні клітини

*Примітка:* I гр. – 18–24 день після отелення, II гр. – 4–5 день після осіменіння (стадія гальмування). III гр. – гіпофункція яєчників і гіпофункція матки, IV гр. – субклінічний хронічний ендометрит + персистентне жовте тіло, V гр. – фолікулярна кіста яєчника + персистентне жовте тіло

При гіпофункції яєчників в піхвових мазках виявляли нейтрофіли, вакуолі в ядрах проміжних клітин (44–56 %), базофільні клітини (30–43 %), поверхневі (20–21 %), парабазальні (3–6 %). За гіпофункції яєчників базальних клітин було (3–43 %), парабазальних (3–6 %), проміжних (44–56 %), поверхневих (20–21 %), а при двобічній (12–26 %) – (4–5 %), (36–55 %) та (30–33 %).

Встановлено, що циліндричні клітини в нормі розташовуються невеликими купками у вигляді смужок або сотоподібно. Їхня форма витягнута, ядра розміщені ексцентрично. Вони рідко виявляються у відбитках із каудальної ділянки шийки матки.

Проміжні клітини порівняно великі, полігональні, ядра міхурцеві, цитоплазма складчаста.

Парабазальні клітини маленькі, овальні або округлі, ядро велике міхурцеподібне, цитоплазма оксифільна.

За функціонального стану організму клітини із шийки матки плоскі. Окрім них, у препараті містяться одиничні лейкоцити зі світлою цитоплазмою без ознак фагоцитозу. За структурою вони подібні до клітин мазків зі слизової оболонки піхви.

Під час тічки в мазках переважають проміжні та поверхневі клітини і лейкоцити.

В фолікулярну проліферативну фазу, передтічкову збільшується число поверхневих клітин.

Овуляторна фаза характеризується вираженим дозріванням клітин, вони плоскі, розташовуються порізно.

Секреторна або прогестеронова фаза, на 6–10 день після овуляції, проявляється збільшенням кількості клітин зі складчастою цитоплазмою, згрупованих у купки.

### Висновки

1. За субклінічного хронічного ендометриту в мазках зі слизової оболонки піхви присутні базальні (32–41 %), що розташовані пластами, парабазальні (22–6 %) і поверхневі клітини (5–21 %), але найбільше проміжних (37–та 6 %), та голі ядра нейтрофілів.

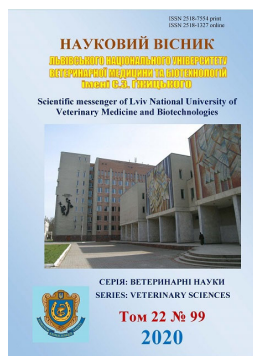
2. За гострого післяродового ендометриту в мазках із піхви виявляли клітини базального шару з гіперхромними ядрами і набухлою базофільною цитоплазмою, проміжні клітини і поверхневі та в малій кількості базальні й парабазальні.

3. При гіпофункції яєчників в піхвових мазках виявляли нейтрофіли, базофільні клітини (30–43 %), поверхневі (20–21 %), парабазальні (3–6 %), вакуолі в ядрах проміжних клітин склали (44–56 %). За гіпофункції яєчників базальних клітин було (3–43 %), парабазальних (3–6 %), проміжних (44–56 %), поверхневих (20–21 %), а при двобічній гіпофункції яєчників (12–26 %) – (4–5 %), (36–55 %) та (30–33 %) відповідно.

## References

- Adnane, M., Chapwanya, A., Kaidi, R., Meade, K. G. & O'Farrelly, C. (2017). Profiling inflammatory biomarkers in cervico-vaginal mucus (CVM) postpartum: potential early indicators of bovine clinical endometritis. *Theriogenology*, 103, 117–122. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.07.039.
- Azawi, O. I. (2008). Postpartum uterine infection in cattle. *Anim Reprod Sci*, 105(3-4), 187–208. doi: 10.1016/j.anireprosci.2008.01.010.
- Becher, N., Adams Waldorf, K., Hein, M. & Uldbjerg, N. (2009). The cervical mucus plug: structured review of the literature. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 88, 502–513. doi: 10.1080/00016340902852898.
- Berry, E. A. (2002). The Effect of Selective Dry Cow Treatment on New Intramammary Infections. *Journal of Dairy Science*, 85(1), 112–121. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74059-9.
- Causey, R. C. (2007). Mucus and the mare: how little we know. *Theriogenology*, 68(3), 386–394. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.04.011.
- Dadarwal, D., Palmer, C., & Griebel, P. (2017). Mucosal immunity of the postpartum bovine genital tract. *Theriogenology*, 104, 62–71. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.08.010.
- Foley, C., Chapwanya, A., Callanan, J. J., Whiston, R., Miranda-CasoLuengo, R., Lu, J., Meijer, W. G., Lynn, D. J., O' Farrelly, C., & Meade, K. G. (2015). Integrated analysis of the local and systemic changes preceding the development of post-partum cytological endometritis. *BMC Genomics*, 16, 811. doi: 10.1186/s12864-015-1967-5.
- Gonchar, A. O. (2014). Doslidzenia cervikalnogo sluzu vysokoprodyktivnuh koriv. *Nakovui visnyk LNUVMB imeni S. Z. Gzuckogo*, 16, 3(60), 63–73 (in Ukrainian).
- Hoorens, P. R., Rinaldi, M., Li, R.W., Goddeeris, B., Claerebout, E., Vercruyse, J., & Geldhof, P. (2011). Genome wide analysis of the bovine mucin genes and their gastrointestinal transcription profile. *BMC Genomics*, 12, 140. doi: 10.1186/1471-2164-12-140.
- Hryshchuk, H. P., & Revunets, A. S. (2017). Zastosuvannya tkanynnoi terapii u borotbi z symptomatychnoiu neplidnistiu koriv. *Visnyk ZhNAEU*, 2(63), 37–44 (in Ukrainian).
- Karstrup, C. C., Klitgaard, K., Jensen, T. K., Agerholm, J. S., & Pedersen, H. G. (2017). Presence of bacteria in the endometrium and placentomes of pregnant cows. *Theriogenology*, 99, 41–47. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.05.013.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S. & Johnson, W. H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62, 9–23. doi: 10.1016/j.theriogenology.2003.03.001.
- Kim, I. H., Kang, H. G., Jeong, J. K., Hur, T. Y., & Jung, Y. H. (2014). Inflammatory cytokine concentrations in uterine flush and serum samples from dairy cows with clinical or subclinical endometritis. *Theriogenology*, 82(3), 427–432. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.04.022.
- Sakai, M., Ishiyama, A., Tabata, M., Sasaki, Y., Yoneda, S., Shiozaki, A., & Saito, S. (2004). Relationship between cervical mucus interleukin-8 concentrations and vaginal bacteria in pregnancy. *Am J Reprod Immunol.*, 52, 106–112. doi: 10.1111/j.1600-0897.2004.00203.x.
- Stravskiy, I. S. (2009). Diagnostichne znachenia cutologichnogo metodu doslidzenia mazkiv sluzovoi pihvu koriv y pisliarodovui period. *Nakovui visnyk LNUVMB imeni S. Z. Gzuckogo*, 2(41), 314–317 (in Ukrainian).
- Stravskiy, I. S. (2011). Pokaznyku lohvi koriv pru sybinvolycii matku. *Veterynarna biotekhnologia*, 20, 185–190 (in Ukrainian).
- Tsiligianni, T., Karagiannidis, A., Brikas, P., & Saratsis, P. (2001). Chemical properties of bovine cervical mucus during normal estrus and estrus induced by progesterone and/or PGF<sub>2α</sub>. *Theriogenology*, 56(1), 41–50. doi: 10.1016/S0093-691X(01)00541-6.
- Wagener, K., Gabler, C., & Drillich, M. (2017). A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 94, 21–30. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.02.005.
- Williams, E. J., Fischer, D. P., Pfeiffer, D. U., England, G. C., Noakes, D. E., Dobson, H., & Sheldon, I. M. (2005). Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63(1), 102–117. doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.03.017.
- Zegels, G., Van Raemdonck, G. A., Tjalma, W. A., & Van Ostade, X. W. (2010). Use of cervicovaginal fluid for the identification of biomarkers for pathologies of the female genital tract. *Proteome Sci*, 8, 63. doi: 10.1186/1477-5956-8-63.





Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9927  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.98:636.2-631

## Peculiarities of bee breeding influence in mixed form of infectious diseases with varroaosis in the conditions of greenhouse of bees

D. O. Kisil, T. I. Fotina, A. V. Berezovsky, S. M. Nazarenko, J. E. Klishcheva

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

### Article info

Received 16.09.2020  
Received in revised form  
19.10.2020  
Accepted 20.10.2020

Sumy National Agrarian  
University, G. Kondrat'eva, 160,  
Sumy, 40000, Ukraine.  
Tel.: +38-095-495-29-33  
E-mail: tif\_ua@meta.ua

**Kisil, D. O., Fotina, T. I., Berezovsky, A. V., Nazarenko, S. M., & Klishcheva, J. E. (2020). Peculiarities of bee breeding influence in mixed form of infectious diseases with varroaosis in the conditions of greenhouse of bees. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 177–181. doi: 10.32718/nvlvet9927**

The article presents data on our study of the epizootiological situation in apiaries with a mixed form of bee diseases in greenhouses of farms in Sumy region. The data showed that of the previously identified infectious diseases of bees, which are one of the most common in the world – it's actually 4–5 major diseases, of which we studied American rot and ascospherosis, which are manifested in a mixed form with varroaosis. Effective control of infectious diseases and early preventive work by a beekeeper in apiaries is a guarantee of a prepared strong bee family both for honey collection and preparation of a bee nest for wintering. Earlier, we conducted a study to monitor the epizootic situation of mixed infectious diseases of bees in the north – eastern region of Ukraine, where a large part of the epizootic was due to ascospherosis American and European rot in field work of bees. But in greenhouse conditions, where high humidity and crowding of bees increases the likelihood of damage by both American rot and ascospherosis. Given these factors, there was a suspicion of a synergistic effect of contamination of bee colonies with the above diseases indoors, damp and isolated. Which led us to the necessary detailed study of these diseases in the greenhouse of bee colonies in the Sumy region in the winter – spring periods of 2020. When examining some samples of printed brood, it was found that, with a strong degree of invasion of varroaosis, favorable conditions were created for the accumulation of purulent mass at a sufficiently high level when Bac resistance. Larvae White increased to adverse factors and allowed to affect both weakened and healthy larvae, and with low resistance to developing bees associated with extreme greenhouse conditions and the presence of varroa mites, can sometimes affect bee pupae. After analyzing the results of research, we found that varroa mites contribute to the high development of American rot and ascospherosis in all its forms and witness the role of varroa mites as a factor influencing the intensity of the infectious process in closed and open brood of bee nests.

**Key words:** bee family, American rot, varroaosis, nosematosis, ascospherosis, epizootological situation, greenhouse maintenance, bee.

## Особливості ураження бджолиного розплоду при змішаній формі інфекційних хвороб з варроатозом в умовах тепличного утримання бджолиних сімей

Д. О. Кісіль, Т. І. Фотіна, А. В. Березовський, С. М. Назаренко, Ж. Є. Клішова

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

У статті наведені дані щодо проведених нами досліджень епізоотологічної ситуації на пасіках при змішаній формі хвороб бджіл тепличного утримання господарств Сумської області. Дані показали, що з виявлених раніше інфекційних хвороб бджіл, котрі є одними з найпоширеніших у світі, це фактично 4–5 основних хвороб, з яких досліджували американський гнилець та аско-

сфероз, що проявляються в змішаній формі з варроатозом. Ефективна боротьба з інфекційними хворобами та завчасні профілактичні роботи бджолярів на пасіках – це запорука підготовленої сильної бджолиної сім'ї як до медозборів, так і підготовку бджолиного гнізда до зимівлі. Раніше нами було проведено дослідження на моніторингу епізоотичної ситуації щодо змішаних інфекційних хвороб бджіл у північно-східному регіоні України, де і припадала висока частина епізоотії саме на аскосфероз, американський та європейський гнилець в умовах польових робіт бджіл. Але в тепличних умовах, де підвищена вологість та скупченість бджіл підвищує ймовірність ураження як американським гнильцем, так і аскосферозом. З урахуванням цього виникла підозра на синергійний ефект контамінації бджолиних сімей вищеперахованими хворобами в закритому, вологому та ізольованому приміщенні. Цим і викликана потреба детального вивчення даних хвороб в умовах тепличного утримання бджолиних сімей у Сумській області в зимово-весняний період 2020 року. При огляді деяких зразків печатного розплоду було встановлено, що при сильному ступені інвазії варроатозу виникли сприятливі умови для накопичення гнійної маси на досить високому рівні, коли резистентність *Vas. Larvae White* збільшилася до несприятливих факторів і дозволила вражати як ослаблені, так і здорові личинки, а при низькій резистентності розвиваються бджоли, пов'язані з екстремальними умовами теплиць і присутністю кліщів варроа, що може вражати іноді й ялечки бджіл. Проаналізувавши результати досліджень, ми встановили, що кліщі варроа сприяють досить високому розвитку американського гнильця та аскосферозу у всіх формах його прояву та є свідченням ролі кліща варроа як чинника, що впливає на інтенсивність прояву інфекційного процесу в закритому та відкритому розплоді гнізда бджіл.

**Ключові слова:** бджолина сім'я, американський гнилець, варроатоз, нозематоз, аскосфероз, епізоотологічна ситуація, тепличне утримання, бджола.

## Вступ

Відомо, що бджоли є головними запилювачами ентомофільних рослин. Вони виконують майже 80 % всієї обпилювальної роботи, і лише 20 % всіх рослин запилюють джмелі та метелики (Rudenko & Onenko, 2011; Rudenko, 2011; Es'kov, 2012; Kovalchuk et al., 2019; Vishchur et al., 2019). Медоносні бджоли мають низку переваг в запиленні рослин перед іншими дикими комахами і відіграють велику роль в сільському господарстві. Їх тіло і спосіб життя найбільш пристосовані до виконання цієї функції. Всі медоносні трудівниці живуть і трудяться великими сім'ями, вони створюють великі запаси нектару, інтенсивно і дуже плідно працюють протягом всього свого життєвого циклу. Порівняно з іншими комахами бджоли запилюють в два рази швидше, саме тому їх використовують для цього нелегкого природного процесу (Bogdanov et al., 2007; Luchko, 2012; Rudenko, 2012; Berezovskyi & Panchev, 2012; Rudenko, 2013; Kovalskyi et al., 2018). Сильні бджолині сім'ї пасічники випускають взимку в теплиці для запилення городніх рослин, навесні в сад на квітучі дерева, влітку на посіви великих медоносних сільськогосподарських угідь і винограду. Але це все залежить від стану і розвитку бджолиної сім'ї. В наш час досить багато досліджень щодо різних форм хвороб бджіл – причин слабого розвитку бджоли або ж її повної летальності. Тому перед нами була поставлена мета – вивчення перебігу одних із найпоширеніших хвороб бджіл в змішаній формі американського гнильця, аскосферозу та варроатозу в умовах тепличного утримання у Сумській області в зимово-весняний період 2020 року.

## Матеріал і методи досліджень

Принцип нашого дослідження полягає у вивченні особливостей різних ступенів епізоотичного процесу ураження бджолиних сімей американським гнильцем та аскосферозом при різному ступені ураження бджолиних сімей кліщем *Varroa* в умовах їхнього тепличного утримання. Вивчали протікання хвороб бджіл у теплицях СТОВ АК “Тепличний” м. Суми Сумської області та на кафедрі ветсанекспертизи, мікробіології,

зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету за тематичним планом науково-дослідної роботи університету “Впровадження більш досконалих методів діагностики, лікування і профілактики заразних хвороб тварин”, № держреєстрації 0198U001290 (реєстр. № 41/1).

У попередні діагностичні дослідження включали загальний клінічний огляд гнізда бджолосімей, а також природну загальну оцінку стану відкритого і закритого розплоду бджіл (наявність ураженого розплоду), наявність “строкатості розплоду”, специфічного запаху “столярного клею”, зміненого кольору, виявлення тягучої маси всередині осередків, а також наявність отворів на кришечках печатного розплоду й інших природних поширених клінічних ознак розвитку гнильцю бджолиного розплоду) та огляд ураженості характерний для аскосферозу: личинки 3–4 дня розвитку перетворюються у вапняно-білі тверді грудочки, які прилипають до стінок комірок або вільно лежать у них. Епізоотологічний стан пасіки при американському гнильці та аскосферозі діагностували в умовах Сумського НАУ в лабораторії бджільництва. У лабораторії досліджували відібраний патологічний матеріал: шматочки сот розміром 10 × 15 см з печатним ураженим розплодом бджолиної сім'ї, перетворених в темну тягучу масу або вже підсохлих та вапняно-білих уражених гіфами гриба *Ascosphaera apis* прилиплих до стінки комірки уражених личинок бджіл. Особливості епізоотії при варроатозі бджіл, а також змішану форму ураження бджолиної сім'ї при американському гнильці та аскосферозі з варроатозом досліджували при утриманні вуликів в теплицях СТОВ АК “Тепличний” із зимового по весняний період включно. Щоб визначити рівень інтенсивності інвазії в бджолиних сім'ях, ми досліджували дорослих бджіл і печатний розплід на наявність кліщів за одним із загальноприйнятих методів лабораторних досліджень патологічного матеріалу бджіл.

Патматеріал, відібраний на пасіці, досліджували відповідно до “Методичних вказівок з лабораторної діагностики американського, європейського гнильця й парагнильця бджіл і виділення збудника з тонких мазків маси гнильцю” та “Методичних вказівок з лабораторної діагностики аскосферозу бджіл і виді-

ленню збудника з тонких мазків маси або лусочок – 2–3 штуки”, затвердженої Законом України “Про бджільництво” ДСанПіН 8,8,1,2,001 - 98.

### Результати та їх обговорення

Зазначимо, що при слабкій інтенсивності ураження розплоду американським гнильцем та аскоферозом (наявність до 10 уражених личинок на кожній соторамці) змінні поведінки і характер репродуктивної активності самок кліщів порівняно з контрольними групами (група 4 – без видимих клінічних ознак ураження американським гнильцем та група 2 – без видимих клінічних ознак ураженості аскоферозом). Таким чином, якщо в контрольній групі знайшли на соторамках з розплодом кліщів, довільно локалізованих на всіх розплідних рамках, переважно центральній, верхній і передній частині, ближче до виходу бджоли з вулика – до льотка, то в 1 групі самки кліща локалізувалися переважно в центральній частині осередків з розплодом соторамок і відкладали яйця, на виході яких отримували на 38,5 % більше молодих запліднених самок, незважаючи на те, що перший виходить самець, порівняно з контрольною групою,

де американський гнилець не реестрували. Подібну за ступенем та місцем локалізацію збудника варроатозу виявлено також і в групах, де рееструвався аскофероз. При такому ураженні бджолиних сімей американським гнильцем уражених личинок спостерігали практично тільки на периферії рамок розплідного гнізда бджіл, чого не можна сказати про ураження розплоду бджіл аскоферозом, де локалізація уражених личинок бджіл спостерігалась фактично на всій соторамці, спостерігали вражені бджолині личинки, переважно трутневі личинки в 3–4-денному віці. Вони вже втратили свою еластичність і перетворились у вапняно-білі тверді грудочки, які в результаті прилипли до стінок комірок або вільно лежали у них. На таблиці 1 зображено загальний стан бджолиних сімей при ураженні змішаною формою аскоферозу з варроатозом. Також спостерігали класичну клінічну картину, тобто збудник гнильцю – *Bac. Larvae White* вражав бджолиних личинок у віці 9–10 діб. При розтині кришечок сот печатного розплоду виявляли гнильну масу уражених предкулолок або лялечок в осередках сот закритого розплоду. У таблиці 2 відображено загальний стан бджолиних сімей при ураженні змішаною формою американського гнильцю з варроатозом.

**Таблиця 1**

Загальний стан бджолиних сімей при змішаній формі аскоферозу з варроатозом

Група, №	Закліщеність, %	Інтенсивність ураження аскоферозом	Сила бджолиної сім'ї
1	14,9 ± 1,10	середня	8 рамок (7 вулочок)
2	17,2 ± 1,23	сильна	7 рамок (6 вулочок)
3	17,2 ± 1,23	сильна	7 рамок (6 вулочок)
4	25,0 ± 2,17	середня	7 рамок (6 вулочок)
5	2,3 ± 1,01	слабка	10 рамок (9 вулочок)
6	2,8 ± 0,9	сильна	9 рамок (8 вулочок)
7	23,1 ± 1,03	сильна	5 рамок (4 вулочок)
8	25,0 ± 2,17	середня	7 рамок (6 вулочок)
9	15,8 ± 1,25	не рееструвалась	9 рамок (8 вулочок)
10	15,8 ± 1,25	не рееструвалась	9 рамок (8 вулочок)

Зазначимо, що наявність інших збудників в бджолиному гнізді стало причиною активізації популяції кліщів, і таким чином виявлявся синергійний ефект взаємодії між даними збудниками. У певних умовах бджолині сім'ї справлялися з ситуацією слабкої закліщеності, що склалася через невелике зниження сили і продуктивності бджолиної сім'ї. Сім'ї, в яких спостерігалась невелика кількість розплідних соторамок в гнізді вулика і специфічно занижена температура та висока вогкість в гнізді через досить слабку силу бджолиної сім'ї, розмноження кліща *Varroa* та збудника аскоферозу – *Ascospheara apis* рееструвалися на рівні максимуму. Сила бджолиних сімей 1-ї, 2-ї та 3-ї групи, в яких рееструвалися середній і високий ступінь інтенсивності ураження аскоферозом, була від 17,9 до 26,4 % порівняно з бджолиними сім'ями 5-ї та 6-ї дослідних груп. У бджолиних сім'ях з 1-ї до 3-ї групи спостерігалась досить слабка санітарна робота бджіл в гнізді вулика порівняно з бджолосім'ями 5-ї та 6-ї груп.

Виявляли стрімке зниження розплідних рамок в гнізді фактично до двох соторамок. У першій групі кліщі *Varroa* рееструвалися в комірках розплоду по декілька паразитів (23,3 %). Однак зазначимо, що в цей період збільшилася кількість потомства молодих самок практично без самців, що відповідало літературним даним про здебільшого ураження трутнів в гнізді вулика. Також при огляді спостерігалось, що комірки з личинками, ураженими кліщем *Varroa*, фактично на всій розплідній соторамці були поруч із затверділими личинками від аскоферозу личинками. Під час огляду 5-ї та 6-ї груп спостерігався високий рівень летальності личинок, які позиційно були поруч з ураженими аскоферозом личинками. Подібні показники – і в групах 2 і 3. Під час дослідження розплідної соторамки в групах за номерами 4 та 7 ми виявили, що при досить високому рівні ураженості кліщем *Varroa* утворювалися сприятливі умови для розвитку гіфів гриба роду *Ascospheara* відповідно високого рівня, що свідчить про високу резистентність збудника до несприятливих для нього факторів. Таким чином,

уражатимуться різного фізіологічного стану личинки. Але при низькій резистентності збудника розвиток прилягає на молодих бджіл, враховуючи закриті умови теплиць, де реєстрували кліща Varroa. Бджоли «санітари» в гнізді вулика проводили санітарну очистку вулика від звапнених загиблих бджіл. Водночас у теплиці спостерігалася повна працездатність бджолиних сімей, запилення тепличних овочевих квіток. Але

ми виявили, що в 6-й групі на 34,2 % менше бджіл були зайняті санітарними роботами, ніж сім'ї в 5-й групі. При слабкій інвазії кліщем Varroa сила бджолиних сімей (6-ї групи) стала фактично на 7,4 % з урахуванням апроксимації слабшою, ніж 5-ї групи. Досліджений нами печатний розплід спостерігався в основному на 4 центральних соторамах.

Таблиця 2

Загальний стан бджолиних сімей при змішаній формі американського гнильцю з варроатозом

Група, №	Закліщеність, %	Інтенсивність ураження американським гнильцем		Сила бджолиної сім'ї
1	2,3 ± 1,01	слабка		10 рамок (9 вулочок)
2	2,1 ± 0,30	середня		9 рамок (8 вулочок)
3	2,8 ± 0,9	сильна		9 рамок (8 вулочок)
4	2,9 ± 1,01	не реєструвалася		10 рамок (9 вулочок)
5	14,9 ± 1,10	середня		8 рамок (7 вулочок)
6	17,2 ± 1,23	сильна		7 рамок (6 вулочок)
7	15,8 ± 1,25	не реєструвалася		9 рамок (8 вулочок)
8	25,0 ± 2,17	середня		7 рамок (6 вулочок)
9	23,1 ± 1,03	сильна		5 рамок (4 вулочок)
10	20,7 ± 1,21	не реєструвалася		8 рамок (7 вулочок)

При середній інтенсивності ураження (від 10 до 50 загиблих бджолиних личинок на розплідній соторамиці) і при сильній інтенсивності ураження (більше ніж 50 уражених бджолиних личинок на розплідній соторамиці) американським гнильцем на тлі слабкої інвазії кліщем варроа сила бджолиних сімей (2-а і 3-тя групи) була в середньому на 9,8 і 12,3 % відповідно слабкішою порівняно з 1-ю групою. Досліджений печатний розплід виявляли в основному на 4 центральних соторамах. Зазначимо, що комірці розплоду на соторамиці з середнім ступенем ураження американським гнильцем рідко реєструвалися і в центральних соторамах з розплодом. У третій групі (з сильною інтенсивністю ураження) уражені личинки траплялися практично на всі розплідні соторамиці. Кліщі варроа локалізували в комірках розплоду, розташовані як поруч з ураженим американським гнильцем, так і в далі від нього. В комірках з розплодом, які були поруч з ураженими личинками, спостерігали на виході потомство кліщів практично тільки молодих самок без самців. Проте вихід молодих самок був на 30,8 % вищим, ніж у контрольній групі (4-я група).

Бджоли, які містяться всередині вулика, проводили санітарну очистку гніздових, розплідних соторамок від гнільної маси загиблих бджіл. При цьому в теплиці спостерігалася повне збереження працездатності бджолиних сімей, запилення культур огірка та помідора. Але для цих цілей з 2-ї та 3-ї груп бджолиних сімей відпускалося бджіл для роботи на 38,7 і 45,4 % відповідно менше, ніж 1-ї групи. Бджолині сім'ї з сильною інвазією варроатоза (10–15 %) і слабким рівнем інтенсивності ураження американським гнильцем не виявлено. Сила бджолиних сімей 5-ї і 6-ї групи (з середнім і високим ступенем інтенсивності ураження американським гнильцем) була в середньому нижчою на 19,6 і 28,7 % порівняно з сім'ями 2-ї і 3-ї групи. Бджолині сім'ї 5-ї і 6-ї груп не могли очи-

щати гнійні маси так, як це спостерігалася в сім'ях у 2-й і 3-й групах. Наявність розплоду в гнізді знизилася в середньому до двох соторамок. У 5-й групі при розтині розплоду встановлено, що кліщі траплялися в розплідних комірках як по одній особині (64,1%), так і по дві (23,3 %). Однак зазначимо, що в цей час збільшилася кількість потомства молодих самок практично без самців. Так само зазначимо, що ці комірці часто були поруч з ураженими американським гнильцем личинками. При клінічному огляді стану бджолиних сімей 6-ї групи виявлена загибель сусідніх лялечок, розташованих навколо уражених американським гнильцем личинок. При розтині печатного розплоду виявлено, що загибла личинка ще в цілому не перетворилася на гнійну масу, тому можна було встановити приблизний її вік. Вік загиблих личинки був приблизно від 9 до 11 днів включно. Іноді реєстрували й уражених на початковій стадії і лялечок, приблизно на 12–15 день. В таких комірках виявляли і кліща варроа. Їх часто спостерігали загиблими.

При загальному огляді стану сімей 6-ї групи виявлено практично ті ж клінічні ознаки, що і в 5-й групі. Крім того, відзначена відвідуваність кліщів як по одній особині, так і групами – по 2 або 3 особини в одну комірку. У 19,5 % випадків при такій відвідуваності молоді бджоли гинули ще на стадії метаморфозу (лялечки). Це можна розглядати як зараження бджолиного розплоду за допомогою кліщів, контамінованих збудником *Bac. Larvae White*. Клінічний огляд та біотехнологічний облік проведені в період досліджень, тому нами було виявлено бджолині сім'ї з сильною інвазією кліщем *V. destructor*, так само середнього і сильного ступеня ураження *Bac. Larvae White*. Аналогічно нами було сформовано 3 досліджувані групи.

При огляді деяких зразків печатного розплоду, відібраних з 8-ї і 9-ї груп, було встановлено, що при

сильному ступені інвазії варроатозу створилися сприятливі умови для накопичення гнійної маси до відносно високого рівня, коли резистентність *Vac. Larvae White* збільшилася і дозволила вражати як ослаблені, так і здорові личинки, а при низькій резистентності розвиваються бджоли, пов'язані з екстремальними умовами теплиць і присутністю кліщів варроа, що може вражати іноді й лялечки бджіл.

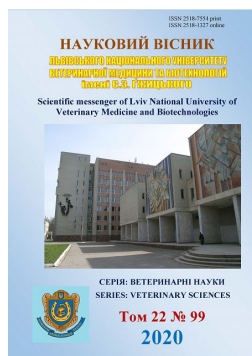
### Висновки

Проаналізовані результати наших досліджень показали, що кліщі варроа сприяють досить високому розвитку американського гнильцю та аскоферозу в усіх формах його прояву і таким чином є свідченням ролі кліща варроа як чинника, що впливає на інтенсивність прояву інфекційного процесу в закритому та відкритому розпліді гнізда бджіл.

*Перспективи подальших досліджень.* В подальшому планується розробка планових лікувально-профілактичних заходів на підставі результатів епізотичної картини при змішаній формі бджолиних сімей в умовах тепличного утримання.

### References

- Berezovskyi, A., & Panchev, I. I. (2012). Nozematoz – yak problemna khvoroba bdzholosimei. *Ukrainskyi pasichnyk*, 9, 22–24 (in Ukrainian).
- Bogdanov, S., Haldimann, M., Luginbuhl, W., & Gallmann, P. (2007). Minerals in honey: environmental, geographical and botanical aspects. *Jornal of Apicultural Research and Bee World*, 46(4), 269–275. doi: 10.3896/IBRA.1.46.4.11.
- Es'kov, E. K. (2012). *Jekologija medonostnoj pchely. Kolos* (in Russian).
- Kovalchuk, I., Dvylyuk, I., Leczyk, Y., Dvylyuk, I., & Gutyj, B. (2019). Physiological relationship between content of certain microelements in the tissues of different anatomic sections of the organism of honey bees exposed to citrates of argentum and cuprum. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(2), 177–181. doi: 10.15421/021926.
- Kovalskyi, Yu., Gucol, A., Gutyj, B., Sobolev, O., Kovalska, L., & Mironovych, A. (2018). Features of histology and histogenesis in the vital temperature range in the organism of honey bee (*Apis mellifera* L.) in the postembryonal period. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(2), 301–307. doi: 10.15421/2018\_342.
- Luchko, M. A. (2012). *Bolezni rasploda pchel. Veterinarija*, 6, 9–14 (in Russian).
- Rudenko, E.V. (2013). Alternative method of control of infections bee's brood diseases: *Apiacta*, 38, 93–97. URL: [https://www.apimondia.com/docs/apiacta/2003/rudenko\\_1.pdf](https://www.apimondia.com/docs/apiacta/2003/rudenko_1.pdf).
- Rudenko, Ye. V. (2011). *Veterynarno-sanitarni zakhody na pasikakh navesni: Bdzhilnytstvo. K.: Mizh vid. temat. nauk.zb. "Urozhai"*, 60–63 (in Ukrainian).
- Rudenko, Ye. V. (2012). *Biolochni ipreparaty v system izakhodiv profilaktyky ta likvidatsii infektsiinykh khvorob bdzhil. Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 4, 42–43 (in Ukrainian).
- Rudenko, Ye. V., & Onenko, V. I. (2011). *Prysadybne bdzhilnytstvo: Biblioteka veterynarnoi medytsyny. K.* (in Ukrainian).
- Vishchur, V. Y., Gutyj, B. V., Nischemenko, N. P., Kushnir, I. M., Salata, V. Z., Tarasenko, L. O., Khimych, M. S., Kushnir, V. I., Kalyn, B. M., Magrelo, N. V., Boiko, P. K., Kolotnytskyi, V. A., Velesyk, T., Pundyak, T. O., & Gubash, O. P. (2019). Effect of industry on the content of fatty acids in the tissues of the honey-bee head. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(3), 174–179. URL: <https://www.ujecology.com/abstract/effect-of-industry-on-the-content-of-fatty-acids-in-the-tissues-of-the-honeybee-head-44509.html>.



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9928  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 340.66 : 343.58 : 636.09

## The procedure for forensic veterinary determination of the severity of harm caused to the health of the animal

I. V. Yatsenko, O. I. Parilovskyi, V. M. Zhylyna

Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine

### Article info

Received 17.09.2020  
Received in revised form  
19.10.2020  
Accepted 20.10.2020

Kharkiv State Zooveterinary  
Academy, Kharkiv, Ukraine  
Academic Str. 1, Malaya Danilovka,  
Dergachi district, Kharkov region,  
62341, Ukraine.  
Tel.: +38-067-186-06-65  
E-mail: yacenko-1971@ukr.net

*Yatsenko, I. V., Parilovskyi, O. I., & Zhylyna, V. M. (2020). The procedure for forensic veterinary determination of the severity of harm caused to the health of the animal. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 182–192. doi: 10.32718/nvlvet9928*

The paper formulates the procedure for forensic veterinary determination of the severity of damage to animal health. According to the severity of injuries to animals, it is necessary to distinguish between injuries of three degrees: mild, moderate and severe. Forensic veterinary examination to determine the severity of injuries is carried out by a forensic veterinary expert through a veterinary examination of the injured (subject) animal. During the examination of the subject animal, the forensic veterinary expert establishes data about the animal according to the animal's passport or other document that replaces it (animal's nickname, individual number, species, sex, age, breed, etc.). If there are no documents for the animal, they are limited to information about the animal received from its owner or guardian; establishes the anamnestic data of the examined animal according to the explanations of the owner of the animal or its guardian; finds out the circumstances of the injury to the investigator, coroner, owner or guardian of the animal; clarifies complaints from the owner about the state of health of the animal; gets acquainted with the case materials provided by the law enforcement agency; examines other available veterinary documents, if necessary, finds out other information. The forensic veterinary expert, estimating the statute of limitations for violation of the anatomical integrity of tissues and organs and their functions, proceeds from their usual duration. Defects in veterinary care should not be taken into account when assessing the severity of injuries. In such cases, the forensic veterinary expert is obliged to indicate the nature of the causal relationship between the injury and such consequences. Damage to diseased tissues and organs of an animal can be considered as severe as damage to these organs and tissues in clinically healthy animals, if there is a direct causal link between the damage and the adverse effect. If during the examination of the subject animal the expert finds different origins of bodily injuries, he establishes what weapon of injury could have been inflicted on each of them. If the injuries are of different ages, indicate the frequency, non-simultaneity and sequence of their application, indicate the time of infliction of each of the injuries, determine the severity of each of them. In cases of death of an animal in the presence of bodily injuries, the forensic veterinary expert, along with resolving other issues, establishes the presence or absence of a causal link between the injury and the death of the animal. In cases where there is a causal link between injury and death, they can be considered fatal. All the information obtained is reflected in the expert's report or in the report of the expert study. The results in the expert's opinion should be the result of the analysis of objective information established during the forensic veterinary examination of the subject. They must be detailed and scientifically sound.

**Key words:** forensic veterinary examination, sub-expert animal, procedure for forensic veterinary determination of the severity of damage caused to animal health.

## Порядок судово-ветеринарного встановлення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини

I. В. Яценко, О. І. Парилівський, В. М. Жиліна

Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків, Україна

В роботі сформульовано порядок судово-ветеринарного встановлення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини. За ступенем тяжкості тілесних ушкоджень тварин необхідно розрізняти тілесні ушкодження трьох ступенів: легке, середньої тяжкості та тяжке. Судово-ветеринарна експертиза з метою встановлення ступеня тяжкості тілесних ушкоджень проводиться судово-ветеринарним експертом шляхом ветеринарного обстеження потерпілої (підекспертної) тварини. Під час дослідження підекспертної тварини судово-ветеринарний експерт встановлює дані про тварину за паспортом тварини чи іншим документом, що його замінює (кличку тварини, індивідуальний номер, вид, стать, вік, породу тощо). Якщо документи на тварину відсутні, то обмежуються інформацією про тварину, отриману від її власника чи опікуна; встановлює анамнестичні дані обстежуваної тварини за поясненнями власника тварини чи її опікуна; з'ясовує обставини заподіяння ушкоджень у слідчого, дізнавача, у власника чи опікуна тварини; з'ясовує скарги від власника щодо стану здоров'я тварини; ознайомлюється з матеріалами справи, наданими правоохоронним органом; досліджує інші наявні ветеринарні документи, за потреби з'ясовує інші відомості. Судово-ветеринарний експерт, оцінюючи терміни давності порушення анатомічної цілості тканини і органів та їх функцій, виходить із звичайної їх тривалості, навіть у тих випадках, коли тварина не була обстежена фахівцем ветеринарної медицини раніше, до проведення експертизи термінів. Дефекти надання ветеринарної допомоги не повинні враховуватися під час оцінки ступеня тяжкості тілесних ушкоджень. В таких випадках судово-ветеринарний експерт зобов'язаний вказувати характер причинно-наслідкових зв'язків між ушкодженням і такими наслідками. Ушкодження хворобливо змінених тканин і органів тварини може бути розцінене за ступенем тяжкості як таке ж ушкодження цих органів і тканин у клінічно здорових тварин, якщо між цим ушкодженням і несприятливим наслідком є прямий причинний зв'язок. Якщо під час обстеження підекспертної тварини експерт виявляє різне походження тілесних ушкоджень, він встановлює, яким зряддям травми могло бути заподіяне кожне з них. Якщо ушкодження мають різну давність, позначають неодноразовість, неодноразовість і послідовність їх нанесення, вказують строки спричинення кожного з ушкоджень, встановлюється ступінь тяжкості кожного із них. У випадках смерті тварини за наявності тілесних ушкоджень судово-ветеринарний експерт поряд з вирішенням інших питань встановлює наявність чи відсутність причинного зв'язку між ушкодженням і смертю тварини. У випадках, коли між ушкодженням і смертю причинний зв'язок існує, то вони можуть бути оцінені як летальні. Всі отримані відомості відображаються у висновку експерта або у висновку експертного дослідження. Підсумки у висновку експерта повинні бути результатом аналізу об'єктивних відомостей, що встановлені під час проведення судово-ветеринарної експертизи підекспертної тварини. Вони мають бути детальними і науково обґрунтованими.

**Ключові слова:** судово-ветеринарна експертиза, підекспертна тварина, порядок судово-ветеринарного встановлення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини.

## Вступ

Встановлення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини – одне із питань, що ставиться на вирішення судово-ветеринарному експерту в постанові слідчого чи дізнавача або в ухвалі слідчого судді на стадії досудового розслідування правопорушень, пов'язаних із жорстоким поводженням з тваринами (Holovko, 2010; Grugan, 2019), порушенням умов та режиму їх утримання і експлуатації (Heyerhoff et al., 2014; Tosswill et al., 2018), а також транспортування (Hoffman et al., 2012; Riley et al., 2016; Padalino et al., 2015), браконьєрством (Higdon et al., 2008; Caudell et al., 2013; Li et al., 2015; Byrne et al., 2015), дресируванням та поводженням з тваринами, що використовуються у видовищних заходах, спорті та для організації дозвілля (Munoz et al., 2019; Bertuglia et al., 2020), ветеринарним обслуговуванням (McEwen, 2012), постановкою на тваринах експериментів з порушенням вимог законодавства (Weber et al., 2017), виловом та тимчасовою ізоляцією домашніх тварин (Proulx et al., 2020), примушуванням тварин до виконання дій, що їх травмують (Rowan et al., 1993; Alleyne et al., 2019), сексуальним насиллям над тваринами (Ascione et al., 2007), дорожньо-транспортними пригодами за участю тварин (Bruinderink et al., 1996; Langley et al., 2006; Conroy et al., 2019), вогнепальними травмами (Franckenberg et al., 2015; Panasiuk-Flak et al., 2020) тощо.

Визначення ступеня тяжкості тілесних ушкоджень тварин можливе виключно за допомогою судово-ветеринарної експертизи (Cooper et al., 1998; Mills, 2013; de Siqueira et al., 2016; Yatsenko & Parylovskiy, 2020).

Саме судово-ветеринарний експерт вирішує питання щодо характеру травм, їх локалізації, встанов-

лює механізм спричинення шкоди здоров'ю тварини за конкретних обставин і вказує на можливе зряддям травмування (Yatsenko et al., 2019). Відповіді на ці та інші споріднені питання є основою висновка експерта, який має важливе доказове значення у кримінальному і адміністративному судочинстві (Benetato et al., 2011).

Проте правильна і об'єктивна експертна оцінка тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, є однією із складних і не досліджених проблем у ветеринарній медицині взагалі та судово-ветеринарній експертизі, зокрема.

Нами вже проаналізовані судово-експертні випадки дослідження трупів тварин з ознаками насильницької смерті від жорстокого поводження в Україні (Yatsenko et al., 2018; 2020), запропонована авторська редакція дефініції “жорстоке поводження з тваринами” (Yatsenko & Parylovskiy, 2020), розроблені та звернені до використання в практиці судово-ветеринарної експертизи ознаки шкоди, заподіяної здоров'ю, небезпечної для життя тварини (Yatsenko et al., 2019), започатковане вчення про каліцтво тварин (Yatsenko et al., 2019). Проте, підвищення ефективності судово-ветеринарної експертизи можливе шляхом правової регламентації процедури її проведення на практиці.

Таким чином, зважаючи на те, що нині в Україні відсутня юридично затверджена й обов'язкова для виконання усіма суб'єктами експертної діяльності методика визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, а також в спеціальній науковій літературі не описана процедура організації й проведення такого виду експертизи, то підняте питання є актуальним для судово-ветеринарної експертизи і юриспруденції як з теоретичної, так і з практичної точки зору, а, отже, потребує її розроблення,

обґрунтування, систематизації етапів і впровадження в експертну практику.

### Матеріал і методи досліджень

З урахуванням специфіки теми, мети і завдань дослідження в роботі використано наукові методи, зокрема: формально-юридичний, діалектичний, порівняльно-правовий, системного аналізу, моделювання, аналіз висновків експертів за результатами проведення судово-ветеринарної експертизи.

Емпіричну базу дослідження становить аналіз висновків експертів за результатами судово-ветеринарних експертиз щодо жорстокого поводження з тваринами, проведених в Бюро судово-ветеринарних досліджень Харківської державної зооветеринарної академії протягом 2010–2020 років, а також в лабораторії криміналістичних досліджень Національного наукового центру “Харківський науково-дослідний інститут судових експертиз ім. М. С. Бокаріуса” Міністерства юстиції України.

Робота є частиною наукової теми «Теоретико-правові засади судово-ветеринарної експертизи тварин з ознаками жорстокого поводження з ними», яка виконується на базі кафедри ветеринарно-санітарної експертизи та судової ветеринарної медицини Харківської державної зооветеринарної академії. Державний реєстраційний номер – 0118U004677.

### Результати та їх обговорення

Визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, проводиться для оцінки ушкоджень, виявлених під час судово-ветеринарної експертизи живої тварини, трупа чи його частин, а також проведених судово-ветеринарної експертизи за матеріалами справи.

Шкода, заподіяна здоров'ю тварини полягає в тимчасовому або стійкому порушенні функцій органів і (або) систем організму, внаслідок ушкодження, захворювання, патологічного стану, який зумовив тимчасову чи стійку втрату роботоздатності тварини.

Тілесні ушкодження у тварини – це порушення анатомічної цілісності тканин, органів, систем організму, частин тіла та порушення їх функцій, що виникли внаслідок дії одного чи кількох екзогенних травмуючих чинників.

Загальні вимоги, що ставляться в Україні до складання висновку експерта, в т.ч. за результатами визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, а також правовий статус експерта, в т.ч. й судово-ветеринарного, регламентовані Кримінальним процесуальним кодексом України ([Kryminalnyi protsesualnyi kodeks Ukrainy, № 4651-VI](#)), Законом України “Про судову експертизу” ([Pro sudovu ekspertyzu: Zakon Ukrainy. Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy, 1994](#)), “Інструкцією про призначення та проведення судових експертиз та експертних досліджень” ([Instruktsiia pro pryznachennia i provedennia sudovykh ekspertyz, 1998](#)).

Проведення судово-ветеринарної експертизи з визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини здійснюється на основі юридичної та фактичної підстав. Юридичною підставою є постановва слідчого або дізнавача, або ухвала суду, а фактичною – фактичні дані (юридичний факт), котрі можуть бути досліджені експертом і за результатами дослідження яких може бути сформульовано висновок експерта.

Особа, яка призначила судово-ветеринарну експертизу надає експерту: документ про її призначення, в якому зазначаються вид і кличка підекспертної тварини, кому вона належить та інші відомості про тварину, матеріали провадження (протоколи огляду чи інструментальних досліджень тварини з додатками, протокол огляду місця події, виписка з історії хвороби тощо), а також на дослідження доставляється підекспертна тварина.

Якщо підекспертна тварина не може бути доставлена експертові, експертиза може проводитись з використанням фотознімків цієї тварини з детальним їх описанням, доданими до провадження, якщо це не суперечить “Методичним рекомендаціям з визначення ступеня тяжкості тілесних ушкоджень тварин”.

Для виконання додаткової або повторної судово-ветеринарної експертизи для встановлення ступеня шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, експертові надаються висновки первинної експертизи, а також додаткові матеріали, що стосуються предмета експертизи, які були отримані після оформлення висновку первинної експертизи, що узгоджується з п.3.6 “Інструкції про призначенні і проведення судових експертиз і експертних досліджень”.

Якщо проведення комплексної судово-ветеринарної експертизи доручено експертам кількох експертних установ, у документі про призначення експертизи зазначається, яка з них здійснює організацію проведення експертизи, тобто є провідною установою. Об'єкти дослідження і матеріали провадження направляються в провідну експертну установу, що узгоджується з п.3.7 “Інструкції про призначенні і проведення судових експертиз і експертних досліджень”.

Відповідно до п.3.9 “Інструкції про призначення та проведення судових експертиз та експертних досліджень”, якщо необхідно провести судово-ветеринарну експертизу або виконати експертне дослідження на місці події або провести огляд підекспертної тварини за її місцезнаходженням, особа, яка призначила експертизу, має забезпечити прибуття експерта, безперешкодний доступ до підекспертної тварини, а також належні умови для проведення експертизи (дослідження тварини в клініці ветеринарної медицини будь-якої форми власності), а за потреби викликати учасників процесу або інших осіб. Якщо особи, що викликалися не з'явилися без поважних причин, огляд підекспертної тварини проводиться без їх участі, про що зазначається у висновку експерта.

Керівник експертної установи чи його заступник доручає проведення експертизи відповідному структурному підрозділу експертної установи, що узгоджу-



ється з п.4.1 “Інструкції про призначення і проведення судових експертиз і експертних досліджень”.

Відповідно до п.4.5 цієї ж Інструкції, організовуючи проведення комплексної експертизи, керівник експертної установи доручає її проведення відповідним підрозділам експертної установи, зазначаючи, який з них є провідним. Керівник провідного підрозділу за погодженням з керівниками інших підрозділів утворює експертну комісію і призначає її голову.

Якщо клопотання експерта про надання йому додаткових матеріалів не виконане протягом 45 календарних днів, то він письмово повідомляє особу, яка призначила експертизу про неможливість надання висновку експерта.

Судово-ветеринарна експертиза з метою встановлення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини проводиться судово-ветеринарним експертом шляхом ветеринарного обстеження підекспертної живої тварини, трупа тварини чи його частин, а також проведенні експертизи за матеріалами справи. У разі відсутності такого експерта, судово-ветеринарна експертиза може бути проведена лікарем ветеринарної медицини, який має освітній рівень спеціаліста або магістра і є компетентним в цій сфері ветеринарної діяльності.

Компетентність лікаря ветеринарної медицини у сфері судово-ветеринарної експертизи підтверджується наявним у нього науковим ступенем з відповідної спеціальності, вченим званням за відповідною кафедрою, наявними науковими публікаціями, участю в науково-практичних конференціях чи семінарах з напрямку судово-ветеринарної експертизи, досвідом практичної роботи щодо проведення судово-ветеринарної експертизи (експертних досліджень).

Розпочинається судово-ветеринарна експертиза з визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, з того, що експерт за її паспортом чи іншим документом, що його замінює встановлює дані про тварину: кличку тварини, індивідуальний номер, вид, стать, вік, породу тощо. Якщо документи на тварину відсутні, то обмежуються інформацією про тварину, отриману від її власника чи опікуна; встановлює анамнестичні дані підекспертної тварини за поясненнями власника тварини чи її опікуна; з'ясовує обставини заподіяння ушкоджень у слідчого, дізнавача, у власника чи опікуна тварини; з'ясовує скарги від власника щодо стану здоров'я тварини; ознайомлюється з матеріалами справи, наданими правоохоронним органом для дослідження; досліджує інші наявні ветеринарні документи, за потреби знайомиться з іншими відомостями. Всі отримані відомості відображаються у висновку експерта або в експертному дослідженні.

Якщо для об'єктивного проведення судово-ветеринарної експертизи чи експертного дослідження експерту не надані необхідні ветеринарні чи інші документи, які мають значення для встановлення шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, експерт заявляє клопотання про надання відповідних документів протягом строку, передбаченого “Інструкцією про призначення та проведення судових експертиз в Україні”

(*Instruktsiia pro pryznachennia i provedennia sudovykh ekspertyz*, 1998).

Фахівці ветеринарної медицини закладів ветеринарної медицини будь-якої форми власності можуть залучатися до надання допомоги судово-ветеринарному експерту під час проведення ним експертизи чи експертного дослідження для консультацій, клінічного обстеження, здійсненні лабораторних досліджень тощо.

Під час проведення судово-ветеринарної експертизи чи експертного дослідження експерт повинен посылатися на оригінали ветеринарних чи інших документів (історію хвороби, карту амбулаторної хворої тварини тощо чи виписку з них), які пов'язані з предметом експертизи чи експертного дослідження. У виняткових випадках можна використати засвідчені належним чином копії ветеринарних документів з наявністю підпису лікаря ветеринарної медицини і печаткою закладу ветеринарної медицини, де лікували тварину, виготовлені згідно з оригіналами, якщо в останніх вичерпно відображені відомості про характер ушкоджень, їх локалізацію, клінічний перебіг та інші необхідні відомості, що мають суттєве значення для експертизи.

За певних обставин судово-ветеринарний експерт може використовувати відомості досліджень, що проводяться чи проводилися із залученням вузькопрофільних фахівців ветеринарної медицини, котрі спеціалізуються в певній сфері ветеринарної медицини – кардіології, травматології, хірургії, репродуктології, ендокринології, неврології тощо, не обстежуючи потерпілої тварини особисто. У цьому випадку такі відомості досліджень мають бути викладені письмово у вигляді довідки, виписки з історії хвороби чи картки амбулаторного хворого, засвідчені особистими підписами цих фахівців та засвідчені печаткою установи в якій вони проводили лікування чи клініко-лабораторні дослідження підекспертної тварини. У цих випадках у висновку експерта чи висновку експертного дослідження зазначається: де, коли і ким досліджувалася підекспертна тварина; які об'єктивні дані при цьому встановлені; яких висновків дійшов фахівець ветеринарної медицини.

Якщо виникла необхідність в спеціальному судово-ветеринарному обстеженні живої підекспертної тварини, за участю лікарів ветеринарної медицини, проводиться комісійна судово-ветеринарна експертиза в закладі ветеринарної медицини будь-якої форми власності, де є необхідні умови для її проведення.

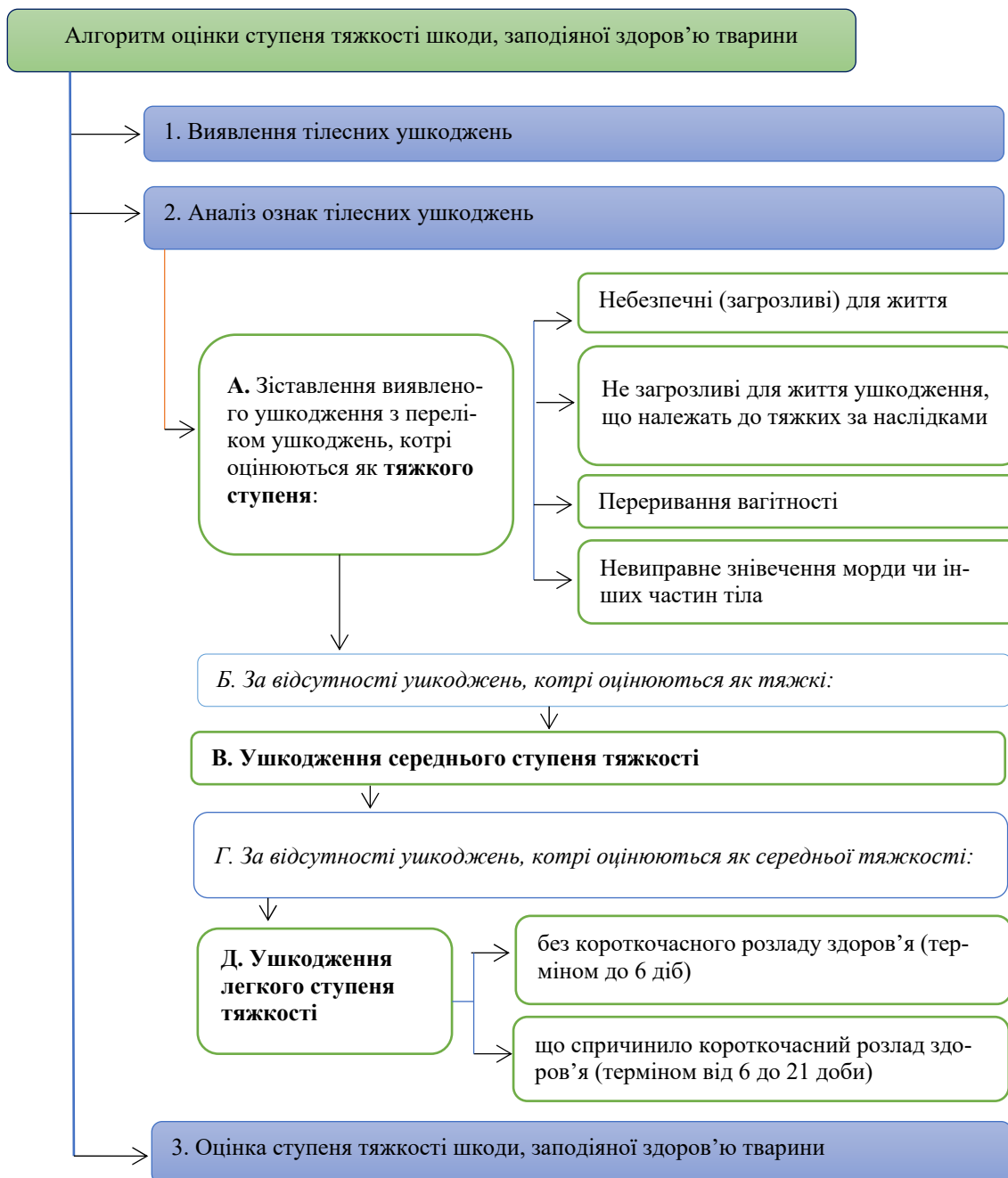
Судово-ветеринарна експертиза проводиться виключно комісією експертів у складі не менше двох осіб у випадку неналежного надання тварині ветеринарної допомоги, що виявилася в порушенні анатомічної цілісності тканин, органів чи окремих ділянок тіла та порушенні їх функцій, в результаті чого виникли негативні наслідки у вигляді розладу здоров'я чи смерті. Комісія експертів може розглядати таке порушення як шкоду, заподіяну здоров'ю тварини, у вигляді ушкодження і визначити ступінь її тяжкості за схемою: тварина – травма – втрата органа чи втрата органом його функцій за відсутності захворювань,

індивідуальних особливостей організму тварини, здатних самостійно привести до втрати органа чи втрати органом своїх специфічних функцій.

Підсумки складаються експертом або комісією експертів на основі отриманих результатів дослідження.

Ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, визначається за судово-ветеринарними критері-

ями, котрі є ветеринарною характеристикою ознак тяжкості ушкоджень. За ступенем тяжкості необхідно розрізнити шкоду, заподіяну здоров'ю тварини, трьох ступенів: тяжку, середньої тяжкості та легкого ступеня (рис. 1).



**Рис. 1.** Алгоритм оцінки ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини

Кваліфікуючі ознаки тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, визначається виключно на основі об'єктивних даних, зазначених у ветеринарних документах або отриманих під час безпосереднього обстеження підекспертної тварини судово-ветеринарним експертом. Якщо такі об'єктивні дані

на момент проведення експертизи відсутні, то експерт зазначає цю обставину у своєму висновку.

Виникнення загрозливого для життя тварини стану має бути пов'язане безпосередньо із заподіянням шкоди здоров'ю, небезпечної для життя тварини, причому цей зв'язок має бути не випадковим, а закономірним.

Тривалість порушення функції систем організму чи окремих органів, а також термін втрати твариною роботоздатності встановлюється в добах, виходячи з об'єктивних ветеринарних даних, оскільки термін лікування може не збігатися з тривалістю функціональних обмежень органів тварини.

Проведене лікування тварини не виключає обмеження функцій органів, систем організму у підекспертної тварини в період після спричинення ушкодження.

У висновку експерта з приводу проведення судово-ветеринарної експертизи для визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини повинні бути відображені такі питання:

1) До якого виду і класу відноситься тварина, яку досліджено, згідно зоологічної систематики?

2) Які фізіологічні особливості потерпілої тварини?

3) Яким є характер ушкоджень з ветеринарної точки зору (садно, синець, рана, перелом кістки тощо) та яка їх локалізація?

4) Який механізм виникнення тілесних ушкоджень у тварини?

5) Яка черговість і послідовність заподіяння ушкоджень, виявлених у тварини?

6) Чи могли ушкодження виникнути без постороннього втручання?

7) Чи можна за характером ушкодження встановити, яким знаряддям травми вони спричинені?

8) Яка давність виникнення тілесних ушкоджень у тварини?

9) Якого ступеня тяжкості кожне з ушкоджень, виявлених в тілі тварини?

10) Чи є ушкодження, завдані тварині, небезпечними для життя в момент їх заподіяння, а якщо так, то чим зумовлена їх небезпечність?

11) До яких наслідків для здоров'я тварини призвело кожне із спричинених ушкоджень, і якими є наслідки в їх сукупності?

12) Чи були в наданні ветеринарної допомоги підекспертній тварині недоліки, що стали причиною спричинення їй ушкоджень, а якщо так, то який ступінь тяжкості цих ушкоджень?

13) Чи є втрата загальної і спеціальної роботоздатності потерпілої тварини стійкою, і якщо є, то який їх термін?

14) Чи існує причинно-наслідковий зв'язок між спричиненими тварині тілесними ушкодженнями за встановлених обставин і розладом її здоров'я?

15) Чи призвели до каліцтва тварини спричинені їй ушкодження за встановлених обставин як кожне окремо, так і в сукупності?

16) Чи вплинуло і як саме наявне каліцтво у тварини на термін стійкої втрати загальної роботоздатності у зв'язку з одержаною цією твариною травмою?

17) Чи існує причинний зв'язок між спричиненим тварині ушкодженням за встановлених обставин і перериванням вагітності?

18) Механізм ушкодження морди або інших частин тіла тварини, і чи є таке ушкодження невірним,

а якщо так, то яким є ступінь тяжкості заподіяного ушкодження?

19) Чи є ушкодження морди або інших частин тіла тварини виправним, а якщо так, то яким є ступінь тяжкості заподіяного ушкодження?

20) Чи є на тілі підекспертної тварини сліди, які вказують на заподіяння їй болю, а якщо так, то яким є механізм їх утворення та давність виникнення?

21) Чи вплинули дії, пов'язані з тривалим позбавленням підекспертної тварини тепла, корму, пиття, утримання її в умовах, шкідливих для здоров'я за умов, зазначених в постанові слідчого чи ухвалі суду, на стан здоров'я підекспертної тварини, і як саме?

22) Чи спричинили виявлені у підекспертної тварини тілесні ушкодження фізичний біль і страждання?

Перелік запропонованих питань не є вичерпним, він може змінюватися в залежності від обставин події, за якої тварині спричинена шкода здоров'ю.

Оцінюючи терміни давності порушення цілісності тканини, органів, частини тіла та їх функцій, судово-ветеринарний експерт виходить із звичайної їх тривалості, навіть тоді, коли власник підекспертної тварини не звертався за ветеринарною допомогою до моменту проведення експертизи. Якщо тривалість порушення, що зазначена в наявних ветеринарних документах, не відповідає характеру ушкодження і не підтверджується об'єктивними даними, то судово-ветеринарний експерт вказує на цю обставину і встановлює ступінь тяжкості кожного з ушкоджень, виходячи з виявлених ним особисто об'єктивних даних.

Оцінка тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини за аналогією наслідків у більшості потерпілих тварин, не допускається.

В основі висновку судово-ветеринарного експерта має лежати принцип "так було" чи "так є", а не "так буває", адже завданням судово-ветеринарного експерта є надати експертну оцінку об'єктивно виявленого, а неможливого, усередненого ушкодження.

Під час визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, не береться до уваги запобігання смертельного наслідку травми, обумовленого наданням ветеринарної допомоги.

Заподіянням шкоди здоров'ю тварини є погіршення стану здоров'я підекспертної тварини, обумовлене дефектом надання ветеринарної допомоги.

Під час проведення судово-ветеринарної експертизи живої підекспертної тварини, яка має захворювання, що розвилось до спричинення ушкодження з повністю або частково раніше втраченою (до травми) функцією, враховується лише шкода, заподіяна здоров'ю тварини, спричинена травмою та зв'язана з нею причинно-наслідковим зв'язком.

Загострення хронічних захворювань в період після заподіяння тварині шкоди здоров'ю, а також інші її наслідки, що обумовлені не власне характером цієї шкоди, а випадковими обставинами (наприклад, тимпанією, інвагінацією петель кишечника, копростазом, тепловим або сонячним ударами тощо), індивідуальними особливостями організму (наприклад, анемією), дефектами надання ветеринарної допомоги тощо не повинні враховуватися під час оцінки ступеня тяжко-

сті шкоди, заподіяної здоров'ю тварини. За таких обставин судово-ветеринарний експерт зобов'язаний вказувати характер причинно-наслідкових зв'язків між шкодою, заподіяною здоров'ю тварини і такими наслідками.

Ушкодження хворобливо змінених тканин і органів тварини оцінюють за ступенем тяжкості як ушкодження цих же органів і тканин у клінічно здорових тварин, якщо між цим ушкодженням і несприятливим наслідком є прямий причинно-наслідковий зв'язок.

Якщо під час обстеження підекспертної тварини експерт виявляє ушкодження різного походження, він встановлює, чим могло бути заподіяне кожне з них. Якщо у тварини виявлені ушкодження різної давності, то експерт має зазначити неоднократність і неодноразовість їх нанесення, вказує строки спричинення кожного з ушкоджень, встановлює ступінь тяжкості кожного із них, послідовність нанесення.

Діагноз забиття м'яких тканин підекспертної тварини має бути поставлений виключно за об'єктивними клінічними дослідженнями. Цей діагноз не враховується для оцінки ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, якщо він встановлений за суб'єктивними даними і не підтверджується об'єктивними дослідженнями.

Підсумки у висновку експерта повинні бути детальним і науково обґрунтованим результатом аналізу фактичних даних, встановлених під час проведення судово-ветеринарної експертизи.

Складання "попередніх висновків" чи надання будь-якої попередньої інформації, що містять ймовірне твердження про ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, неприпустиме.

У разі виявлення ушкоджень різних за ступенем тяжкості експерт не повинен визначати цей ступінь "у сукупності" ушкоджень за найбільш тяжким. В таких випадках кожне ушкодження має бути описане і оцінене окремо. Проте об'єднання однотипних за ступенем тяжкості ушкоджень можливе.

Ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини за наявності кількох тілесних ушкоджень, котрі утворилися від багаторазових травмуючих впливів, в т.ч. під час надання ветеринарної допомоги, визначається окремо для кожного такого впливу.

У випадку, якщо кілька ушкоджень взаємно обтяжують одне одного, або за наявності ушкоджень різної давності, ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварині, проводиться окремо для кожного такого ушкодження.

У випадках встановлення за об'єктивними ветеринарними відомостями, що шкода, заподіяна здоров'ю тварини, була небезпечною для життя, або коли наслідки і завершення процесу протікання ушкодження, тобто його загоєння, що не було небезпечним для життя, не викликає сумнівів, судово-ветеринарний експерт визначає ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, не очікуючи його завершення (загоєння).

Виникнення загрозливих для життя станів тварини має перебувати у причинно-наслідковому зв'язку із заподіянням шкоди здоров'ю, небезпечною для її жит-

тя, а також такий зв'язок не може носити випадкового характеру.

Побої тварини характеризуються заподіянням багаторазових ударів, тому не становлять особливого виду ушкоджень. Якщо після побоїв на тілі підекспертної тварини виявляються ушкодження, їх оцінюють за ступенем тяжкості, виходячи із ознак, описаних в методичних рекомендаціях. Якщо після побиття тварини на її тілі не залишилися жодних слідів, судово-ветеринарний експерт відмічає скарги власника чи опікуна тварини за наявності таких, вказуючи, що об'єктивних ознак ушкоджень не виявлено, а тому і не встановлює ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини.

У разі заподіяння тварині мук і мордування судово-ветеринарний експерт повинен встановити лише наявність, характер, локалізацію, кількість ушкоджень, одночасність чи різночасність їх утворення, особливості ушкоджуючих предметів, механізм їх дії, а також ступінь тяжкості тілесних ушкоджень.

У тварини з ознаками каліцтва на момент спричинення шкоди здоров'ю стійка втрата працездатності у зв'язку з ушкодженням визначається як у клінічно здорових тварин, незалежно від наявності каліцтва, за винятком тих випадків, коли каліцтво пов'язане із захворюванням або новим ушкодженням органів чи частини тіла, що були травмовані раніше.

Розмір стійкої втрати загальної роботоздатності таких тварин, через спричинене ушкодження, необхідно визначати з урахуванням об'єктивної стійкої втрати загальної роботоздатності від попереднього ушкодження.

Втрата загальної роботоздатності у молодняка тварин визначається виходячи із того, що ця втрата настане після досягнення твариною віку роботоздатності.

Судово-ветеринарний експерт діагностує ушкодження морди тварини чи інших частин її тіла як знівечення, встановлюючи, чи є воно виправним або не виправним. Крім того, він визначає вид ушкодження, його особливості й механізм утворення. Ступінь тяжкості такого ушкодження визначається виходячи з встановлених у судово-ветеринарній експертизі критеріїв, викладених у методичних рекомендаціях. Не виправне знівечення частин тіла може бути оцінене як каліцтво тварини.

Судово-ветеринарний експерт, досліджуючи тварину, якій спричинена шкода здоров'ю, повинен завжди визначити ступінь її тяжкості. Ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини не визначається у разі:

1) відсутності клінічних ознак чи недостатнього клініко-інструментального і лабораторного обстеження потерпілої тварини;

2) на момент судово-ветеринарного обстеження не завершилися процеси загоєння ушкодження, що не було небезпечним для життя;

3) відмови власника (опікуна) підекспертної тварини від додаткового обстеження чи додаткового клініко-інструментального дослідження, якщо це не дозволяє експерту достовірно оцінити характер ушко-

дження, його клінічний перебіг, а також завершення його перебігу (загоєння).

4) відсутності ветеринарних документів, в тому числі достатніх результатів додаткових клініко-інструментальних і лабораторних досліджень, без яких не можна оцінити характер і ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю підекспертної тварини;

5) в процесі судово-ветеринарного обстеження живої підекспертної тварини, дослідження матеріалів провадження і ветеринарних документів визначити ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини не виявляється за можливе;

6) не надання підекспертної живої тварини експерту для судово-ветеринарного дослідження.

Якщо встановити ступінь тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, не виявляється за можливе, то судово-ветеринарний експерт у підсумках проведеної експертизи обґрунтовує причини з яких це зробити не можливо і зазначає, які додаткові дані необхідні йому для вирішення цього питання (ветеринарні документи, результати додаткових досліджень тощо), а також встановлює термін повторного чи додаткового дослідження. Це не звільняє експерта від вирішення інших питань, поставлених йому на вирішення в документі про призначення судово-ветеринарної експертизи.

Крім живих підекспертних тварин, об'єктом визначення ступеня шкоди, заподіяної здоров'ю тварини є і трупи тварин. У випадках смерті тварини у якій реєструються тілесні ушкодження, судово-ветеринарний експерт, відповідаючи на питання, поставлені йому на вирішення в документі про призначення судово-ветеринарної експертизи, зобов'язаний встановити наявність чи відсутність причинно-наслідкового зв'язку між ушкодженням і смертю тварини.

Під час експертизи трупа тварини встановлюється лише морфологічна характеристика ушкоджень і відсутні відомості про стадії перебігу, терміну загоєння, можливих порушеннях функцій органів чи окремих ділянок тіла. В таких випадках експерт може лише передбачати наслідки перебігу ушкодження, що за певних обставин може виявитися недостатньо обґрунтованим для кваліфікації ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини.

Якщо в ухвалі слідчого судді чи в постанові слідчого про призначення судово-ветеринарної експертизи є питання щодо ступеня тяжкості ушкодження, виявлених на трупі тварини, судово-ветеринарний експерт повинен зазначити, ознаки, якого ступеня тяжкості (тяжкого, середньої тяжкості чи легкого) спостерігаються.

Під час дослідження трупа тварини про заподіяну шкоду здоров'ю тварини тяжкого ступеня можна стверджувати, якщо між ушкодженням і смертю існує прямий причинно-наслідковий зв'язок і безпосередньо або через свої ускладнення призвело до смертельного результату; ушкодження має хоч оду з ознак небезпечного для життя, виявлену під час дослідження трупа тварини або зафіксоване у медичних документах; виявлені патоморфологічні ознаки втрати зору, слуху, кінцівки, продуктивності, репродуктивної

здатності, або у ветеринарних документах зафіксовані відомості про об'єктивні ознаки втрати функції хоча б однієї з цих функцій.

Шкода, заподіяна здоров'ю тварини, що призвела до її смерті, буде середнього ступеня тяжкості, якщо на трупі тварини відсутні ознаки шкоди здоров'ю тяжкого ступеня, а смерть в посттравматичному періоді, в т.ч. і під час незавершеного лікування тварини, настала більш ніж за 21 добу після спричинення травми, або, якщо існують виявлені під час об'єктивного дослідження трупа чи у ветеринарних документах об'єктивні ознаки значної стійкої втрати роботоздатності тварини.

Шкода, заподіяна здоров'ю тварини, що призвела до її смерті, буде легкого ступеня тяжкості, якщо на трупі тварини відсутні ознаки тяжкої або середньої тяжкості шкоди здоров'ю, а смерть настала в посттравматичний період, в т.ч. під час незавершеного лікування тварини, в термін, що не перевищує 21 добу після спричинення ушкодження, або, якщо існують виявлені під час дослідження трупа чи у ветеринарних документах об'єктивні ознаки незначної стійкої втрати роботоздатності тварини.

Встановлюючи причинно-наслідковий зв'язок між ушкодженням, виявленим у тварини і смертю, судово-ветеринарний експерт не повинен оцінювати це ушкодження як безумовно чи умовно летальне. Якщо між ушкодженням і смертю тварини існує причинно-наслідковий зв'язок, ці ушкодження можуть бути ним оцінені як такі, що призвели до смерті.

В процесі проведення судово-ветеринарної експертизи підекспертної тварини експерт повинен вжити заходів для недопущення можливості спричинення їй додаткових ушкоджень під час маніпуляцій, а також спричинення болю тощо.

Якщо під час проведення судово-ветеринарної експертизи щодо встановлення шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, труп тварини під час розтину буде пошкоджений, то у документі про призначення експертизи має бути дозвіл на його пошкодження. Якщо такий дозвіл відсутній, то на пошкодження трупа має бути отримана окрема письмова згода особи, яка призначила експертизу, що узгоджується з п.4.12 "Інструкції про призначенні і проведення судових експертиз і експертних досліджень".

У разі пошкодження трупа тварини в процесі дослідження до висновку експерта вноситься про це відповідний запис. Пошкоджений під час дослідження труп тварини або його залишки, а також документальні матеріали провадження повертаються особі, яка призначила експертизу, що узгоджується з п.4.12 "Інструкції про призначенні і проведення судових експертиз і експертних досліджень".

Висновок комісії експертів підписується експертами, які брали участь у сукупній оцінці результатів усіх досліджень і дійшли згоди. Якщо вони не прийшли до згоди між собою, складаються стільки висновків експертів, скільки виявилось точок зору або один, у якому вступна і дослідницька частини підписуються всіма експертами, а заключна – окремими з відповідними висновками або згідно з проведеними

ними дослідженнями, що узгоджується з п.4.10 “Інструкції про призначенні і проведення судових експертиз і експертних досліджень”.

Відповідно до п.4.13 цієї ж Інструкції висновок експерта або повідомлення про неможливість надання висновку розглядається керівником або заступником керівника підрозділу та керівником експертної установи і скеровується особі, яка призначила експертизу.

Якщо під час ознайомлення з висновком експерта буде встановлено, що дослідження підекспертної тварини проведені з порушенням методики дослідження, керівник експертної установи може передоручити проведення судово-ветеринарної експертизи комісії експертів, до якої включається також експерт, який проводив попереднє дослідження, що узгоджується з п.4.13 “Інструкції про призначенні і проведення судових експертиз і експертних досліджень”.

Висновок експерта, в якому виявлені технічні помилки, повертається експерту для доопрацювання.

Висновок судово-ветеринарного експерта оформляється в кількості, визначеній “Інструкцією про призначенні і проведення судових експертиз і експертних досліджень” ([Instruktsiia pro pryznachennia i provedennia sudovykh ekspertyz, 1998](#)) та видається персонально особі або органу, що призначили судово-ветеринарну експертизу, чи за їх письмовою вказівкою надсилається поштою не пізніше терміну, визначеного чинним законодавством.

Видача висновку судово-ветеринарної експертизи на руки власнику чи опікуну підекспертної тварини, яка була обстежена, можлива лише за письмовим дозволом слідчого чи суду, який призначив судово-ветеринарну експертизу. Заміна висновку судово-ветеринарної експертизи іншими документами не дозволяється.

### Висновки

Визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, проводиться для оцінки ушкоджень, виявлених під час судово-ветеринарної експертизи живої тварини, трупа чи його фрагментів, а також проведенні судово-ветеринарної експертизи за матеріалами справи.

Алгоритм оцінки ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини полягає у виявленні тілесних ушкоджень, аналізі та зіставленні виявлених ознак ушкодження з переліком ознак ушкоджень, котрі оцінюються як тяжкі, середньої тяжкості чи легкі за ступенем тяжкості та оцінці ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини.

Якщо під час обстеження підекспертної тварини експерт виявляє різне походження тілесних ушкоджень, він встановлює, яким знаряддям травми могло бути заподіяне кожне з них. Якщо ушкодження мають різну давність, констатують неоднократність, неодноразовість і послідовність їх нанесення, вказується термін спричинення кожного з ушкоджень, встановлюється ступінь тяжкості кожного із них.

У випадках смерті тварини від ушкоджень, судово-ветеринарний експерт поряд з вирішенням інших

питань встановлює наявність чи відсутність причинно-наслідкового зв'язку між ушкодженням і смертю тварини. Якщо такий зв'язок існує, то вони можуть бути оцінені як летальні тяжкого, середньої тяжкості чи легкого ступенів тяжкості.

Сформульовані питання, які можуть бути поставлені на вирішення судово-ветеринарному експерту під час визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю потерпілої тварини, базуються на принципах формальної логіки, діалектики, системного аналізу, моделювання та впливають на ефективність призначення та проведення судово-ветеринарної експертизи, в т.ч. за жорстокого поводження.

Розроблений алгоритм проведення судово-ветеринарної експертизи з визначення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини, здатний позитивно вплинути на ефективність проведення і результативність судово-ветеринарної експертизи, надання обґрунтованого і об'єктивного висновку експерта в категоричній формі.

*Перспективи подальших досліджень* полягають у обґрунтуванні шкоди здоров'ю, заподіяної підекспертним тваринам, відповідно до характеру різних видів тілесних ушкоджень та розроблених судово-ветеринарних критеріїв в експертній практиці.

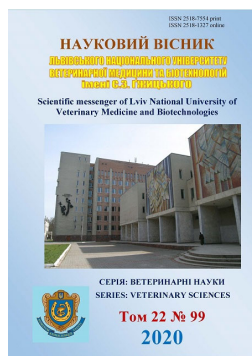
### References

- Alleyne, E., & Parfitt, C. (2019). Adult-Perpetrated Animal Abuse: A Systematic Literature Review. *Trauma violence & abuse, 20*(3), 344–357. doi: 10.1177%2F1524838017708785.
- Ascione, F. R., Weber, C. V., Thompson, T.M., Heath, J., Maruyama, M., & Hayashi, K. (2007). Battered pets and domestic violence – Animal abuse reported by women experiencing intimate violence and by nonabused women. *Violence against women, 13*(4), 354–373. doi: 10.1177%2F1077801207299201.
- Benetato, M.A., Reisman, R., & McCobb, E. (2011). The veterinarian's role in animal cruelty cases. *Javma-journal of the american veterinary medical association, 238*(1), 31–34. doi: 10.2460/javma.238.1.31.
- Bertuglia, A., Pagliara, E., Manca, F., Pozzolo, P., & Mannelli, A. (2020). Prognostic Indicators after Musculoskeletal Injuries in Standardbred Racehorses in Italy. *Journal of equine veterinary science, 92*, 103180. doi: 10.1016/j.jevs.2020.103180.
- Bruinderink, G.W.T.A.G., & Hazebroek, E (1996). Ungulate traffic collisions in Europe. *Conservation biology, 10*(4), 1059–1067. doi: 10.1046/j.1523-1739.1996.10041059.x.
- Byrne, A. W., O'Keeffe, J., Fogarty, U., Rooney, P., & Martin, S. W. (2015). Monitoring trap-related injury status during large-scale wildlife management programmes: an adaptive management approach. *European journal of wildlife research, 61*(3), 445–455. doi: 10.1007/s10344-015-0916-6.
- Caudell, J. N. (2013). Review of Wound Ballistic Research and Its Applicability to Wildlife Management. *Wildlife society bulletin, 37*(4), 824–831. doi: 10.1002/wsb.311.

- Conroy, M., O'Neill, D., Boag, A., Church, D., & Brodbelt, D. (2019). Epidemiology of road traffic accidents in cats attending emergency-care practices in the UK. *Journal of small animal practice*, 60(3), 146–152. doi: 10.1111/jsap.12941.
- Cooper, J. E., & Cooper, M. E. (1998). Future trends in forensic veterinary medicine. *Seminars in avian and exotic pet medicine*, 7(4), 210–217. doi: 10.1016/S1055-937X(98)80066-2.
- de Siqueira, A., Cuevas, S. E. C., Salvagni, F. A., & Maiorka, P. C. (2016). Forensic Veterinary Pathology: Sharp Injuries in Animals. *Veterinary pathology*, 53(5), 979–987. doi: 10.1177/0300985816655850.
- Franckenberg, S., Kern, F., Vogt, M., Thali, M. J., & Flach, P. M. (2015). Fatal gunshot to a fox: The Virtopsy approach in a forensic veterinary case. *Journal of forensic radiology and imaging*, 3(1), 72–75. doi: 10.1016/j.jofri.2014.11.001.
- Glenn D. W. (2019). Animal cruelty and bullying: Behavioral markers of delinquency risk or causal antecedents of delinquent behavior? *International journal of law and psychiatry*, 62, 77–84. doi: 10.1016/j.ijlp.2018.11.008.
- Grugan, S. T. (2019). Capturing Cruelty: A content analysis of companion animal cruelty in the news media. *Society & animals*, 27(1), 92–108. doi: 10.1163/15685306-12341530.
- Heyerhoff, J. C. Z., LeBlanc, S. J., DeVries, T. J., Nash, C. G. R., Gibbons, J., Orsel, K., Barkema, H. W., Solano, L., Rushen, J., & de Passille, A. M. (2014). Prevalence of and factors associated with hock, knee, and neck injuries on dairy cows in freestall housing in Canada. *Journal of dairy science*, 97(1), 173–184. doi: 10.3168/jds.2012-6367.
- Higdon, J. W., & Snow, D. (2008). First Record of a Collapsed Dorsal Fin in a White-beaked Dolphin *Lagenorhynchus albirostris*, with a Gunshot Wound as a Possible Cause. *Canadian field-naturalist*, 122(3), 262–264. doi: 10.22621/cfn.v122i3.609.
- Hoffman, L.C., & Luhl, J. (2012). Causes of cattle bruising during handling and transport in Namibia. *Meat science*, 92(2), 115–124. doi: 10.1016/j.meatsci.2012.04.021.
- Holovko, I. A. (2010). Kryminalna vidpovidalnist za zhorstoke povodzhennia z tvarynamy: avtoref. dys... k.i.u.n.: 12.00.08. Kyiv (in Ukrainian).
- Instruktsiia pro pryznachennia i provedennia sudovykh ekspertyz (Nakaz Ministerstva yustytysii Ukrainy vid 08.10.1998 r. № 53/5 (u redaktsii nakazu Ministerstva yustytysii Ukrainy vid 26.12.2012 № 1950/5) (in Ukrainian).
- Kryminalnyi protsesualnyi kodeks Ukrainy, № 4651-VI (in Ukrainian).
- Langley, R. L., Higgins, S. A. & Herrin, K. B. (2006). Risk factors associated with fatal animal-vehicle collisions in the United States, 1995-2004. *Wilderness & environmental medicine*, 17(4), 229–239. doi: 10.1580/06-WEME-OR-001R1.1.
- Li, Q., Deng, D., Tao, J., Wu, X., Yi, F., Wang, G., & Yang, F. (2015). Ultrasonic imaging of gunshot wounds in pig limb. *Genetics and molecular research*, 14(2), 4291–4302. doi: 10.4238/2015.april.30.1.
- McEwen, B. J. (2012). Trends in Domestic Animal Medico-Legal Pathology Cases Submitted to a Veterinary Diagnostic Laboratory 1998–2010. *Journal of forensic sciences*, 57(5), 1231–1233. doi: 10.1111/j.1556-4029.2012.02123.x.
- Mills, G. (2013). Proving the crime: how veterinary forensics can help. *Veterinary record*, 172(18), 465. doi: 10.1136/vr.f2694.
- Munoz, A., Saitua, A., Becero, M., Riber, C., Satue, K., de Medina, A. S., Arguelles, D., & Castejon-Riber, C. (2019). The use of the water treadmill for the rehabilitation of musculoskeletal injuries in the sport horse. *Journal of veterinary research*, 63(3), 439–445. doi: 10.2478/jvetres-2019-0050.
- Padalino, B., Hall, E., Raidal, S., Celi, P., Knight, P., Jeffcott, L., & Muscatello, G. (2015). Health Problems and Risk Factors Associated with Long Haul Transport of Horses in Australia. *Animals*, 5(4), 1296–1310. doi: 10.3390/ani5040412.
- Panasiuk-Flak, K., Grela, M., Listos, P., Gryzinska, M., Buszewicz, G., Chagowski, W., & Teresinski, G. (2020). Forensic veterinary evaluation of gunshot wounds to a dog's head based on traditional examination methods and modern imaging techniques. *Animals*, 10(8), 159–164. doi: 10.21521/mw.6357.
- Pro sudovu ekspertyzu: Zakon Ukrainy. Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy (VVR), 1994, № 28, st. 232 (in Ukrainian).
- Proulx, G., Cattet, M., Serfass, T. L., & Baker, S. E. (2020). Updating the AIHTS Trapping Standards to Improve Animal Welfare and Capture Efficiency and Selectivity. *Animals*, 10(8), 1262. doi: 10.3390/ani10081262.
- Riley, C. B., Noble, B. R., Bridges, J., Hazel, S. J., & Thompson, K. (2016). Horse Injury during Non-Commercial Transport: Findings from Researcher-Assisted Intercept Surveys at Southeastern Australian Equestrian Events. *Animals*, 6(11), 65. doi: 10.3390/ani6110065.
- Rowan, A. N. (1993). Cruelty to animals. *Anthrozoos*, 6(4), 218–220. doi: 10.2752/089279393787002169.
- Tosswill, M., Roskrige, M., Smith, A., & Christey, G. (2018). Livestock-related injuries in the Midland region of New Zealand. *New Zealand medical journal*, 131(1483), 13–20. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30286061>.
- Weber, B., Lackner, I., Haffner-Luntzer, M., Palmer, A., Pressmar, J., Scharffetter-Kochanek, K., Knoll, B., Schrezenemeier, H., Relja, B., & Kalbitz, M. (2017). Modeling trauma in rats: similarities to humans and potential pitfalls to consider. *Journal of translational medicine*, 17, 305. doi: 10.1186/s12967-019-2052-7.
- Yatsenko, I. V., & Parylovskiy, O. I. (2020). Novitni dosiahnennia v sudovo-veterynarnii ekspertyzi tvaryn, postrazhdalykh vid zhorstokoho povodzhennia. Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Hzhyskoho. Seriya: Veterynarni nauky, 22(97), 95–105. doi: 10.32718/nvlvet9716 (in Ukrainian).
- Yatsenko, I. V., Parylovskiy, O. I., & Kolomoiets, D. K. (2019). Obhruntuvannia pytan, shcho stavliatsia v

- ukhvali sudu ta postanovi slidchoho pry pryznachenni sudovo-veterynarnoi ekspertyzy trupa tvaryny z oznakamy nasylnytskoi smerti vid zhorstokoho povodzhennia. *Veterynariia, tekhnologii tvarynnytstva ta pryrodokorystuvannia: naukovo-praktychnyi zhurnal*, 4, 184–197. doi: 10.31890/vttp.2019.04.34.
- Yatsenko, I. V., Parylovskiy, O. I., & Prykhodko, I. (2019). Sudovo-veterynarni oznaky shkody zdoroviu, nebezpechnoi dlia zhyttia tvaryny. *Veterynariia, tekhnologii tvarynnytstva ta pryrodokorystuvannia: naukovo-praktychnyi zhurnal*, 5, 239–245. doi: 10.31890/vttp.2020.05.42 (in Ukrainian).
- Yatsenko, I. V., Zapara, S. I., Zakhariev, A. V., & Skrypka, M. V. (2018). Serdiukov Ya. K. Sudovo-ekspertni wypadky doslidzhennia trupiv tvaryn z oznakamy nasylnytskoi smerti vid zhorstokoho povodzhennia. *Problemy zoonzhenerii ta veterynarnoi medytsyny: Zbirnyk naukovykh prats Kharkivskoi derzhavnoi zooveterynarnoi akademii*, 36(2), 130–138 (in Ukrainian).





Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9929  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.03:618.2/7:618.71:636.3

## The effectiveness of “Iodozol” in combination therapy in the treatment of postpartum vulvitis in goats

R. M. Sachuk<sup>1</sup>, Ya. S. Stravsky<sup>2</sup>, O. A. Katsaraba<sup>3</sup>, C. A. Ponomareva<sup>4</sup>, N. V. Ostapiv<sup>4</sup>, L. V. Kalynovska<sup>4</sup>, Ye. Ie. Kostyshyn<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Rivne State University for the Humanities, Rivne, Ukraine

<sup>2</sup>I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

<sup>3</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

<sup>4</sup>State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives, Lviv, Ukraine

### Article info

Received 18.09.2020  
Received in revised form  
19.10.2020  
Accepted 20.10.2020

Rivne State University for the  
Humanities, Plastova str., 29-a,  
Rivne, 33028, Ukraine.  
Tel.: +38-097-671-90-63  
E-mail: sachuk.08@ukr.net

I. Horbachevsky Ternopil National  
Medical University, 1, Freedom  
Square, Ternopil, 46001, Ukraine

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies,  
Pekarska, Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.

State Scientific-Research Control  
Institute of Veterinary Medicinal  
Products and Feed Additives  
Donetska str., 11, Lviv,  
79019, Ukraine.

**Sachuk, R. M., Stravsky, Ya. S., Katsaraba, O. A., Ponomareva, C. A., Ostapiv, N. V., Kalynovska, L. V., & Kostyshyn, Ye. Ie. (2020). The effectiveness of “Iodozol” in combination therapy in the treatment of postpartum vulvitis in goats. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 193–197. doi: 10.32718/nvlvet9929**

In the nosology of obstetric pathology of goats a special place is occupied by postpartum lesions of the genitals by pathogenic microflora, of which the lion's share are postpartum vulvitis. The aim of the study was to test a new treatment regimen for postpartum vulvitis in goats and to study the therapeutic efficacy of the drug “Iodozol”, “Celexib” and “Dextrodev 50” in this pathology. Clinical and anamnestic data showed that the symptoms of postpartum vulvitis of goats were characterized by inflammatory edema, high pain, local fever, impaired tissue integrity, hematomas and discharge from the genital tract. Microbiological studies of secretions from the genitals revealed the presence of *E. coli*, *S. aureus*, less often – *S. saprophyticus* and *E. faecalis*. High resistance of microorganisms to fluoroquinolones and penicillins is noted. *E. coli* was sensitive to only 35.7 % of antimicrobial drugs, including ceftriaxone, ceftiofur, and iodine. *S. aureus* is sensitive to 49.9 % of antimicrobial drugs, including ceftriaxone, cephalixin, gentamicin, ceftiofur, iodine (highest sensitivity) and chlorhexidine. *S. saprophyticus* was insensitive to a number of antibiotics (oxytetracycline, gentamicin, etc.), except iodine. Taking into account microbiological researches the complex scheme of treatment of postpartum vulvitis at goats is developed. Evaluation of the effectiveness of complex therapy of this pathology in animals showed that treatment with “Iodozole”, “Celexib” and “Dextrodev 50” in a short time eliminates inflammatory symptoms (pain, infiltration, redness, discharge). At the end of the course of treatment in the blood was observed an increase in hemoglobin concentration by 13.7 %, a decrease in the number of erythrocytes by 1.7 and leukocytes by 2.2 times compared with treatment. The topical intrauterine drug “Iodozol”, a non-steroidal injectable drug “Celexib”, has been found to have a broad spectrum of antimicrobial activity, and is effective and safe to use. The drugs have an anti-edematous and analgesic effect, and symptomatic treatment with intravenous solution “Dextrodev 50” is a mandatory component of complex therapy and is aimed at replenishing the body with nutrients, as well as helps to neutralize and remove toxins from the body. Further research will be to study the clinical efficacy and develop regulations for the use of this scheme in vulvitis and cervicitis of other ruminants.

**Key words:** goat, vulvitis, blood, efficacy, drug, “Iodozol”, “Celexib”, “Dextrodev 50”.

## Ефективність застосування “Йодозолу” у комплексній терапії при лікуванні післяродового вульвіту у кіз

Р. М. Сачук<sup>1</sup>, Я. С. Стравський<sup>2</sup>, О. А. Кацараба<sup>3</sup>, С. А. Пономарьова<sup>4</sup>, Н. В. Остапів<sup>4</sup>, Л. В. Калиновська<sup>4</sup>, Є. Є. Костишин<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Рівненський державний гуманітарний університет, м. Рівне, Україна

<sup>2</sup>Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Тернопіль, Україна

<sup>3</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

<sup>4</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

У нозології акушерської патології кіз особливе місце займають післяродові ураження статевих органів патогенною мікрофлорою, з них ліву частку становлять післяродові вульвіти. Метою роботи було апробувати нову схему лікування за післяродового вульвіту у кіз та вивчити терапевтичну ефективність препарату “Йодозол”, “Целексиб” та “Декстродев 50” при даній патології. Клініко-анамнезичними даними встановлено, що симптоми післяродового вульвіту кіз характеризувалися запальним набряком, високою больовою реакцією, місцевим підвищенням температури, порушенням цілісності тканин, гематомами та виділеннями зі статевих шляхів. Мікробіологічними дослідженнями виділень із статевих органів встановлено наявність *E. coli*, *S. aureus*, рідше – *S. saprophyticus* та *E. faecalis*. Відмічено високу стійкість мікроорганізмів до фторхінолонів і пеніцилінів. *E. coli* були чутливими лише до 35,7 % антимікробних препаратів, зокрема до цефтріаксону, цефтіофуру, а також до йоду. *S. aureus* чутливий до 49,9 % антимікробних препаратів, зокрема до цефтріаксону, цефалексину, гентаміцину, цефтіофуру, йоду (найбільша чутливість) та хлорексидину. *S. saprophyticus* виявився нечутливим до низки антибіотиків (окситетрациклін, гентаміцин і ін.), крім йоду. З врахуванням мікробіологічних досліджень розроблено комплексну схему лікування післяродового вульвіту у кіз. Оцінка ефективності комплексної терапії даної патології у тварин показала, що лікування “Йодозолом”, “Целексибом” та “Декстродевом 50” у короткі терміни усуває запальні симптоми (біль, інфільтрація, гіперемія, виділення). По завершенню курсу лікування у крові спостерігали збільшення концентрації гемоглобіну на 13,7 %, зменшення кількості еритроцитів у 1,7 та лейкоцитів у 2,2 рази у порівнянні до лікування. Було встановлено, що місцевий внутрішньоматковий препарат “Йодозол”, ін’єкційний нестероїдний лікарський засіб “Целексиб” мають широкий спектр антимікробної дії, вони є ефективними та безпечними при використанні. У комплексі препарати чинять протинабрякову та знеболюючу дію, а симптоматичне лікування розчином для внутрішньовенного застосування “Декстродев 50” є обов’язковим компонентом комплексної терапії та спрямоване на поповнення організму поживним матеріалом, а також сприяє знешкодженню та виведенню токсинів з організму. Подальші дослідження будуть полягати у вивченні клінічної ефективності та розробці регламентів застосування даної схеми при вульвітах і цервіцитах інших жувальних тварин.

**Ключові слова:** коза, вульвіт, кров, ефективність, препарат, “Йодозол”, “Целексиб”, “Декстродев 50”.

## Вступ

У останні роки козівництво України починає відроджуватися. Проте кількість маточного поголів’я вкрай низька, а якісні характеристики місцевих порід недостатні (Hryshchenko & Marchenko, 2016; Sklyarov & Koshevoy, 2016). За такого стану лікування та профілактика акушерсько-гінекологічних захворювань кіз має першочергове значення. Вагітність і роди у цих тварин супроводжуються великим фізичним, нейрогуморальним та імунологічним напруженням, що викликає фізичну втому організму, зниження його резистентності, на ґрунті чого виникають різноманітні ускладнення, а зокрема післяродовий вульвіт (Zhuravel & Davydenko, 2005; Yablonskyi et al., 2006; Fedorenko et al., 2017) Несвоєчасне лікування тварини у післяродовий період викликає неплідність, що завдає значних збитків господарствам (Sysoyev, 1978, Yablonskyi et al., 2006; Sklyarov, 2015).

Часто завадами терапії вульвіту є занижені показники імунітету кіз у післяродовий період та резистентність патогенної флори до широкоживаних антибактеріальних препаратів. Окремі препарати мають обмеження, щодо застосування у період лактації, отже є потреба розробляти і впроваджувати нові, дієві та безпечніші схеми лікування захворювань на основі лікарських засобів, що мають протимікробну, проти-запальну та відновлюючу дію.

З огляду на фізіологічний стан тварин при даному захворюванні, безпечнішим буде місцеве застосування йодовмісних препаратів, що мають широкий спектр протимікробної та протигрибкової дії. До того ж у доступній літературі відсутні дані про здатність

йодних засобів викликати резистентність у мікроорганізмів за зовнішнього застосування. Особливо зручним є використання препарату “Йодозол” у формі аерозолу. Крім того при розробці схеми лікування враховували, те що нестероїдні протизапальні препарати за рахунок вияву широкого фармакологічного впливу на організм тварин (анальгетичний, протизапальний, антигетоксичний, жарознижувачий) мають значний потенціал використання для лікування післяродової патології у кіз. З огляду на той факт, що при післяродовому вульвіті у кіз відзначаються морфологічні і функціональні поразки ураження окремих систем організму, детоксикація є неодмінним комплексом терапії.

Тому, патогенетична терапія за комплексного лікування кіз, хворих на післяродовий вульвіт, у першу чергу направлена на зменшення запалення та зниження детоксикації.

Мета роботи – апробувати нову схему лікування за післяродового вульвіту у кіз та вивчити терапевтичну ефективність препарату “Йодозол”, “Целексиб” та “Декстродев 50” при даній патології.

## Матеріал і методи досліджень

Досліди проводились у міні-фермі особистого селянського господарства Сістук В.П. с. Річиця Гошанського району Рівненської області на козах зааненської породи віком 2–4 роки, живою масою 40–45 кг, які утримуються за стійлово-пасовищною системою, у яких діагностували клінічні форми післяродового вульвіту.

Для вивчення терапевтичної ефективності “Йодозолу” та “Целексибу” було відібрано 7 тварин, у яких діагностували післяродовий вульвіт. Тваринам вводили внутрішньоматково засіб “Йодозол” та ін’єкційно препарат “Целексиб”. “Йодозол” попередньо перед введенням підігрівали до температури +35–40°C і ретельно збовтували. Препарат вводили двохразово внутрішньоматково в дозі 25 мл на тварину кожні 48 годин. Препарат “Целексиб” вводили двохразово внутрішньом’язово у дозі 1 мл на 50 кг маси тіла з інтервалом 48 годин. Паралельно для підтримки енергетичних ресурсів і фізіологічного напруження організму кіз внутрішньовенно вводили “Декстродев 50” 100 мл на добу, поступово зі швидкістю біля 20–50 мл/хв, протягом 3 діб.

Препарат “Йодозол” містить йод і калію йодид. Дія лікарського засобу “Йодозол” обумовлюється з тривалим виділенням молекулярного йоду. Дає сильний окислювальний ефект, руйнує органічні речовини, частково окислюючи та замінюючи їх. Присутність органічних речовин зменшує його бактерицидну дію. Йодид калію сприяє розчиненню йоду і запобігає появі йодидної кислоти та її солей. Утворенням піни надає можливість впливу активної речовини на всю внутрішню поверхню стінки матки та її роги. Після нанесення на слизову оболонку статевих органів, діючі речовини незначно всмоктуються у системний кровоток. Йод виводиться з організму через нирки і в меншій мірі через шлунково-кишковий тракт, легені і шкіру.

“Целексиб” – нестероїдний протизапальний препарат з вираженою беззаспокійливою та жарознижуючою дією у якості діючої речовини цецекоксиб. Цецекоксиб являється синтетична сполука з класу нестероїдних протизапальних речовин, що належать до інгібіторів циклооксигенази-2 (COX-2), які мають знеболюючі, жарознижуючі, протизапальні властивості. Механізм дії цецекоксибу полягає у селективному інгібуванні COX-2 – ключового ферменту синтезу медіаторів запалення. Внаслідок високої селективності дії, цецекоксиб не спричиняє побічні ефекти, що властиві іншим нестероїдним протизапальним препаратам (утворення виразок травного каналу, порушення ниркового кровотоку, геморагічні явища). “Целексиб” є безпечним у застосуванні, може використовуватися під час вагітності та в період лактації, оскільки доведено відсутність тератогенного ефекту (Silverstein et al., 2000). Діюча речовина препарату після ін’єкції швидко проникає у тканини, де знаходиться тривалий час.

Розчин для внутрішньовенного застосування “Декстродев 50” містить діючу речовину декстроза. Після внутрішньовенного введення гіпертонічного розчину декстрози підвищується осмолярність крові, стимулюються процеси обміну речовин, покращується детоксикаційна функція печінки, посилюється скоротлива функція міокарду, збільшується діурез. У процесі метаболізму декстрози у тканинах утворюється значна кількість енергії, яка необхідна для життєдіяльності організму. Лікарські засоби “Йодозол”, “Це-

лексиб” та “Декстродев 50” проходять передреєстраційні клінічні випробування.

При клінічному обстеженні піддослідних кіз користувалися загальноприйнятими методами. Оцінювали загальний стан тварин, запальний набряк, больову реакцію, місцеве підвищення температури, порушення цілісності тканин і гематоми.

Мікробіологічні дослідження проводили у лабораторії мікробіології рівненської регіональної лабораторії ветеринарної медицини згідно з загальноприйнятими методиками. Для дослідження мікрофлори зразки досліджуваного матеріалу висівали на поживні середовища. При цьому використовували для виділення стафілококів – *BD Baird-Parker Agar* (HiMedia, Індія); колиформних бактерій – агар Ендо (Фармактив, Україна), ентерококів – *Ентерокок агар* (Фармактив, Україна). Культивування проводили за температури 37 °С, результати оцінювали через 24–48 годин. Ідентифікацію чистих культур проводили за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями, які описані у визначнику бактерій Берджі (Vos et al., 2011).

Чутливість ізолятів до антибактеріальних препаратів визначали диско-дифузійним методом, використовуючи диски з антибіотиками (HiMedia, Індія). При постановці методу використовували *Mueller Hinton Agar* (HiMedia, Індія). Приготування мікробних суспензій проводили відповідно до оптичного стандарту мутності 1,0 одиниць за шкалою McFarland з використанням приладу *Densi-LaMeter* (PLIVA-Lachema Diagnostika, Чехія).

Визначення чутливості мікроорганізмів до препаратів проводили таким способом. Готували суспензії з чистих культур, висівали суспензії в чашки Петрі з відповідним середовищем, виготовляли в середовищі лунки за допомогою пробійника № 10, заповнювали їх експериментальними зразками лікарських засобів. Чашки Петрі інкубували в термостаті упродовж 24 годин, потім оцінювали результат за діаметром затримання росту мікроорганізмів навколо лунки. Діаметр до 15 мм – мікроорганізми нечутливі до антисептиків, від 16 до 20 мм – мікроорганізми помірно чутливі до антисептиків, від 21 до 25 мм – мікроорганізми чутливі до антисептиків, від 26 мм і більше – мікроорганізми високочутливі до антисептиків.

Морфологічні дослідження крові кіз проводили до та після лікування. Кількість еритроцитів та лейкоцитів визначали в камері Горяєва, вміст гемоглобіну за допомогою гемометра. Дослідження крові також проводили на автоматичному гематологічному аналізаторі “PCE-170” у лабораторії з контролю якості, безпечності та реєстрації ветеринарних лікарських засобів і кормових добавок ТОВ “ДЕБІЕ” (Chumachenko et al., 1990, Vlizlo, et al., 2012).

Статистичну обробку результатів проводили за загальнопринятною біометричною методикою (Rokyt-skyu P.F. 1973). Різницю між двома середніми величинами вважали статистично вірогідною при \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$ .

### Результати та їх обговорення

При зборі анамнезу встановлено, що травми м'яких тканин є наслідком важких і патологічних родів у кіз з послідувачим інфікуванням патогенною мікрофлорою. Клінічні симптоми післяродового вульвіту характеризувалися запальним набряком, високою больовою реакцією, місцевим підвищенням температури, порушення цілісності тканин, гематомами, виділення (рис. 1).



Рис. 1. Клінічна картина вульвіту у кіз

З виділень виділяли *E. coli*, *S. aureus*, рідше – *S. saprophyticus* та *E. faecalis*. Щодо резистентності виділеної флори, відмічено високу стійкість мікроорганізмів до фторхінолонів і пеніцилінів. Так, культури

*E. coli* були чутливими лише до 35,7 % антимікробних препаратів, зокрема до цефтріаксону, цефтіофуру, а також до йоду. *S. aureus* чутливий до 49,9 % антимікробних препаратів, зокрема до цефтріаксону, цефалексину, гентаміцину, цефтіофуру, йоду (найбільша чутливість) та хлоргексидину. Тоді як, *S. saprophyticus* виявився нечутливим до низки антибіотиків (окситетрациклін, гентаміцин і ін.), крім йоду.

За отриманими мікробіологічними результатами у комплексне лікування післяродового вульвіту кіз було включено препарат “Йодозол” у формі аерозолу.

Оцінка ефективності комплексної терапії післяродового вульвіту у кіз показала, що лікування “Йодозолом” у короткі терміни усуває запальні симптоми (біль, інфільтрація, гіперемія, виділення). До переваг застосування внутрішньоматкового препарату слід віднести й зручну форму випуску – аерозоль з катетером, який забезпечує рівномірне, повне і щадне зрошення вульви. Як наслідок уже на другу добу лікування загоюються мікротравми, тріщини, розриви слизової оболонки піхви та вульви та поліпшується загальний стан тварин.

Застосована нами схема комплексної терапії “Йодозолом” з ін'єкціями нестероїдного препарату “Целексиб” та метаболічного засобу “Декстродев 50” дала швидке одужання, яке гематологічно характеризувалося збільшенням концентрації гемоглобіну у крові на 13,7 %, зменшенням кількості еритроцитів у 1,7 та лейкоцитів у 2,2 рази, а отже, мало потужніший вплив на наслідки інфекції (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив препарату “Йодозол” на клінічні показники крові у кіз при післяродовому вульвіті,  $M \pm m$ ,  $n = 7$

Показник	До лікування	Після лікування
Гемоглобін (НВ), г/л	99,4 ± 0,37	113,0 ± 1,67***
Еритроцити (RBS), т/л	18,7 ± 0,99	11,3 ± 0,14***
Тромбоцити (PLT), г/л	371,5 ± 20,77	442,9 ± 18,2**
Лейкоцити (WBS), г/л	19,0 ± 0,29	8,7 ± 0,23***
	Лейкограма, %	
Базофіли	-	-
Еозинофіли	3,1 ± 0,9	1,7 ± 0,34
Юні нейтрофіли	-	-
Паличкоядерні нейтрофіли	1,9 ± 0,37	1,0 ± 0,24
Сегментоядерні нейтрофіли	46,0 ± 1,2	47,6 ± 0,66
Лімфоцити	45,7 ± 1,5	47,4 ± 0,57
Моноцити	3,7 ± 0,31	3,6 ± 0,88

Примітка: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$

“Целексиб” відноситься до класу нестероїдних протизапальних препаратів з антибактеріальною дією. Він ефективно вплинув на симптоми запалення, при цьому швидко усунув біль та запалення. Препарат чинить протинабрякову та знеболюючу дію.

Отже, місцевий внутрішньоматковий препарат “Йодозол”, ін'єкційний нестероїдний лікарський засіб “Целексиб” мають широкий спектр антимікробної дії, вони є ефективними та безпечними при використанні. У комплексі препарати чинять протинабрякову та знеболюючу дію, а симптоматичне лікування розчи-

ном для внутрішньовенного застосування “Декстродев 50” є обов'язковим компонентом комплексної терапії та спрямоване на поповнення організму поживним матеріалом, а також сприяє знешкодженню та виведенню токсинів з організму.

### Висновки

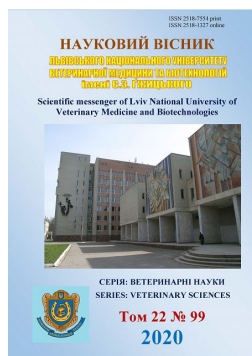
Таким чином, ефективність лікування післяродового вульвіту у кіз у першу чергу залежить від точності клінічної діагностики та встановлення причин їх

виникнення, а також раціонального застосування лікарських засобів “Йодозол”, “Целексиб” та “Декстродев 50”. Комплексна терапія зменшує інтенсивність симптомів патологічного процесу, швидко нормалізує клінічні, гематологічні показники. Результати досліджень включено до реєстраційних досьє на розроблені препарати.

Подальші дослідження будуть полягати у вивченні клінічної ефективності та розробці регламентів застосування даної схеми при вульвітах і цервіцитах інших жуйних тварин.

## References

- Chumachenko, V. Ye., Vysotskiy, A. M., Serdyuk, N. A., & Chumachenko, V. V. (1990). *Opredeleniye yestestvennoy rezistentnosti i obmena veshchestv u sel'skokhozyaysvennykh zhyvotnykh* [Determination of natural resistance and metabolism in farm animals] Kyiv: Urozhay (in Ukrainian).
- Fedorenko, S., Skliarov, P., & Koshevoy, V. (2017). Efficiency of therapy of cows and goat with hypogonadism for use of nanopreparation “Caplaestrol + OV”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(82), 192–195. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/1364>.
- Hryshchenko, N. P., & Marchenko, I. O. (2016). Rozvytok haluzi kozivnytstva Ukrainy v umovakh yevrointehratsii [Development of the goat breeding industry of Ukraine in the conditions of European integration] *Naukovyi visnyk Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy. Seriya: Tekhnolohiia vyrobnytstva i pererobky produktsii tvarynnytstva*, 236, 23–29. URL: <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Tekhnologiya/article/view/7949> (in Ukrainian).
- Levchenko, V. I., Sokoliuk, V. M., Bezukh, V. M. et al. (2002) *Doslidzhennia krovi tvaryn ta klinichna interpretatsiia otrymanykh rezultativ: [Animal blood tests and clinical interpretation of the results]: Metodychni rekomendatsii dlia studentiv fakultetu veterynarnoi medytsyny kerivnykiv ta slukhachiv Instytutu pisliadyplomnogo navchannia kerivnykiv i spetsialistiv veterynarnoi medytsyny. Bila Tserkva* (in Ukrainian).
- Rokytsky, P. F. (1973). *Byolohycheskaya statistika [Biological Statistics]*. Minsk: Vyshejschaja shkola (in Russian).
- Silverstein, F. E., Faich, G., Goldstein, J. L. et al. (2000) *Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal antiinflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis. The CLASS study: a randomized controlled trial. JAMA*, 284(10), 1247–1255. doi: 10.1001/jama.284.10.1247.
- Sklyarov, P. M. (2015). *Retinoldeficient infertility sheep and goats: pharmacological correction and prevention. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 17(1), 164–170. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/239>.
- Sklyarov, P., & Koshevoy, V. (2016). *Complex drugs based on nanobiomaterials, future use in the reproduction of sheep and goats. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 18(2(66)), 162–165. doi: 10.15421/nvlvet6633.
- Sysoyev, A. A. (1978) *Fiziologiya razmnzheniya sel'skokhozyaystvennykh zhyvotnykh [Physiology of reproduction of farm animals]* M.: Kolos (in Russian).
- Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., Ratysh, I. B. et. al. (2012) *Laboratorni metody doslidzen' u biolohiyi, tvarynnytstvi ta veterynarniy medytsyni [Laboratory methods of research in biology, livestock and veterinary medicine]* L'viv: SPOLOM (in Ukrainian).
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., & Whitman, W. (2011). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes (Vol. 3)*. Springer Science & Business Media. URL: <https://www.springer.com/gp/book/9780387950419>.
- Yablonskyi, V. A., Khomyn, S. P., Kalynovskyi, H. M., Kharuta, H. H., Kharenko, M. I., & Zaviriukha, V. I. (2006) *Veterynarne akusherstvo, hinekolohiia ta biotekhnolohiia vidtvorennia tvaryn z osnovamy androlohii [Veterinary obstetrics, gynecology and biotechnology of reproduction of animals with the basics of andrology]*. Vinnytsia: Nova Knyha (in Ukrainian).
- Zhuravel, M. P., & Davydenko, V. M. (2005). *Tekhnolohiia vidtvorennia silskohospodarskykh tvaryn [Technology of reproduction of agricultural animals]* Slovo (in Ukrainian).



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9930  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.986.7:612.1:616-07:618.19-002:636.2

## The content of total protein and protein fractions in cows during pregnancy and their diagnostic value

Ya. S. Stravsky<sup>1</sup>, N. P. Boltyk<sup>2</sup>, R. M. Sachuk<sup>3</sup>, V. I. Serhejev<sup>3</sup>, T. M. Rushchynska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

<sup>2</sup>Ternopil Research Station IBM NAAS, Ternopil, Ukraine

<sup>3</sup>Rivne State University for the Humanities, Rivne, Ukraine

### Article info

Received 21.09.2020

Received in revised form

19.10.2020

Accepted 20.10.2020

I. Horbachevsky Ternopil National  
Medical University, 1, Freedom  
Square, Ternopil, 46001, Ukraine.  
E-mail: stravsky@tdmu.edu.ua

Ternopil Research Station IBM  
NAAS, Trolleybusna Str., 12,  
Ternopil, 46002, Ukraine.

Rivne State University for the  
Humanities, Plastova Str., 29-a,  
Rivne, 33028, Ukraine.  
Tel.: +38-097-671-90-63  
E-mail: sachuk.08@ukr.net

**Stravsky, Ya. S., Boltyk, N. P., Sachuk, R. M., Serhejev, V. I., & Rushchynska, T. M. (2020). The content of total protein and protein fractions in cows during pregnancy and their diagnostic value. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 198–202. doi: 10.32718/nvlvet9930**

The aim of the article was to study the content of total protein and protein fractions in the blood of cows during pregnancy and determine their diagnostic value. The studies were performed as follows. Within 7 days after insemination on the principle of analogues selected a group of 100 cows. Pregnancy was diagnosed by rectal examination of cows 60 days after insemination. In experimental animals, starting from the 25th to the 29th day after insemination, blood samples for morphological and biochemical studies were taken monthly before delivery. The total protein content in the serum was determined by the biuret reaction, protein fractions – nephelometric method. Depending on the course of labor and the postpartum period, cows were divided into two groups. The first group included 30 animals with a physiological course of the postpartum period. The second group was formed of 30 cows with subinvolution of the uterus. According to this goal, the dynamics of total protein, albumin, alpha-, beta- and gammaglobulins in the blood of cows with physiological course of pregnancy and prone to the development of subinvolution of the uterus from the first to 9 months of pregnancy. It was found that in clinically healthy cows the onset of pregnancy is characterized by a high (0.89) albumin-globulin ratio, which in the fourth month of pregnancy decreases to 0.78, in the fifth or sixth months increases to 0.85, followed by a decrease to 0.78 before childbirth. In cows prone to uterine subinvolution, a significant difference in albumin content was found in the first month of pregnancy ( $47.07 \pm 1.21$  vs.  $41.02 \pm 1.26$  %). In the third to fifth months of pregnancy, there was an increase in the proportion of albumin in the protein to  $44.62 \pm 0.88$  % and a new decrease in the seventh to ninth months to  $41.96 \pm 0.3$  %. In the first month of pregnancy, the albumin-globulin ratio was 0.7, with a tendency to increase in the fifth to sixth months of pregnancy to 0.8, and decrease to 0.72 before calving. Analyzing the dynamics of alpha-globulins in clinically healthy cows, we noted two peaks of decrease in their percentage - in the third month of pregnancy (from  $16.02 \pm 0.08$  to  $15.14 \pm 0.06$  %) and in the fifth month,  $96 \pm 0.48$  %) and a consistent increase in the seventh to ninth months of pregnancy (up to  $17.22 \pm 0.13$  %). And in cows prone to the development of uterine subinvolution, with a slightly higher percentage at the beginning of pregnancy ( $16.02 \pm 0.08$  to  $17.08 \pm 0.05$  %), we did not notice significant changes in the percentage of this globulin, except for a significant increase in seventh to ninth month of pregnancy (up to  $18.01 \pm 0.24$  –  $19.01 \pm 0.32$  %). It is proposed to use the albumin-globulin ratio at 6, 7, 8, 9 months of gestation as a prognostic factor in the detection of cows prone to uterine subinvolution.

**Key words:** pregnancy, protein, albumins, globulins, uterine subinvolution.

## Вміст загального протеїну і протеїнових фракцій у корів у період тільності та їх діагностична значимість

Я. С. Стравський<sup>1</sup>, Н. П. Болтик<sup>2</sup>, Р. М. Сачук<sup>3</sup>, В. І. Сергеев<sup>3</sup>, Т. М. Русинська<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Тернопіль, Україна<sup>2</sup>Тернопільська дослідна станція ІВМ НААН, м. Тернопіль, Україна<sup>3</sup>Рівненський державний гуманітарний університет, м. Рівне, Україна

Метою статті стало дослідження вмісту загального протеїну і протеїнових фракцій у крові корів у період тільності та визначення їх діагностичної значимості. Дослідження проводилися наступним чином. Протягом 7 днів після осіменіння за принципом аналогів відібрали групу з 100 корів. Діагностику тільності проводили шляхом ректального дослідження корів через 60 днів після осіменіння. У піддослідних тварин, починаючи з 25–29-го дня після осіменіння, щомісячно до родів відбирали проби крові для морфологічних та біохімічних досліджень. Загальний вміст протеїнів у сироватці крові визначали за біуретовою реакцією, протеїнові фракції – нефелометричним методом. Залежно від перебігу родів і післяродового періоду корів розділяли на дві групи. До першої групи увійшли 30 тварин з фізіологічним перебігом післяродового періоду. Друга група була сформована з 30 корів із субінволюцією матки. Відповідно поставленій меті висвітлено динаміку загального протеїну, альбумінів, альфа-, бета- та гаммаглобулінів у крові корів з фізіологічним перебігом тільності та схильних до розвитку субінволюції матки з першого до 9 місяців тільності. Встановлено, що у клінічно здорових корів початок тільності характеризується високим (0,89) альбуміно-глобуліновим коефіцієнтом, який на четвертому місяці тільності знижується до 0,78, на п'ятому-шостому місяцях підвищується до 0,85, з наступним зниженням до 0,78 перед отелом. У корів, схильних до субінволюції матки, встановлено достовірну різницю вмісту альбумінів уже на першому місяці тільності ( $47,07 \pm 1,21$  проти  $41,02 \pm 1,26$  %). На третьому-п'ятому місяцях тільності спостерігали підвищення частки альбумінів у складі білків до  $44,62 \pm 0,88$  % і нове зниження на шостому-дев'ятому місяцях до  $41,96 \pm 0,3$  %. На першому місяці тільності альбуміно-глобуліновий коефіцієнт становив 0,7, з тенденцією до зростання на п'ятому-шостому місяцях тільності до 0,8, та зниженням до 0,72 перед отелом. Аналізуючи динаміку альфа-глобулінів у клінічно здорових корів, ми відмітили два піки зниження їх відсотка – на третьому місяці тільності ( $16,02 \pm 0,08$  до  $15,14 \pm 0,06$  %) і на п'ятому місяці ( $14,96 \pm 0,48$  %) та послідовне підвищення на шостому-дев'ятому місяцях тільності (до  $17,22 \pm 0,13$  %). А у корів, схильних до розвитку субінволюції матки, при децю вищому їх відсотку на початку тільності ( $16,02 \pm 0,08$  до  $17,08 \pm 0,05$  %) ми не відмітили істотних змін відсотка цього глобуліну, за винятком достовірного підвищення на шостому-дев'ятому місяці тільності (до  $18,01 \pm 0,24$  –  $19,01 \pm 0,32$  %). Запропоновано альбуміно-глобуліновий коефіцієнт використовувати, на 6, 7, 8, 9 місяцях тільності, у якості прогностичного при виявленні корів схильних до розвитку субінволюції матки.

**Ключові слова:** тільність, білок, альбуміни, глобуліни, субінволюція матки.

## Вступ

Сучасна діагностика має у своєму розпорядженні численні методи, які дозволяють швидко і точно визначити стан організму (Lenec, 1989; Borshch et al., 2020; Mazur et al., 2020). Нові технології ведення тваринництва вимагають від лікаря ветеринарної медицини глибоких знань норми і патології окремих систем і організму в цілому, що, у кінцевому результаті, дає можливість зробити правильний висновок про стан здоров'я тварини (Kejik & Maskova, 1989; Malinowski & Kaczmarowski, 2003; Klosova et al., 2019). Нині діагностується багато захворювань, які раніше зустрічались рідко, або, маючи спільний етіологічний зв'язок, стали наслідком інших захворювань (Kondrahin, 1998; Temnyi, 2005; Kondrahin, 2005; Kulyaba et al., 2019; Grymak et al., 2020).

Біохімічний контроль за станом речовин і здоров'я тільних корів рекомендують проводити за 2–3 тижні до розтелу; найбільш інформативними показниками при цьому є концентрація загального білка, гаммаглобулінів, холестеролу, бета-ліпопротеїдів, вітамінів А і С (Temnyi, 2005).

Поряд з цим, робіт присвячених дослідженню показників крові корів з моменту запліднення до розтелу мало.

Мета – дослідити вміст загального білка і білкових фракцій у крові корів у період тільності та визначити їх діагностичну значимість.

## Матеріал і методи досліджень

Протягом 7 днів після осіменіння за принципом аналогів відібрали групу з 100 корів. Діагностику тільності проводили шляхом ректального досліджен-

ня корів через 60 днів після осіменіння. У піддослідних тварин, починаючи з 25–29-го дня після осіменіння, щомісячно до родів відбирали проби крові для морфологічних та біохімічних досліджень.

Загальний вміст протеїнів у сироватці крові визначали за біуретовою реакцією, білкові фракції – нефелометричним методом (Kondrahin et al., 2004).

Залежно від перебігу родів і післяродового періоду корів розділяли на дві групи. До першої групи увійшли 30 тварин з фізіологічним перебігом післяродового періоду. Друга група була сформована з 30 корів із субінволюцією матки.

Результати досліджень обробляли статистично (Lakin, 1990; Kucherenko et al., 2001) з використанням програми Microsoft Excel 2003. Оцінку вірогідності здійснювали за критерієм Стьюдента, а результати середніх значень вважали статистично вірогідними при  $P \leq 0,05$ ;  $P \leq 0,01$  та  $P \leq 0,001$ .

## Результати та їх обговорення

Білки є основною і найбільш важливою структурною частиною живих організмів. Саме розуміння життя і його головні критерії (прояви, форми) – ріст, рух, розмноження, обмін речовин – тісно пов'язані з білковими структурами організму. Характерною рисою протеїнів є висока лабільність, на яку поряд з рівнем годівлі, істотний вплив має вік тварин, її продуктивність, фізіологічний стан, а також пора року.

Проведені нами дослідження свідчать (табл. 1), що у клінічно здорових корів, на другому-третьому місяцях тільності спостерігається незначне зменшення в сироватці крові загального протеїну ( $82,10 \pm 0,90$  до  $80,16 \pm 1,16$  г/л) з подальшою стабілізацією впродовж

четвертого-восьмого місяців і достовірним зниженням (до  $77,37 \pm 1,22$  г/л) на дев'ятому місяці.

У корів, схильних до субінволюції матки, при дещо нижчому вмісті протеїну на початку вагітності ( $82,10 \pm 0,90$  і  $78,10 \pm 1,40$  г/л) спостерігалася подібна динаміка, але з меншим рівнем стабільності. В кінці тільності різниця вмісту протеїну між групами зростала і на 9-му місяці була високо вірогідною ( $77,37 \pm 1,22$  і  $73,43 \pm 1,03$  г/л).

Зменшення кількості загального протеїну відбулося в першу чергу за рахунок зменшення вмісту альбумінів. Так особливо це помітно у клінічно здо-

рових корів на другому місяці ( $47,07 \pm 1,21$  і  $45,31 \pm 0,79$  %), на сьомому і дев'ятому місяцях тільності коли відсоток альбумінів знизився до  $43,95 \pm 0,27$  %.

У корів, схильних до субінволюції матки, перш за все встановлено достовірну різницю вмісту альбумінів уже на першому місяці тільності ( $47,07 \pm 1,21$  проти  $41,02 \pm 1,26$  %). По друге, на третьому-п'ятому місяцях тільності спостерігали підвищення частки альбумінів у складі білків до  $44,62 \pm 0,88$  % і нове зниження на сьомому-дев'ятому місяцях до  $41,96 \pm 0,3$  %.

**Таблиця 1**

Динаміка вмісту загального білка і білкових фракцій у крові корів впродовж вагітності,  $M \pm m$ ,  $n = 30$

Місяці вагітності	Загальний протеїн, г/л	Протеїнові фракції, у %			
		альбуміни	глобуліни		
			альфа-	бета-	гамма-
1	$82,10 \pm 1,90$	$47,07 \pm 1,21$	$16,02 \pm 0,08$	$11,31 \pm 0,59$	$25,61 \pm 1,36$
	$78,10 \pm 1,40^*$	$41,10 \pm 1,26^{**}$	$17,08 \pm 0,05^*$	$12,21 \pm 0,91^*$	$29,71 \pm 1,04^*$
2	$81,10 \pm 1,25$	$45,31 \pm 0,79$	$16,34 \pm 0,09$	$12,11 \pm 0,06$	$26,25 \pm 0,13$
	$77,41 \pm 1,14^*$	$41,44 \pm 0,52^{**}$	$17,01 \pm 0,04^*$	$13,21 \pm 0,06^*$	$28,34 \pm 0,07^{**}$
3	$80,16 \pm 1,16$	$47,81 \pm 1,13$	$15,14 \pm 0,06$	$10,12 \pm 0,12$	$26,93 \pm 0,56$
	$78,31 \pm 1,39$	$43,18 \pm 1,12^{**}$	$17,06 \pm 0,04^{**}$	$12,41 \pm 0,13^{**}$	$27,35 \pm 0,48$
4	$80,11 \pm 1,14$	$45,04 \pm 0,39$	$15,66 \pm 0,05$	$11,91 \pm 0,17$	$27,18 \pm 0,98$
	$77,06 \pm 1,01^*$	$43,92 \pm 0,96$	$17,76 \pm 0,61^{**}$	$12,12 \pm 0,16$	$26,41 \pm 0,60$
5	$81,91 \pm 0,49$	$46,06 \pm 0,79$	$14,96 \pm 0,48$	$13,36 \pm 0,28$	$25,52 \pm 0,21$
	$80,31 \pm 0,69$	$44,62 \pm 0,88$	$17,16 \pm 0,51^{**}$	$14,01 \pm 0,14^*$	$24,31 \pm 0,31^*$
6	$80,82 \pm 1,11$	$46,01 \pm 0,46$	$15,01 \pm 0,21$	$13,56 \pm 0,30$	$25,42 \pm 0,47$
	$78,01 \pm 1,31^*$	$44,32 \pm 0,86^*$	$17,66 \pm 0,34^{**}$	$14,56 \pm 0,26^*$	$24,46 \pm 0,66$
7	$80,61 \pm 1,05$	$45,38 \pm 0,51$	$15,93 \pm 0,22$	$13,86 \pm 0,74$	$25,01 \pm 0,17$
	$77,82 \pm 1,03^*$	$43,87 \pm 0,41^*$	$18,01 \pm 0,24^{***}$	$14,97 \pm 0,85$	$24,02 \pm 0,22^*$
8	$79,20 \pm 1,03$	$44,04 \pm 0,43$	$16,52 \pm 0,15$	$14,20 \pm 0,35$	$24,64 \pm 0,21$
	$76,32 \pm 1,21^*$	$42,68 \pm 0,25^*$	$18,62 \pm 0,25^{**}$	$15,80 \pm 0,27^{**}$	$23,50 \pm 0,27^*$
9	$77,37 \pm 1,22$	$43,95 \pm 0,27$	$17,22 \pm 0,23$	$15,36 \pm 0,40$	$23,47 \pm 0,20$
	$73,43 \pm 1,03^{***}$	$41,96 \pm 0,32^*$	$19,01 \pm 0,32^{**}$	$16,20 \pm 0,32^*$	$22,83 \pm 0,18^*$

Примітка: чисельник – 1 група; знаменник – 2 група; \*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*  $P \leq 0,001$  у порівнянні другої групи корів до першої групи

Аналізуючи динаміку альфа-глобулінів у клінічно здорових корів, ми відмітили два піки зниження їх відсотка – на третьому місяці тільності (з  $16,02 \pm 0,08$  до  $15,14 \pm 0,06$  %) і на п'ятому місяці (до  $14,96 \pm 0,48$  %) та послідовне підвищення на сьомому-дев'ятому місяцях тільності (до  $17,22 \pm 0,13$  %). А у корів, схильних до розвитку субінволюції матки, при дещо вищому їх відсотку на початку тільності ( $16,02 \pm 0,08$  до  $17,08 \pm 0,05$  %) ми не відмітили істотних змін відсотка цього глобуліну, за винятком достовірного підвищення на сьомому-дев'ятому місяці тільності (до  $18,01 \pm 0,24$  –  $19,01 \pm 0,32$  %).

Частка бета-глобулінів у складі білкових фракцій у клінічно здорових корів піддавалася зниженню на другому-третьому місяцях тільності, тоді зростала на четвертому-п'ятому місяцях, далі дещо стабілізувалася і знову підвищувалася на восьмому-дев'ятому місяцях, тоді як у корів, схильних до субінволюції матки спостерігалися також підвищення долі фракції на

другому, п'ятому і в кінці тільності, відповідними зниженнями між ними.

Нарешті відсоток гамма-глобулінів у складі протеїну клінічно здорових корів був значно нижчим ніж у схильних до субінволюції матки ( $25,61 \pm 1,36$  і  $29,71 \pm 1,04$  %). Впродовж тільності в його динаміці виділяли періоди підвищення – на другому-четвертому місяцях, до  $27,18 \pm 0,98$  % з подальшим зниженням аж до кінця вагітності до  $23,47 \pm 0,20$  %. У динаміці фракції гамма-глобулінів корів, схильних до субінволюції матки, при значно вищому “стартовому” рівні відмічено їх зниження до  $24,31 \pm 0,31$  % на п'ятому місяці тільності з наступною стабілізацією і кінцевим зниженням в кінці тільності до  $23,83 \pm 0,18$  %.

Як показано на нижченаведеному рисунку 1 початок тільності у клінічно здорових корів характеризувався високим (0,89) альбуміно-глобуліновим коефіцієнтом, який не був стабільним і вже на четвертому місяці тільності знижувався до 0,78. На п'ятому-



шостому місяцях тільності цей показник підвищувався до 0,85, а у наступних місяцях знижувався до 0,78.

У корів, схильних до субінволюції матки, тільність розпочиналася із достовірно нижчим (0,7) альбуміно-глобуліновим коефіцієнтом, який помісячно зростав і

виявився найвищим на п'ятому-шостому місяцях тільності – 0,8, що відповідало нижній межі норми. У наступних місяцях тільності А/Г коефіцієнт знижувався аж до отелу до 0,72.

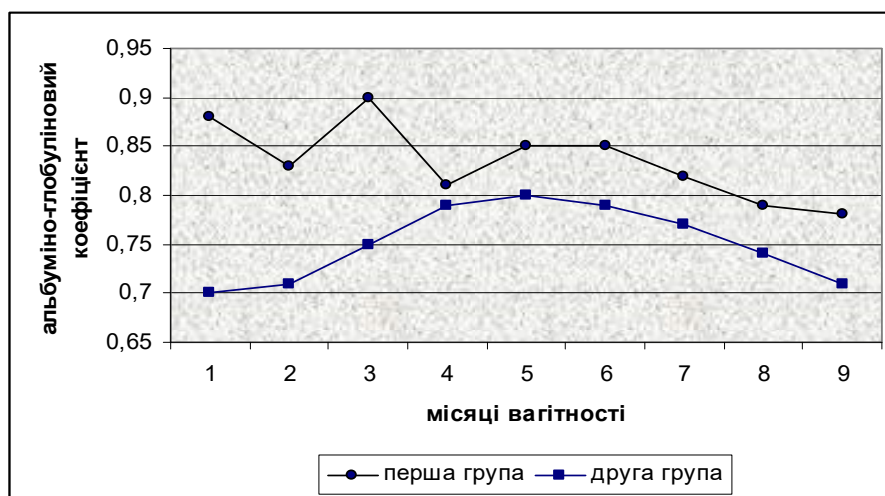


Рис. 1. Динаміка альбуміно-глобулінового коефіцієнта корів у період вагітності, n = 30

### Висновки

1. У клінічно здорових корів початок тільності характеризується високим (0,89) альбуміно-глобуліновим коефіцієнтом, який на четвертому місяці тільності знижується до 0,78, на п'ятому-шостому місяцях підвищується до 0,85, з наступним зниженням до 0,78 перед отелом.

2. У корів, схильних до субінволюції матки, на першому місяці тільності альбуміно-глобуліновий коефіцієнт був 0,7, з тенденцією до зростання на п'ятому-шостому місяцях тільності до 0,8, та зниженням до 0,72 перед отелом.

3. Альбуміно-глобуліновий коефіцієнт можна використовувати, на 6, 7, 8, 9 місяцях тільності, у якості прогностичного при виявленні корів схильних до розвитку субінволюції матки.

### References

Borshch, O. O., Guttyj, B. V., Sobolev, O. I., Borshch, O. V., Ruban, S. Yu., Bilkevich, V. V., Dutka, V. R., Chernenko, O. M., Zhelavskiy, M. M., & Nahirniak, T. (2020). Adaptation strategy of different cow genotypes to the voluntary milking system. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(1), 145–150. doi: 10.15421/2020\_23.

Grymak, Y., Skoromna, O., Stadnytska, O., Sobolev, O., Guttyj, B., Shalovylo, S., Hachak, Y., Grabovska, O., Bushueva, I., Denys, G., Hudyma, V., Pakholkiv, N., Jarochoyich, I., Nahirniak, T., Pavliv, O., Farionik, T., & Bratyuk, V. (2020). Influence of “Thireomagnile” and “Thyrioton” preparations on the antioxidant status of pregnant cows. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(1), 122–126. doi: 10.15421/2020\_19.

Kejik, C., & Maskova, A. (1989). Termovizni mereni povrchovych teplot vemen vprubehu strojnio dojeni. *Zemed techn*, 4, 305–307.

Klosova, X. G., Bushueva, I. V., Parchenko, V. V., Shcherbyna, R. O., Samura, T. O., Gubenko, I. Ya., Guttyj, B. V., & Khariv, I. I. (2019). Trifuzol Suppositories Usage Results On The Course Of Endometrial Inflammatory Processes In Cows. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 1215–1223. URL: [https://www.rjpbcs.com/pdf/2019\\_10\(1\)/\[157\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2019_10(1)/[157].pdf).

Kondrahin, I. P. (1998). Polimorbidnost' vnutrennej patologii. *Visnik Bilocerktivskogo derzhavnogo agrarnogo universitetu*, 5(1), 79–83 (in Russian).

Kondrahin, I. P. (2005). Izuchenie sochetannyh vnutrennih boleznej zhyvotnyh prioritetnoe nauchnoe napravlenie. *Veterinarija*, 1, 44–48 (in Russian).

Kondrahin, I. P., Arhipov, A. V., & Lechenko, V. I. (2004). *Metody veterinarnoj klinicheskoy laboratornoj diagnostiki*. M.: KolosS (in Russian).

Kucherenko, M. Ie., Babeniuk, Yu. D., & Voibitskiy, V. M. (2001). *Suchasni metody biokhimichnykh doslidzhen*. K.: Fitosotsiotsentr (in Ukrainian).

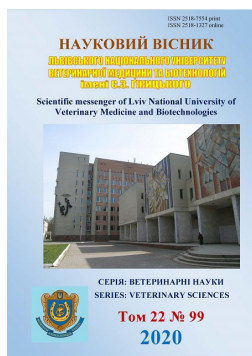
Kulyaba, O., Stybel, V., Guttyj, B., Turko, I., Peleno, R., Turko, Ya., Golovach, P., Vishchur, V., Prijma, O., Mazur, I., Dutka, V., Todoriuk, V., Golub, O., Dmytriv, O., Osередchuk, R. (2019). Effect of experimental fascioliasis on the protein synthesis function of cow liver. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(4), 612–615. URL: <https://www.ujecology.com/abstract/effect-of-experimental-fascioliasis-on-the-protein-synthesis-function-of-cow-liver-44972.html>.

Lakin, G. F. (1990). *Biometrija*. M.: Vyssh. shk. (in Russian).

Lenec, I. A. (1989). *Diagnostika nezaraznyh boleznej zhyvotnyh s primeneniem vychislitel'noj tehniki*. M.: Agropromizdat (in Russian).

Malinowski, E., & Kaczmarowski, M. (2003). Zatrzymanie lozyska u krow. *Med. Veter.*, 59(5), 378–381.

- Mazur, N. P., Fedorovych, V. V., Fedorovych, E. I., Fedorovych, O. V., Bodnar, P. V., Gutyj, B. V., Kuziv, M. I., Kuziv, N. M., Orikhivskiy, T. V., Grabovska, O. S., Denys, H. H., Stakhiv, N. P., Hudyma, V. Yu., & Pakholkiv, N. I. (2020). Effect of morphological and biochemical blood composition on milk yield in Simmental breed cows of different production types. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(2), 61–67. doi: 10.15421/2020\_110.
- Темний, М. (2005). Поліетіологічна причина неплідності корів – реальні соходення. *Ветеринарна медицина України*, 9, 27–28 (in Ukrainian).



**Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.**

**Серія: Ветеринарні науки**

**Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.**

**Series: Veterinary sciences**

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

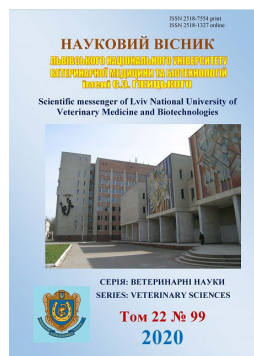
doi: 10.32718/nvlvet99

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

**Зміст**

1.	<b>Левицька В. А.</b> Порівняльна ефективність окремих акарицидів .....	3
2.	<b>Богатко Н. М.</b> Санітарно-гігієнічний стан холодильних камер та об'єктів за зберігання м'яса забійних тварин на потужностях з їх виробництва та обігу .....	8
3.	<b>Кушнір І. М., Кушнір В. І., Гутий Б. В., Семен І. С., Мурська С. Д., Колодій Г. В., Бербєка У. З.</b> Визначення активності фунгіцидних засобів до збудників дерматомікозів домашніх тварин.	20
4.	<b>Калюжна Т. М., Фотіна Г. А.</b> Вивчення токсичної дії препарату “Інкомбівіт” .....	24
5.	<b>Рубленко М. В., Чемеровський В. О., Андрієць В. Г., Ульянович Н. В., Коломієць В. В., Коряк О. С.</b> Клініко-рентгенологічна і гематологічна оцінка застосування кераміки, легованої кремнієм, за осколкових переломів кісток у собак .....	29
6.	<b>Дубова О. А., Фещенко Д. В., Горальська І. Ю., Дубовий А. А., Згозінська О. А., Чала І. В.</b> Плазмозамінні розчини у інтенсивній терапії шоку за гострого спонтанного бабезіозу собак...	38
7.	<b>Хомин Н. М., Мисак А. Р., Цісінська С. В., Прицак В. В., Назарук, Н. В., Леню Ю. М.</b> Окремі аспекти виникнення і розвитку хронічного асептичного пододерматиту у високотільних корів .....	45
8.	<b>Головач П. І., Змія М. М., Покотило С. О.</b> Особливості морфологічного складу крові і показників клінічного статусу у бугайців на завершальному етапі відгодівлі за корекції раціону комплексом вітамінів групи В (В <sub>1</sub> , В <sub>2</sub> , В <sub>5</sub> , В <sub>6</sub> , В <sub>10</sub> , В <sub>12</sub> ) .....	53
9.	<b>Корчан Л. М., Замазій А. А.</b> Ефективність методів лабораторної діагностики отодектозу собак .....	58
10.	<b>Щебентовська О. М., Костинюк А. К.</b> Гістологічні та ультраструктурні зміни печінки індиків за умов інтенсивного вирощування та впливу ксенобіотиків .....	63
11.	<b>Стронський І. Ю., Сімонов М. Р., Стронський Ю. С.</b> Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у м'ясі свиней за промислового та домашнього забою .....	69
12.	<b>Радзиховський М. Л., Сокульський І. М., Дишкант О. В.</b> Патоморфологія деяких органів імуногенезу за експериментального відтворення коронавірусної інфекції у собак .....	75
13.	<b>Локес-Крупка Т. П., Цвіліховський М. І., Зарицький С. М.</b> Клінічні ознаки гіпотиреозу у свійських собак .....	80
14.	<b>Шевченко С. М., Рубленко М. В.</b> Гістологічна характеристика згустків фібрину, збагачених тромбоцитами і одержаних за різних режимів центрифугування крові .....	84
15.	<b>Хомин Н. М., Мисак А. Р., Цісінська С. В., Прицак В. В., Назарук Н. В., Леню Ю. М.</b> Особливості лікування корів, хворих на гнійний пододерматит, ускладнений кератоміцетами ....	94

16. **Галатюк О. С., Романишина Т. О., Лахман А. Р., Бегас В. Л., Андрійчук А. М., Солодка Л. О.**  
Застосування біохімічного типування у ветеринарній медицині при ентеробактеріозах бджіл для визначення *Klebsiella Pneumoniae* ..... 101
17. **Духницький В. Б., Деркач І. М., Деркач С. С., Фрицький І. О., Плутенко М. О., Лозовий В. М., Коструб В. В., Лоза Ю. В.**  
Дослідження протианемічної дії клатрохелату Феруму (IV) на поросятах ..... 107
18. **Березовський А. В., Фотіна Т. І., Рогатова А. Ж., Бондаренко П. Г., Нагорна Л. В., Назаренко С. М.**  
Фармако-токсикологічні властивості препарату “Цифлур” як профілактичного засобу за нодулярного дерматиту ..... 116
19. **Науменко С. В.**  
Клініко-економічний аналіз ефективності способів терапії і превенції андрологічних патологій за використання препаратів на основі озонованих і нанобіоматеріалів ..... 120
20. **Макух Є. М., Гривул Т. М., Красневич А. Я., Вигнан Д. С.**  
Альдозоредуктаза: будова, механізм дії, біологічна роль та функціонування за нормо- і гіперглікемії ..... 125
21. **Лівощенко Л. П., Лівощенко Є. М.**  
Можливість використання антигенів еритроцитів і генів забарвлення оперення птиці для визначення стійкості до непластичних захворювань ..... 143
22. **Зайка С. С., Бездітко Л. В., Гуральська С. В., Кот Т. Ф., Хоменко З. В.**  
Патоморфологічна характеристика вірусної геморагічної хвороби кролів ..... 148
23. **Данкевич Н. І., Салата В. З.**  
Вплив білково-мінеральної кормової добавки з морських гідробіонтів на інтенсивність росту і неспецифічну резистентність курчат-бройлерів за різних умов мікроклімату ..... 155
24. **Зон І. Г., Зон Г. А., Івановська Л. Б.**  
Клінічні ознаки у собак, що позитивно реагують на антиген *Yersinia enterocolitica* 0:9 ..... 161
25. **Солтис М. П., Гунчак В. М., Рудик Г. В., Васів Р. О.**  
Динаміка морфологічних і біохімічних показників у крові білих мишей за дії препарату “Вітосепт” ..... 167
26. **Ревунець А. С., Заремблюк С. Б.**  
Цитологія мазків відбитків за симптоматичної форми неплідності корів ..... 173
27. **Кісіль Д. О., Фотіна Т. І., Березовський А. В., Назаренко С. М., Кліщова Ж. Є.**  
Особливості ураження бджолиного розплоду при змішаній формі інфекційних хвороб з варроатозом в умовах тепличного утримання бджолиних сімей ..... 177
28. **Яценко І. В., Парилівський О. І., Жиліна В. М.**  
Порядок судово-ветеринарного встановлення ступеня тяжкості шкоди, заподіяної здоров'ю тварини ..... 182
29. **Сачук Р. М., Стравський Я. С., Кацараба О. А., Пономарьова С. А., Остапів Н. В., Калиновська Л. В., Костишин Є. Є.**  
Ефективність застосування “Йодозолу” у комплексній терапії при лікуванні післяродового вульвіту у кіз ..... 193
30. **Стравський Я. С., Болтик Н. П., Сачук Р. М., Сергеев В. І., Рущинська Т. М.**  
Вміст загального протеїну і протеїнових фракцій у корів у період тільності та їх діагностична значимість ..... 198



**Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.**

**Серія: Ветеринарні науки**

**Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.**

**Series: Veterinary sciences**

ISSN 2518-7554 print  
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet99  
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

## Content

1. **Levytska V. A.**  
Comparative effectiveness of acaricides ..... 3
2. **Bogatko N. M.**  
Sanitary and hygienic condition of refrigerators and facilities for storage of meat of slaughtered animals at the powers of their production and circulation ..... 8
3. **Kushnir I. M., Kushnir V. I., Gutyj B. V., Semen I. S., Murska S. D., Kolodiy G. V., Berbeka U. Z.**  
Determination of the activity of fungicides against pathogens of dermatomycoses in domestic animals ..... 20
4. **Kaliuzhna T. M., Fotina H. A.**  
Study of the toxic effect of the drug “Incombivit” ..... 24
5. **Rublenko M. V., Chemerovskiy V. A., Andriiets V. G., Ulyanchich N. V., Kolomiets V. V., Koryak A. S.**  
Evaluation of usage of silicon-doped hydroxyapatite ceramics for treatment of fragmented bone fractures in dogs ..... 29
6. **Dubova O. A., Feshchenko D. V., Goralska I. Yu., Duboviy A. A., Zghozinska O. A., Chala I. V.**  
Plasma replacement solutions in the intensive care unit of shock for acute spontaneous canine babesiosis ..... 38
7. **Khomyn N. M., Mysak A. R., Tsisinska S. V., Pritsak V. V., Nazaruk N. V., Lenjo Yu. M.**  
Some aspects of the occurrence and development of chronic aseptic pododermatitis in highly pregnant cows ..... 45
8. **Golovach P. I., Zmiya M. M., Pokotylo S. O.**  
Morphological composition of blood and clinical indicators in ball fattening on the effect of B vitamins (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>12</sub>) ..... 53
9. **Korchan L., Zamazyi A.**  
The effectiveness of methods for laboratory diagnosis of otodectosis in dogs ..... 58
10. **Shchepentovska O. M., Kostyniuk A. K.**  
Histological and ultrastructural changes in turkey liver under intensive rearing and influence of xenobiotics ..... 63
11. **Stronskyi I. Yu., Simonov M. R., Stronskyi Yu. S.**  
Content of lipid peroxidation products in pig meat at industrial and domestic slaughter ..... 69
12. **Radzikhovsky N., Sokulskiy I., Dyshkant O.**  
Pathomorphology of certain organs of immunogenesis by experimental reproduction of coronavirus infection in dogs ..... 75
13. **Lokes-Krupka T. P., Tsvilichovsky M. I., Zarytskyi S. M.**  
Clinical signs of hypothyroidism in domestic dogs ..... 80
14. **Shevchenko S. N., Rublenko M. V.**  
Histological characteristics of Platelet-Rich Fibrin clots obtained under various modes of blood centrifugation ..... 84
15. **Khomyn N. M., Mysak A. R., Tsisinska S. V., Pritsak V. V., Nazaruk N. V., Lenjo Yu. M.**  
Features of cows treatment with purulent pododermatitis complicated by keratomycetes ..... 94

16.	<b>Galatiuk O. Ye., Romanishina T. A., Lakhman A. R., Behas V. L., Andriichuk A. M., Solodka L. O.</b>	
	Application of biochemical typing in veterinary medicine in bee enterobacterioses to determine <i>Klebsiella Pneumoniae</i> .....	101
17.	<b>Dukhnitskyi V. B., Derkach I. M., Derkach S. S., Fritsky I. O., Plutenko M. O., Lozovyi V. M., Kostrub V. V., Losa Y. V.</b>	
	Research antianemic action of the iron (IV) clathrochelate complexes on the sickling piglets .....	107
18.	<b>Berezovsky A. B., Fotina T. I., Ragatova A. J., Bondarenko P. G., Nagorna L. V., Nazarenko S. M.</b>	
	Pharmaco-toxicological properties of the drug “Ciflur” as a preventive agent for nodular dermatitis .....	116
19.	<b>Naumenko S. V.</b>	
	Clinical and cost-effectiveness analysis of the methods of therapy and prevention of andrological pathologies using drugs based on ozone and nanobiomaterials .....	120
20.	<b>Makukh Y. M., Gryvul T. M., Krasnevich A. Ya., Vignan D. S.</b>	
	Aldosereductase: structure, mechanism of action, biological role and functioning according to normo and hyperglycemia .....	125
21.	<b>Livoschenko L. P., Livoschenko Y. M.</b>	
	Possibility to use erythrocyte antigens and feather coloration genes to determine resistance to non-plastic diseases .....	143
22.	<b>Zaika S. S., Bezditko L. V., Guralaska S. V., Kot T. F., Khomenko Z. V.</b>	
	Pathomorphological characteristics of viral hemorrhagic disease of rabbits .....	148
23.	<b>Dankevych N. I., Salata V. Z.</b>	
	Influence of protein-mineral feed additive from marine aquatic organisms on growth intensity and nonspecific resistance of broiler chickens under different microclimate conditions .....	155
24.	<b>Zon I., Zon G., Ivanovskaya L.</b>	
	Clinical signs in dogs attributed to <i>Yersinia enterocolitica</i> antigen 0:9 .....	161
25.	<b>Soltys M. P., Gunchak V. M., Rudyk H. V., Vasiv R. O.</b>	
	Dynamics of morphological and biochemical parameters in the blood of white mice under the action of the drug “Vitosept” .....	167
26.	<b>Revunets A. S., Zarembluk S. B.</b>	
	Cytology of smears of prints with symptomatic forms of infertility in cows .....	173
27.	<b>Kisil D. O., Fotina T. I., Berezovsky A. V., Nazarenko S. M., Klishcheva J. E.</b>	
	Peculiarities of bee breeding influence in mixed form of infectious diseases with varroaosis in the conditions of greenhouse of bees .....	177
28.	<b>Yatsenko I. V., Parilovskyi O. I., Zhylina V. M.</b>	
	The procedure for forensic veterinary determination of the severity of harm caused to the health of the animal .....	182
29.	<b>Sachuk R. M., Stravsky Ya. S., Katsaraba O. A., Ponomareva C. A., Ostapiv N. V., Kalynovska L. V., Kostyshyn Ye. Ie.</b>	
	The effectiveness of “Iodozol” in combination therapy in the treatment of postpartum vulvitis in goats .....	193
30.	<b>Stravsky Ya. S., Boltyk N. P., Sachuk R. M., Serheyev V. I., Rushchynska T. M.</b>	
	The content of total protein and protein fractions in cows during pregnancy and their diagnostic value .....	198

**НАУКОВИЙ ВІСНИК**  
**ЛЬВІВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ВЕТЕРИНАРНОЇ**  
**МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ**  
**імені С.З. ГЖИЦЬКОГО**  
заснований у 1998 році

**Scientific Messenger**  
**of Lviv National University**  
**of Veterinary Medicine and Biotechnologies**

**СЕРІЯ: ВЕТЕРИНАРНІ НАУКИ**

**SERIES: VETERINARY SCIENCES**

**Том 22 № 99**

Підписано до друку 28.10.2020. Формат 60x84/8  
Гарн. Times New Roman. Папір офсетний № 1. Ум. друк. арк. 24,06  
Наклад 300 прим. Зам. № 28/10.

Друк ФОП Корпан Б.І.  
Львівська обл., Пустомитівський р-н., с Давидів, вул. Чорновола 18  
Ел. пошта: bkorpan@ukr.net, тел. 093-480-6141  
Код ДРФО 1948318017, Свідоцтво про державну реєстрацію  
В02 № 635667 від 13.09.2007