

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

НАУКОВИЙ ВІСНИК

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

СЕРІЯ: ВЕТЕРИНАРНІ НАУКИ

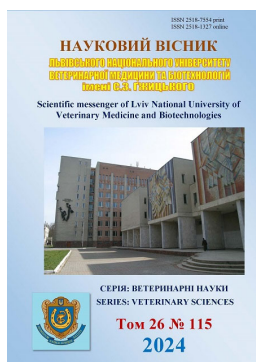


SCIENTIFIC MESSENGER
OF LVIV NATIONAL UNIVERSITY OF VETERINARY
MEDICINE AND BIOTECHNOLOGIES

SERIES: VETERINARY SCIENCES

Том 26 № 115
2024

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
Засновник: Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького	Founder: Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv
<i>Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації серія КВ № 14133–3104 ПР від 11.06.2008 року.</i>	<i>Certificate of registration of print media Series KV number 14133–3104 PR from 11.06.2008 year</i>
Рік заснування: 1998	Year of foundation: 1998
Мова видання: українська, англійська	Language edition: Ukrainian, English
Рекомендовано до друку та поширення через мережу Інтернет Вченою радою Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (протокол № 8 від 25 вересня 2024 року)	Recommended for printing and distribution via the Internet by the Academic Council of Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv (Minutes No. 8 of September 25, 2024)
Рішення Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення № 2058 протокол № 18 від 13.06.2024 р. Ідентифікатор медіа – R30-05008	Decision of the National Council of Television and Radio Broadcasting of Ukraine No. 2058 Minutes No. 18, dated 13.06.2024 Media identifier – R30-05008
Журнал входить до переліку наукових фахових видань України Категорія “Б”. Галузь науки – Ветеринарні, спеціальність – 211 “Ветеринарна медицина”, 212 “Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза” (Наказ Міністерства освіти і науки України від 15 жовтня 2019 р. № 1301)	The journal is included in the list of professional publications of Ukraine Category “B”. Veterinary, specialty – 211 “Veterinary Medicine”, 212 – “Veterinary Hygiene, Sanitation and Examination” (Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine of October 15, 2019, No. 1301)
Журнал представлено у міжнародних наукометричних базах даних, репозитаріях та пошукових системах: Index Copernicus International, Bielefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of open access scholarly resources (ROAD), Directory of Open Access Journals (DOAJ), Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського, Scientific & Scholarly Research Database (Scilit), Dimensions, Open Ukrainian Citation Index (OUCI), Google Scholar, Crossref, Електронний репозитарій Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького	The journal is presented international scientometric databases, repositories and scientific systems: Index Copernicus International, Bielefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of open access scholarly resources (ROAD), Directory of Open Access Journals (DOAJ), Vernadsky National Library of Ukraine, Scientific & Scholarly Research Database (Scilit), Dimensions, Open Ukrainian Citation Index (OUCI), Google Scholar, Crossref, Electronic repository of Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv
РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ Голова редакційної колегії: Б. В. ГУТИЙ, 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 Т. В. МАРТИШУК, к.с.-г.н. (Україна) Члени редакційної колегії Р. АЛКСІЄВИЧ, док. габ. (Республіка Польща) Р. ВЕЛЕНМАН, к.вет.н. (Швейцарія) С. ВІНЯРЧИК, док. габ. (Республіка Польща) В. В. ВЛІЗЛО, д.вет.н. (Україна) Л. П. ГОРАЛЬСЬКИЙ, д.вет.н. (Україна) В. М. ГУНЧАК, д.вет.н. (Україна) І. В. ДВІЛЮК, к.вет.н. (Україна) М. М. ЖЕЛАВСЬКИЙ, д.вет.н. (Україна) М. І. ЖИЛА, д.вет.н. (Україна) Я. В. КІСЕРА, д.вет.н. (Україна) І. І. КОВАЛЬЧУК, д.вет.н. (Україна) Г. І. КОЦОМБАС, д.вет.н. (Україна) Б. М. КУРТЯК, д.б.н. (Україна) К. КУБЯК, док. габ. (Республіка Польща) М. КОЗІРОВСЬКИЙ, док. габ. (Республіка Польща) В. В. МЕЛЬНИЧУК, д.вет.н. (Україна) А. Р. МИСАК, д.вет.н. (Україна) Р. А. ПЕЛЕНЬО, д.вет.н. (Україна) Р. ПІЛИП, к.вет.н. (Канада) Р. ПОГРАНИЧНИЙ, д.вет.н. (США) О. Б. ПРИЙМА, к.вет.н. (Україна) 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. В. СТИБЕЛЬ, д.вет.н. (Україна) М. Р. СІМОНОВ, д.вет.н. (Україна) І. М. СОКУЛЬСЬКИЙ, к.вет.н. (Україна) І. Д. ЮСЬКІВ, д.вет.н. (Україна)	EDITORIAL BOARD Editor-in-Chief: B. GUTYJ, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) Deputy Editors: O. FEDETS, Cand. Agr. Sci. (Ukraine) J. STRONSKYJ, Cand. Vet. Sci. (Ukraine) Executive Secretary: T. MARTYSHUK, Cand. Agr. Sci. (Ukraine) Editorial board R. ALEKSIEWICZ, Dr. Vet. Sci. (Poland) R. WEILENMANN, Cand. Vet. Sci. (Switzerland) S. WINIARCZYK, Dr. Vet. Sci. (Poland) V. VLIZLO, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) L. HORALSKYI, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) V. HUNCHAK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) I. V. DVYLIUK, Cand. Vet. Sci. (Ukraine) M. ZHELAVSKYI, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) M. ZHYLA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) Y. KISERA, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) I. KOVALCHUK, Dr. Vet. 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) V. MELNYCHUK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) A. MYSAK, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) R. PELENO, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) R. PILIP, Cand. Vet. Sci. (Canada) R. POGRANICHNIY, Dr. Vet. Sci. (USA) O. PRYIMA, Cand. Vet. Sci. (Ukraine) 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. STYBEL, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) M. SIMONOV, Dr. Vet. Sci. (Ukraine) I. SOKULSKYI, Cand. Vet. Sci. (Ukraine) I. YUSKIV, Dr. Vet. Sci. (Ukraine)
Адреса редакції: 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@lvet.edu.ua, bvnh@ukr.net https://lvet.edu.ua	Editors office 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@lvet.edu.ua, bvnh@ukr.net https://lvet.edu.ua



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/nvlvet11501
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.598.15:619:616:615

Study of toxicological parameters in laboratory animals under the influence of hypochloritic acid in a chronic experiment

O. M. Brezvyn¹✉, I. Ya. Kotsiumbas¹, A. F. Obrazhei¹, O. B. Velichenko², O. B. Shmychkova²,
T. V. Luk'yanenko², D. V. Hyrenko², L. V. Dmitrikova³

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

²Ukrainian State University of Chemical Technology, Dnipro, Ukraine

³Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 06.05.2024

Received in revised form

06.06.2024

Accepted 07.06.2024

State Scientific-Research Control
Institute of Veterinary Medicinal
Products and Feed Additives,
Donetska Str., 11, Lviv,
79019, Ukraine.
Tel.: +38-095-451-17-06
E-mail: brezvyn@gmail.com

Ukrainian State University of
Chemical Technology, Gagarin
Avenue, 8, Dnipro, 49005, Ukraine.

Dnipro State Medical University,
Volodymyr Vernadskyi Str., 9,
Dnipro, 49044, Ukraine.

Brezvyn, O. M., Kotsiumbas, I. Ya., Obrazhei, A. F., Velichenko, O. B., Shmychkova, O. B., Luk'yanenko, T. V., Girenko, D. V., & Dmitrikova, L. V. (2024). Study of toxicological parameters in laboratory animals under the influence of hypochloritic acid in a chronic experiment. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 3–10. doi: 10.32718/nvlvet11501

The article presents materials on studying toxicological parameters in laboratory animals under hypochlorite acid obtained by electrolysis. It was established that the intra-gastric administration of a solution of hypochlorous acid in a concentration of 50 and 150 mg/l does not lead to systemic disturbances in the functional state of the most important organs and systems of the body and does not cause a decrease in the level of physical capabilities in experimental animals. At the same time, using a concentration of 300 mg/l caused a slight reduction in the physical capabilities of the experimental animals; namely, the swimming time decreased by 18.2 % compared to animals of the control group. With repeated administration of hypochlorous acid at a concentration of 300 mg/l, the absence of spontaneous "atypical" behavioral reactions was established, which could serve as important markers of stress or indicate severe behavioral and neurological disorders on the part of the central nervous system. Functional indicators of vertical and especially horizontal activity indicated regular physiological activity and emotional reaction, determined by the number of intersected squares in the center of the field and the time the animals were in the central squares. The experimental rats did not differ from the animals of the control group in terms of general psychophysiological parameters, the level of motor activity, tentative-exploratory reaction, the degree of their aggressive reaction to a change in the environment, and the absence of gait disturbances indicated the absence of changes in skeletal muscle tone. According to the "Straub Test", the tone of experimental rats' tail muscles" stated a sufficient degree of excitation of the spinal motoneurons responsible for its regulation. The frequency of grooming and the number of fecal boluses in the experimental rats were within the physiological norm in frequency, quantity, and consistency and did not differ from the animals of the control group, indicating the absence of passive fear. The studied solution of hypochlorous acid at a concentration of 1000 mg/l did not cause signs of skin irritation, did not lead to the development of irritant reactions and non-allergic contact dermatitis in laboratory rats, and did not show an irritating, dermonecrotic, and resorptive effect on the skin of rabbits. Installation of a solution of hypochlorous acid at a concentration of 50 mg/l, in a volume of 0.05 cm³, into the conjunctival sac of a rabbit's eye did not cause an irritating effect on the mucous membrane.

Key words: hypochlorous acid solution (HClO), toxicological parameters, rats, rabbits, behavioral reactions, irritant, dermonecrotic and resorptive effects.

Вивчення токсикологічних параметрів у лабораторних тварин за впливу гіпохлоритної кислоти в хронічному досліді

М. О Брезвин¹✉, І. Я. Коцюмбас¹, А. Ф. Ображей¹, О. Б. Веліченко², О. Б. Шмичкова²,
Т. В. Лук'яненко², Д. В. Гиренко², Л. В. Дмитрікова³

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

²Державний вищий навчальний заклад “Український державний хіміко-технологічний університет”, м. Дніпро, Україна

³Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна

В статті подані матеріали щодо вивчення токсикологічних параметрів у лабораторних тварин за впливу гіпохлоритної кислоти, отриманої методом електролізу. Встановлено, що внутрішньошлункове введення розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 та 150 мг/л не призводить до системних порушень функціонального стану найважливіших органів і систем організму та не викликає зниження рівня фізичних можливостей у дослідних тварин. Водночас застосування концентрації 300 мг/л викликало незначне зниження рівня фізичних можливостей дослідних тварин, а саме час плавання знижувався на 18,2 % порівняно з тваринами контрольної груп. При багаторазовому введенні гіпохлоритної кислоти в концентрації 300 мг/л встановили відсутність спонтанних “атипових” поведінкових реакцій, які могли б служити важливими маркерами стресу або свідчити про серйозні поведінкові та неврологічні порушення з боку ЦНС. Функціональні показники вертикальної та особливо горизонтальної активності вказували на нормальну фізіологічну активність та емоційну реакцію, яка визначалась за числом пересічених квадратів у центрі поля і часом знаходження тварин в центральних квадратах. Дослідні щури за загальними психофізіологічними параметрами, рівнем рухомої активності, орієнтовно-дослідницькою реакцією, ступенем їхньої агресивної реакції на зміну довкілля не відрізнялись від тварин контрольної групи, а відсутність порушень ходи вказувала на відсутність змін тонусу скелетних м'язів. Тонус м'язів хвоста дослідних щурів за “Тестом Штрауба” вказував на достатній ступінь збудження спінальних мотонейронів, відповідальних за його регуляцію. Частота грумінгу, кількість фекальних болюсів у дослідних щурів були в межах фізіологічної норми за частотою, кількістю і консистенцією не відрізнялись від тварин контрольної групи, що вказувало на відсутність пасивного страху. Досліджувані розчин гіпохлоритної кислоти в концентрації 1000 мг/л не викликав ознак подразнення шкіри, не призводив до розвитку іритативних реакцій і контактного неалергічного дерматиту у лабораторних щурів та не справляв подразнюючої, дермoneкротичної та резорбтивної дії на шкірі кроля. Інсталяція розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 мг/л, в об'ємі 0,05 см³ в кон'юнктивальний мішок ока кроля не викликала подразнюючої дії на слизову оболонку.

Ключові слова: розчин гіпохлоритної кислоти (HClO), токсикологічні параметри, щури, кролі поведінкові реакції, подразнююча, дермoneкротична та резорбтивна дії.

Вступ

Вплив ветеринарних препаратів на організм тварин може бути різним, тому при вивченні фармакологічної активності нового лікарського засобу визначають не тільки його специфічну дію, а й можливі побічні ефекти, які пов'язані з його механізмом дії (Sachuk et al., 2019; 2023; Koshevoy et al., 2023). Пролонговане введення лікарських засобів навіть в низьких дозах часто здатне привести до розвитку інтоксикації внаслідок порушення метаболічних змін гомеостазу, кумуляції в організмі тощо (Varkholiak & Guttyj, 2020; Martyshuk et al., 2022). Саме вивчення токсикологічних параметрів визначає характерну силу та форму можливої шкідливої дії лікарського засобу на організм тварин (Kotsiumbas et al., 2006; 2013; Vasylyev et al., 2021; Lavryshyn et al., 2023). Поведінкові тести дозволяють виявляти функціональні зміни у роботі ЦНС, викликані порівняно слабкою дією різноманітних стресових факторів зовнішнього середовища, біологічно активних і токсичних речовин, які часто неможливо виявити морфологічними чи біохімічними дослідженнями (Guttyj et al., 2019; Karpenko et al., 2022; Guttyj et al., 2023). За допомогою підбору відповідних тестів можна дослідити такі параметри, як емоційний стан тварини, швидкість та адекватність реакції на зовнішні чинники, стійкість до фізичних навантажень, стан внутрішньої, дезінтоксикаційної системи. При цьому ці експерименти дозволяють виявити найбільш чутливі органи та системи мішені для шкідливого, токсичного вливу, а також вивчити можливості відновлення їх функцій на фоні застосування досліджуваного препарату (Kotsiumbas et al., 2006; 2013; Soltys et al., 2020).

Незважаючи на те, що отримані нами результати з вивчення гострої токсичності вказували, що гіпохло-

ритна кислота, отримана методом електролізу, це малонебезпечна речовина, яка належить до четвертого класу токсичності, а доза (DL₅₀) її не визначається (Kotsiumbas & Velichenko, 2009; Brezvyin et al., 2023), наступна серія наших досліджень була спрямована на виявлення можливої небезпеки для здоров'я тварин за умов довготривалого, багаторазового введення її у різних концентраціях.

Мета дослідження

Вивчити токсикологічні параметри у лабораторних тварин за впливу гіпохлоритної кислоти в хронічному досліді

Матеріал і методи досліджень

Дослідження токсикологічних параметрів розчину гіпохлоритної кислоти, отриманої методом електролізу, проведено в умовах віварію ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок (м. Львів) на лабораторних тваринах (щури, кролі).

Експерименти на тваринах проводили відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментах та для інших наукових цілей (ETS № 123. Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Дослідження були проведені згідно з методами і методиками, які описані в монографії “Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів”. Токсикологічну оцінку проводили згідно з методичними рекомендаціями “Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин” (Zapadniuk et al., 1983; Kovalenko et al., 2001; Kotsiumbas et al., 2006; 2013).

Досліджуваний розчин гіпохлоритної кислоти отриманий в спеціально розробленому бездіафрагмовому проточному електролізері в процесі прямої електрохімічної реакції (Brezvyn et al., 2023; 2024), як вихідний електроліт використовували ізотонічний розчин натрію хлориду (0,9 % NaCl), приготований на воді, очищений за спеціальною технологією. Отриманий розчин є оптимальним носієм активного кисню, не містить домішок органічних речовин та іонів переходних металів (Velychenko et al., 2007; Kotsiumbas & Velichenko, 2009; Brezvyn et al., 2023).

Дослідження проводили на білих безпородних щурах, віком 4–5 місяців, масою тіла 190–210 г, які утримувалися на стандартному раціоні для лабораторних щурів, що забезпечував фізіологічні потреби їхнього організму у вітамінах, мікроелементах, мінеральних речовинах та енергії, з вільним доступом до води. Всі дослідні тварини перебували в однакових умовах утримання та годівлі. Дослід тривав 45 діб. За принципом аналогів було сформовано чотири групи по 20 тварин у кожній. Щурам щоденно, внутрішньошлунково, за допомогою зонду з тупим кінцем, вводили 5 мл розчину гіпохлоритної кислоти, отриманого методом електролізу. Тварини I групи (контрольної) отримували по 5 мл фізіологічного розчину. Дослідні групи щурів отримували по 5 мл досліджуваного засобу з різною концентрацією: II група – 50 мг/л; III група – 150 мг/л; IV група – 300 мг/л.

Протягом дослідження проводили постійне клінічне спостереження, реєструючи терміни можливого розвитку токсикозу та загибель тварин. Вивчення токсикологічних параметрів проводили на 10-у, 20-у, 30-у та 45-у доби дослідження.

Антиоксидантну функцію печінки визначали методом тіопенталової проби (Гацуро В. В., 1974). Для цього щурам внутрішньошлунково вводили 1 % розчин тіопенталу натрію у дозі 45 мг/кг маси тіла. Визначали середню тривалість сну щурів кожної групи.

Порушення функцій організму під час фізичних навантажень визначали пробою з плаванням за М. Л. Риловою (1964). Для проведення дослідження використовували стаціонарну ванну віварію. Стовп води у ванні становив 30 см за температури 12 °С. Дослідним тваринам прикріплювали вантаж вагою 10 % від маси тіла та хронометрично визначали час, упродовж якого тварини трималися на воді.

Для вивчення впливу гіпохлоритної кислоти на емоційно-поведінкову реактивність тварин був використаний тест “відкрите поле”. Це квадратний майданчик розмірами 80 × 80 см, обмежений бортами висотою 60 см. Майданчик розділений розміткою на 25 рівних квадратів, на перетині яких 16 отворів $d = 3$ см, а також виділена центральна зона поля, освітленість майданчика – 90 Лк. При тестуванні тварину поміщали в центр поля. Реєстрували такі параметри: горизонтальна рухова активність (пересічені сегменти), вертикальна рухова активність (кількість стійок), обстежені нірки, число переходів через центр, латентний період виходу з центру, число актів короткочасного грумінгу і фекальних болюсів. Час спостереження за твариною складав 10 хвилин. За 90 хвилин до тестування тварин поміщали в тиху, слабо освітлену кімнату.

Для дослідження подразнюючої дії розчину гіпохлоритної кислоти при нанесенні на шкіру використовували метод занурення хвоста щура у пробірку з досліджуваною речовиною. З метою усунення з поверхні шкіри струпів і бруду – за добу до дослідження хвост тварин ретельно мили теплою водою з милом. У день дослідження щурів фіксували в спеціальному пристрої. Хвіст занурювали на 2/3 у звичайну пробірку з розчином гіпохлоритної кислоти в концентрації 1000 мг/л. Пробірку закривали корковим кільцем, діаметр якого був дещо більшим за діаметр хвоста. Протягом п'ятнадцяти діб щоденно пробірки поміщали у водяну баню з температурою 28–30 °С та витримували 2 години. Контрольним тваринам хвост занурювали у дистильовану воду.

Для вивчення шкідливої дії розчину гіпохлоритної кислоти на слизову оболонку ока в кроля використали трьох тварин. Досліджуваний розчин у концентрації 50 мг/л, в об'ємі 0,05 см³ вносили в кон'юнктивальний мішок лівого ока, при цьому, протягом 1 хвилини притискали слізньо-носовий канал. Праве око слугувало контролем, в яке вводили 0,05 см³ фізіологічного розчину. Після проведення маніпуляції через 1, 24, 48, 72 годин та на 14-у добу проводили ретельний огляд дослідних тварин, враховували їх клінічний стан (температуру тіла, частоту пульсу та дихальних рухів), а також звертали увагу на появу запальних процесів очей, набряку, зміни діаметру зіниці, стан рогівки і повік, наявність лакримачії та виділень. Оцінку шкідливої дії досліджуваної речовини на слизову оболонку очей проводили за наявністю вираженої гіперемії, набряку та виділень згідно з бальною системою, наведеною в табл. 1.

Таблиця 1

Шкала оцінки шкідливої дії на слизовій оболонці очей в кролів

Клінічні прояви	Бали
<i>А. Гіперемія кон'юнктиви та рогівки</i>	
1. Судини ін'єктовані	1
2. Окремі судини погано проглядаються	2
3. Дифузне глибоке почервоніння	3
<i>Б. набряк повік</i>	
1. Незначний набряк	1
2. Виражений набряк з частковим виверненням повіки	2
3. Значний набряк – око закрито наполовину	3
4. Око закрито більше як наполовину	4
<i>В. Виділення</i>	
1. Мінімальна кількість в кутику ока	1
2. Кількість виділень зволожує повіку	2
3. Кількість виділень зволожує повіку та шкіру навколо	3

Для оцінки шкірно-резорбтивної дії розчину гіпохлоритної кислоти використовували 5 кролів. За добу до дослідження на тулубі тварин із обох боків ножицями ретельно видаляли шерсть на площі 7×10 см. Наступного дня на підготовлені ділянки шкіри справа наносили розчин гіпохлоритної кислоти в концентрації 1000 мг/л, площа нанесення становила 6×9 см (54 см²). На вистрижену ділянку шкіри кроля зліва

(контроль) наносили дистильовану воду. Для запобігання потраплянням речовини до органів травлення на шию кролів одягали спеціальні захисні комірці. Експозицію досліджуваного засобу повторювали через 24 години. Після нанесення на шкіру визначали характер дії: температуру шкіри, її рН, час появи гіперемії в місці аплікації, набряк, пошкодження або потовщення шкірної складки, розчісування. Наявність болючості визначали за реакцією тварини на пальпацію в ділянці аплікації. Висновок про шкірно-резорбтивну дію досліджуваного засобу за дворазового нанесення встановлювали, виходячи з урахування часу появи і ступеня, зміни специфічних, клінічних ознак запалення шкіри в ділянці нанесення.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів математичної статистики з використанням прикладних комп'ютерних програм методами варіаційної статистики за допомогою програм ліцензійного пакету "Statistica® for Windows" і "Microsoft Office Excel 2013", за критерієм t Ст'юдента відмінності вважали достовірними при $P < 0,05$ (Lapach et al., 2001).

Таблиця 2

Динаміка тривалості тіопенталового сну щурів за умов вивчення хронічної токсичності розчину гіпохлоритної кислоти (ГХК), ($M \pm m$)

Групи тварин / концентрація ГХК	Періоди досліді, доби / Час сну, хв		
	20-а (n = 5)	30-а (n = 5)	45-а (n = 5)
I (контроль)	78,6 $\pm$ 1,66	79,5 $\pm$ 1,75	78,8 $\pm$ 1,44
II – 50 мг/л	79,4 $\pm$ 1,38	80,2 $\pm$ 2,15	80,4 $\pm$ 1,53
III – 150 мг/л	78,6 $\pm$ 3,7	82,1 $\pm$ 2,25	80,7 $\pm$ 2,17
IV – 300 мг/л	80,6 $\pm$ 1,15	81,6 $\pm$ 1,15	84,5 $\pm$ 2,19

З аналізу таблиці 2 видно, що довготривале введення розчину гіпохлоритної кислоти у різних концентраціях суттєво не впливало на стан антитоксичної функції печінки. Час тіопенталового сну дослідних щурів не відрізнявся від сну тварин контрольної групи, тобто був в межах фізіологічної норми. Достовірних, стійких змін у знешкодженні тіопенталу серед щурів різних груп не було виявлено. Водночас на 45-у добу досліді у щурів III та IV груп тіопенталовий сон тривав на 2,4 % довше порівняно з тваринами контрольної групи, але цей показник був недостовірним.

Отже, тривалість тіопенталового сну вказує, що довготривале введення розчину гіпохлоритної кислоти суттєво не впливає на дезінтоксикаційну функцію печінки.

Оскільки живий організм – це одна з найскладніших біологічних систем, що існує на основі взаємодії різних рівнів структурної організації: клітин, тканин, органів та систем, кожен з яких має свою структуру і виконує певну функцію. Цілісність організму визначається оптимальністю керуючих впливів, їх здатністю забезпечити врівноваженість з середовищем і його адаптацію до умов існування (Zapadniuk et al., 1983; Kovalenko et al., 2001). Адаптаційно-приспосувальна діяльність вимагає витрат енергії та інформації, яка визначається ступенем перенапруги регуляторних

Результати та їх обговорення

При тривалому надходженні різних хімічних сполук до організму щурів змінюються біохімічні процеси в тканинах, а це відповідно призводить до порушення функціонування окремих органів і систем. Ступінь напруги регуляторних систем, в тому числі тонус симпатичного відділу вегетативної нервової системи, впливає на рівень функціонування кровообігу, мобілізації тієї чи іншої частини функціонального резерву. Зокрема, печінка виконує безліч важливих функцій, знешкоджує токсичні сполуки, що надходять в організм із зовнішнього середовища, виводить з крові шкідливі токсичні речовини, які утворюються в процесі життєдіяльності, а також синтезує безліч необхідних організму специфічних білків, жирів та вуглеводів. Виходячи з вищенаведеного, антитоксичну функцію печінки визначали тіопенталовою пробою. Швидкість просинання і тривалість тіопенталового сну лабораторних тварин залежали від функціонального стану печінки. Динаміка тривалості тіопенталового сну щурів в процесі досліді наведені в табл. 2.

механізмів і величиною витрачених функціональних резервів. Стійкість під час фізичних навантажень є показником функціонального стану, а саме системні порушення найважливіших фізіологічних функцій організму можуть викликати порушення гомеостазу та зниження рівня фізичних можливостей. Динаміку тривалості фізичних навантажень (плавання) у щурів за умов вивчення хронічної токсичності розчину гіпохлоритної кислоти наведено в табл. 3.

Результати проведеної проби з плаванням (табл. 3) показали, що введення розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 та 150 мг/л суттєво не впливає на час плавання тварин, показники якого були наближені до показників тварин контрольної групи. Водночас у тварин IV групи на 45-у добу досліді час плавання знизився на 18,2 % порівняно з тваринами контрольної групи.

Довготривале введення розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 та 150 мг/л не призводить до системних порушень функціонального стану найважливіших органів і систем організму. Водночас введення 300 мг/л викликає незначне зниження рівня фізичних можливостей дослідних тварин, а саме час плавання знизився на 18,2 % порівняно з тваринами контрольної групи.

Таблиця 3

Динаміка тривалості плавання щурів за умов вивчення хронічної токсичності розчину гіпохлоритної кислоти (ГХК), хв ($M \pm m$)

Групи тварин / концентрація ГХК	Періоди дослідів, доби / Час плавання, хв		
	20-а (n = 5)	30-а (n = 5)	45-а (n = 5)
I (контроль)	10,8 $\pm$ 1,62	11,4 $\pm$ 1,62	11,5 $\pm$ 1,62
II – 50 мг/л	9,8 $\pm$ 1,12	10,7 $\pm$ 1,26	10,8 $\pm$ 1,32
III – 150 мг/л	10,4 $\pm$ 2,19	10,1 $\pm$ 1,91	10,3 $\pm$ 2,19
IV – 300 мг/л	10,6 $\pm$ 1,15	10,6 $\pm$ 1,15	9,4 $\pm$ 2,61

Оскільки за клінічними показниками, поведінкою, ставленням до корму, води, станом зовнішніх слизових оболонок, а також за функцією шлунково-кишкового тракту, сечовидільної системи дослідні щури II та III груп не відрізнялися від контрольної групи, ми сконцентрували увагу на тваринах IV групи, які отримували розчин гіпохлоритної кислоти в концентрації 300 мг/л.

Відомо, що всі ендокринні й вегетативні реакції організму є вторинними і зумовлені змінами функціонального стану центральної нервової системи. Загальна дія на організм лабораторних тварин досліджуваного засобу оцінювалась за даними поведінкових реакцій щурів, а саме збудливість, реактивність, настороженість, похливість; нервово-м'язової збудливості

(присутність тремору, судом, рефлексів положення, порушення ходи, тест Штрауба, інтенсивність больової реакції, положення тіла та кінцівок, оцінка тону скелетних м'язів); вегетативних ефектів (частота дихання, серцевих скорочень, термометрія). Переляканість щурів оцінювали при проведенні обережних стандартних маніпуляцій (торкання корнцангом). Нервова, м'язова збудливість оцінювалась за наявністю тремору, судом, не порушені "рефлекси положення".

Результати клінічного спостереження за умов вивчення впливу розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 300 мг/л за перорального, багаторазового введення на загальні функціональні показники щурів наведені в табл. 4.

Таблиця 4

Вплив розчину гіпохлоритної кислоти за умов перорального введення в концентрації 300 мг/л на загальні функціональні показники щурів

Показники	Час спостереження, доба		
	20-а	30-а	45-а
<i>Реакції в поведінці:</i>			
Рухова активність	5	5	5
Збудженість	3	4	4
Реактивність	5	5	5
Агресивність	0	0	0
Частота грумінгу	6,47 $\pm$ 3,19	8,23 $\pm$ 6,27	7,58 $\pm$ 4,29
Кількість заглядань у нірку	13,2 $\pm$ 3,12	15,1 $\pm$ 5,07	15,6 $\pm$ 10,1
Кількість вертикальних стійок	18,2 $\pm$ 1,1	10,1 $\pm$ 5,13	14,4 $\pm$ 3,31
Кількість перетинань квадратів	32,1 $\pm$ 1,73	28,4 $\pm$ 6,37	31,7 $\pm$ 4,23
<i>Нервово-м'язова реакції:</i>			
Судом при ході	0	0	0
Тремор	0	0	0
Сила хватки	5	5	5
Реакція на больові подразнення	5	5	5
<i>Вегетативні реакції:</i>			
Частота дихання, за одну хв	110 $\pm$ 8,32	112 $\pm$ 12,3	115 $\pm$ 5,83
Величина артеріального тиску	90–130 мм рт. ст.	90–130 мм рт. ст.	90–130 мм рт. ст.
Частота скорочення серця, уд./хв	326 $\pm$ 48,3	332 $\pm$ 23,2	328 $\pm$ 31,9
Стан волоссяного покриву	природний	природний	природний
Колір видимих слизових	блідорозжевий	блідорозжевий	блідорозжевий
Частота випорожнення	збільшена	збільшена	зменшена
Кількість фекальних мас	незначна	незначна	незначна
Консистенція фекальних мас	сформовані	сформовані	сформовані
Частота сечовиділення	збільшена	збільшена	збільшена
Колір сечі	природний	природний	природний

Примітки: 0 – ефект відсутній; “-” – гальмування ефекту; “5” – природний

За довготривалого введення гіпохлоритної кислоти в концентрації 300 мг/л встановили відсутність спонтанних “атипових” поведінкових реакцій, які могли б служити важливими маркерами стресу або свідчити

про серйозні поведінкові та неврологічні порушення з боку ЦНС. Що стосується вертикальної та особливо горизонтальної активності, то ці показники вказували на нормальну фізіологічну активність та емоційну

реакцію, яка визначалась за числом пересічених квадратів у центрі поля, за часом перебування тварин в центральних квадратах. Дослідні щури за загальними психофізіологічними параметрами, рівнем рухомої активності, орієнтовно-дослідницькою реакцією, ступенем їхньої агресивної реакції на зміну довкілля не відрізнялись від тварин контрольної групи, а відсутність порушень ходи вказувала на відсутність змін тонуусу скелетних м'язів. Тонус м'язів хвоста дослідних щурів за "Тестом Штрауба" вказував на достатній ступінь збудження спінальних мотонейронів, відповідальних за його регуляцію.

Головними показниками емоційності у гризунів є частота дефекації та грумінгу: що більше цих актів, то емоційнішою, зокрема тривожнішою, є тварина. Частота грумінгу і кількість фекальних болюсів у дослідних щурів були в межах фізіологічної норми за частотою, кількістю і консистенцією не відрізнялись від тварин контрольної групи, що вказувало на відсутність у них пасивного страху.

Таблиця 5

Динаміка шкідливої дії розчину гіпохлоритної кислоти на слизовій оболонці ока кроля

Подразнююча дія	Періоди дослідження					
	1-а год	2-а доба	3-я доба	4-а доба	5-а доба	14-а доба
<i>Оцінка дії на слизовій ока у першого кроля</i>						
Виділення	1	1	1	0	0	0
Гіперемія	1	1	1	0	0	0
Набряк	1	0	0	0	0	0
<i>Оцінка дії на слизовій ока у другого кроля</i>						
Виділення	1	1	1	0	0	0
Гіперемія	1	1	1	0	0	0
Набряк	1	0	0	0	0	0
<i>Оцінка дії на слизовій ока у третього кроля</i>						
Виділення	1	0	1	0	0	0
Гіперемія	1	1	1	0	0	0
Набряк	1	0	0	0	0	0

Як вказують результати, наведені в таблиці 5, інстиляція 0,05 см³ гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 мг/л у кон'юнктивальний мішок ока кролів супроводжувалась занепокоєністю тварин та фирканням. Фізіологічний стан очей кроля був з вираженим птозом, слъозоточивістю, посиленням судинного малюнка кон'юнктиви. Через годину після процедури сумарна кількість змін становила 3 бали, на 2-у і 3-ю доби – 2 бали, а на 4-у добу клінічні прояви на слизовій оболонці очей були відсутні. Під час наступних досліджень, за допомогою шпаринкової лампи та попереднім суправітальним зафарбовуванням 2 % розчином флюоресцеїну, на 4-у, 5-у – 14-у доби досліді на слизових оболонках кролів клінічних ознак запальних процесів не виявлено.

В результаті проведених досліджень встановлено, що інсталяція розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 мг/л, в об'ємі 0,05 см³ в кон'юнктивальний мішок ока кроля клінічні ознаки запалення зникали через 72 год. Отже, досліджуваний засіб не викликав подразнюючої дії при нанесенні його на слизову оболонку ока у кроля.

При вивченні шкірно-резорбтивної дії розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 1000 мг/л на

В процесі вивчення подразнюючої дії розчину гіпохлоритної кислоти на шкірі щурів встановили, що аплікація досліджуваного засобу в концентрації 1000 мг/л на 2/3 поверхні шкіри хвоста білих щурів не викликала ознак подразнення шкіри, а також не призводила до розвитку іритативних реакцій та контактного дерматиту.

Отже, розчин гіпохлоритної кислоти в концентрації 1000 мг/л не викликав ознак подразнення шкіри, а також не призводив до розвитку іритативних реакцій та контактного дерматиту у лабораторних щурів.

Інсталяція розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 мг/л, в об'ємі 0,05 см³ в кон'юнктивальний мішок ока кроля не викликала подразнюючої дії на слизову оболонку ока у кроля. Отримані результати дослідження після проведеної маніпуляції через 1, 24, 48, 72 години та на 14-у добу наведені в табл. 5.

шкірі кроля встановлено, що протягом періоду спостереження в ділянці нанесення були відсутні ознаки різкої гіперемії, болючості, набряку, зморщування, потовщення та лущення шкіри.

Висновки

1. Отже, довготривале внутрішньошлункове введення розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 та 150 мг/л не призводить до системних порушень функціонального стану найважливіших органів і систем організму та не викликає зниження рівня фізичних можливостей дослідних тварин.

2. Ведення розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 300 мг/л не впливало на загальні психофізіологічні параметри, рівень рухомої активності та орієнтовно-дослідницьку реакцію щурів, але встановлено незначне зниження рівня фізичних можливостей дослідних тварин, а саме час плавання знижувався на 18,2 % порівняно з тваринами контрольної груп.

3. Досліджуваний розчин гіпохлоритної кислоти в концентрації 1000 мг/л, не викликав ознак подразнення шкіри, а також не призводив до розвитку іритатив-

них реакцій та контактного дерматиту у лабораторних щурів.

4. При дворазовому нанесенні на шкіру кроля розчин гіпохлоритної кислоти в концентрації 1000 мг/л не проявляв подразнюючої, дермoneкротичної та резорбтивної дії.

5. Інсталяція розчину гіпохлоритної кислоти в концентрації 50 мг/л, в об'ємі 0,05 см³ в кон'юнктивальний мішок ока кроля не викликала подразнюючої дії на слизову оболонку.

Перспективи подальших досліджень: вивчення впливу розчину гіпохлоритної кислоти на гематологічні, біохімічні і патоморфологічні показники у лабораторних тварин за умов хронічного досліджу.

Фінансування

Робота виконувалась за підтримки Національного фонду досліджень України (номер гранту 0123U102758).

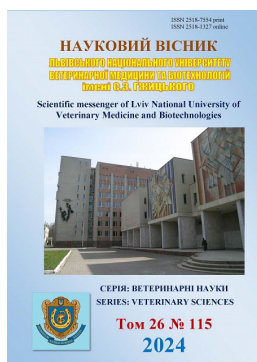
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Brezvyn, O. M., Kotsiumbas, I. Ya., Velichenko, O. B., Shmychkova, O. B., Luk'yanenko, T. V., Girenko, D. V., & Dmitrikova, L. V. (2023). Pharmacological evaluation and preclinical studies of hypochlorous acid solution. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 6(1), 8–13. DOI: 10.32718/ujvas6-2.01.
- Brezvyn, O. M., Kotsiumbas, I. Ya., Velichenko, O. B., Shmychkova, O. B., Luk'yanenko, T. V., Girenko, D. V., & Dmitrikova, L. V. (2023). Development of methods for controlling the quality of hypochlorous acid solution obtained by electrochemical synthesis. *Scientific Messenger LNUVMB. Series: Veterinary sciences*, 25(111), 43–47. DOI: 10.32718/nvlvet11107.
- Brezvyn, O., Kotsiumbas, I., Hyrenko, D., Luk'yanenko, T., Shmychkova, O., Dmitrikova, L., & Velichenko, O. (2024). Study of the antimicrobial action and disinfecting properties of the hypochloritic acid solution obtained by the electrolysis method. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 26(114), 124–131. DOI: 10.32718/nvlvet11418.
- Gutyj, B., Grymak, Y., Hunchak, V., Mysak, A., Nazaruk, N., Brezvyn, O., Hariv, I., Shcherbatyy, A., Semeniv, B., Bushueva, I., Parchenko, V., & Kaplaushenko, A. (2018). Preclinical searches of the preparation Threomagnile. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8(1), 688–695. DOI: 10.15421/2018_267.
- Gutyj, B., Voloshyn, R., Stybel, V., Verveha, B., Sachuk, R., Starostenko, I., Mylostyvyi, R., Kushnir, V., Mazur, I., Khariv, I., Turko, Y., Khalak, V., & Magrelo, V. (2023). The state of the immune system of rats under conditions of oxidative stress and the influence of the feed additive “Sylymevit”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(110), 131–136. DOI: 10.32718/nvlvet11022.
- Karpenko, Y., Hunchak, Y., Gutyj, B., Hunchak, A., Parchenko, M., & Parchenko, V. (2022). Advanced research for physico-chemical properties and parameters of toxicity piperazinium 2-((5-(furan-2-YL)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-YL)THIO)acetate. *Science Rise: Pharmaceutical Science*, 2(36), 18–25. DOI: 10.15587/2519-4852.2022.255848.
- Koshevoy, V., Naumenko, S., Orobchenko, O., & Bespalova, I. (2023). Acute toxicity of zinc carbonate nanocrystals on white mice model. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(112), 123–130. DOI: 10.32718/nvlvet11220.
- Kotsiumbas, I. Ya., & Velichenko, O. B. (2009). *Perspektyvy zastosuvannya hipokhlorytiv u veterynar-nii medytsyni*. Monohrafiia. Lviv, TzOV “VF Afisha” (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ya., Bisiuk, I. Yu., Horzheiev, V. M., & Malyk, O. H. (2013). *Klinichni doslidzhennia veterynarnykh preparativ ta kormovykh dobavok*. Lbviv: TOV Vydavnychiy dim “SAM” (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. H., & Patereha, I. P. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv*. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Kovalenko, V. M., Stefanov, O. V., Maksymov, Yu. M., & Trakhtenberh, I. M. (2001). *Eksperymentalne vyvchennia toksychnoi dii potentsiinykh likarskykh zasobiv*. *Metodychni rekomendatsii*. Kyiv (in Ukrainian).
- Lapach, S. N., Chubenko, A. V., & Babych, P. N. (2001). *Statystychni metody u medyko-biologichnykh doslidzhenniakh z vykorystanniam EXCEL*. Kyiv: “Moryon” (in Ukrainian).
- Lavryshyn, Y., Gutyj, B., Verveha, B., Kutsan, O., Hunchak, V., Khariv, I., Kushnir, V., Vasiv, R., Leskiv, K., & Guta, Z. (2023). Definition of Acute Toxicity and Cumulative Properties of the Drug “Lipointersil”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(112), 83–89. DOI: 10.32718/nvlvet11214.
- Martyschuk, T., Gutyj, B., Vyshchur, O., Paterega, I., Kushnir, V., Bigdan, O., & Tkachenko, N. (2022). Study of Acute and Chronic Toxicity of “Butaselmavit” on Laboratory Animals. *Archives of Pharmacy Practice*, 13(3), 70–75. DOI: 10.51847/XHwVCyBZ3.
- Sachuk, R. M., Gutyj, B. V., Radzyhovskyi, M. L., Velesyk, T. A., Lyko, S. M., Katsaraba, O. A., Pepko, V. O., & Yakuta, O. O. (2023). Research on the embryotoxic effect and carcinogenicity of the drug “BTF plus” – a means for normalizing metabolic processes in animals and poultry. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 6(3), 17–23. DOI: 10.32718/ujvas6-3.04.
- Sachuk, R. M., Zhyhalyuk, S. V., Stravsky, Y. S., Chaykovska, A. I., Katsaraba, O. A., & Boltyk, N. P. (2019). A new mineral drug for veterinary practice “Calfomin”. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 20(2), 390–399. DOI: 10.36359/scivp.2019-20-2.50.
- Soltys, M. P., Gunchak, V. M., Rudyk, G. V., Gutyj, B. V., Brezvyn, O. M., & Vasiv, R. O. (2020). To as-sess

- the biocidal action of the drug based on sodium hypochlorite. Colloquium journal, 30(82), 11–17. DOI: 10.24412/2520-2480-2020-3082-11-16.
- Varkholiak, I. S., & Gutyj, B. V. (2020). The influence of the preparation “Bendamin” on the morphological and biochemical indices of blood of rats in experimental modeling of heart failure. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences, 3(1), 38–41. DOI: 10.32718/ujvas3-1.07.
- Vasylyev, D., Priimenko, B., Aleksandrova, K., Mykhalchenko, Y., Gutyj, B., Mazur, I., Magrelo, N., Sus, H., Dashkovskyy, O., Vus, U., & Kamratska, O. (2021). Investigation of the acute toxicity of new xanthine xenobiotics with noticeable antioxidant activity. Ukrainian Journal of Ecology, 11(1), 315–318. URL: <https://www.ujecology.com/articles/investigation-of-the-acute-toxicity-of-new-xanthine-xenobiotics-with-noticeable-antioxidant-activity.pdf>.
- Velychenko, A. B., Hnatenko, A. N., Lukianenko, T. V., & Brezvyn, O. M. (2007). Rozchyny hipokhlorytu natriiu dlia medytsyny ta veterynarii. Voprosy himii i him. tehnologii, 3, 116 (in Ukrainian).
- Zapadniuk, I. P., Zapadniuk, V. I., & Zakhariia, Ye. A. (1983). Laboratorni tvaryny. Rozvedennia, utrymannia, vykorystannia v eksperymenti. Kyiv: Vyshcha shkola (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/nvlvet11502
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 504.7.054:665.551:636(477.74)

Ecological and toxicological screening of the safety of drinking water for livestock enterprises of Odesa region

L. H. Roman¹✉, S. I. Ulyzko¹, O. M. Zelenina¹, P. M. Skliarov², O. A. Bezaltychna¹, N. I. Dankevich¹,
V. A. Chornyi¹, I. S. Sliusarenko¹

¹Odesa State Agrarian University, Odesa, Ukraine

²Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 14.05.2024

Received in revised form

17.06.2024

Accepted 18.06.2024

Odesa State Agrarian University,
Panteleimonivs'ka Str., 13,
Odesa, 65012, Ukraine.
Tel.: +38-098-326-20-60
E-mail: liliyaroman64@gmail.com

Dnipro State Agrarian and
Economic University,
Serhii Efremov Str., 25,
Dnipro, 49600, Ukraine.

Roman, L. H., Ulyzko, S. I., Zelenina, O. M., Skliarov, P. M., Bezaltychna, O. A., Dankevich, N. I., Chornyi, V. A., & Sliusarenko, I. S. (2024). Ecological and toxicological screening of the safety of drinking water for livestock enterprises of Odesa region. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 11–19. doi: 10.32718/nvlvet11502

Our scientific and industrial research aimed to determine tap water's safety for watering productive animals (cows, goats, sheep) in three different livestock enterprises of the Odesa region. By using the microbiological method - ecological-toxicological express biotesting (with the help of the preparation of test organisms of the dry culture of ciliates *Colpoda steinii*), it was determined that among 106 samples of tap water for watering animals, an average of 65.62 received a rating of "general weak toxicity": 67.01 and 64.88 % of the samples, respectively, for each farm ($P < 0.001$, which highlighted the problem of the unsatisfactory quality of drinking tap water for dairy cattle. A trend was established to increase the indicator of weak toxicity of drinking water in enterprises by +0.22–4.33 % during the year in each farm ($P < 0.001$). Determination of the comprehensive indicator of the quality of tap water for watering animals (farm No. 3) by express analysis of samples by the TDS - metric method showed that the level of mineralization of untreated drinking water exceeded recommended norms in 27.65 and 31.17 times (in 2023 and 2024, respectively, ($P < 0.001$), and samples of water purified on the "ECOSOFT-6500" line were within the recommended norms of high-quality drinking water: on average 35.63–33.59 mg/l, respectively ($P < 0.001$). The analysis of experimental comparative data and literature sources showed the need for further studies on the quality and safety of water for watering productive animals to optimize the management of safe water supply and obtain organic livestock products.

Key words: drinking water, productive animals, microbiological express biotest, *Colpoda steinii* ciliates, general weak toxicity, TDS-metric.

Еколого-токсикологічний скринінг безпечності питної води для тваринницьких підприємств Одеської області

Л. Г. Роман¹✉, С. І. Улизько¹, О. М. Зеленина¹, П. М. Скларов², О. А. Безалтична¹, Н. І. Данкевич¹,
В. А. Чорний¹, І. С. Слюсаренко¹

¹Одеський державний аграрний університет, м. Одеса, Україна

²Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Метою нашого науково-виробничого дослідження було визначення безпечності водопровідної води для напування продуктивних тварин (корови, кози, вівці) у трьох різних тваринницьких підприємствах Одеської області. Шляхом використання мікробіологічного методу – еколого-токсикологічного експрес-біотестування (з допомогою препарату тест-організмів сухої культури інфузорій *Colpoda steinii*) було визначено, що серед 106 зразків водопровідної води для напування тварин, оцінку "загальна слабка токсичність" отримали в середньому 65,62; 67,01 і 64,88 % проб відповідно для кожного господарства ($P < 0,001$), що висвітлює проблему незадо-

вільного стану якості питної водопровідної води для молочного поголів'я. Встановлена стала тенденція до росту показнику слабкої токсичності питної води у підприємствах на $+0,22-4,33\%$ впродовж року в кожному господарстві ($P < 0,001$). Визначення комплексного показника якості водопровідної води для напування тварин (господарство № 3) шляхом експрес-аналізу зразків методом TDS-метрії показало, що рівень мінералізації неочищеної питної води перевищував рекомендовані нормативи в 27,65 і 31,17 рази (відповідно у 2023 і 2024 роках ($P < 0,001$), а зразки очищеної на лінії "ECOSOFT-6500" води були в межах рекомендованих норм якісної питної води: у середньому 35,63–33,59 мг/л, відповідно ($P < 0,001$). Аналіз експериментальних порівняльних даних і літературних джерел показав необхідність подальших досліджень з вивчення якості та безпечності води для напування продуктивних тварин з метою оптимізації менеджменту безпечного водопостачання і отримання органічної тваринницької продукції.

Ключові слова: питна вода, продуктивні тварини, мікробіологічний експрес-біотест, інфузорії *Colpoda steinii*, загальна слабкість токсичності, TDS-метрія.

Вступ

Чиста вода є базовою потребою і людей, і продуктивних тварин. Тому інтенсивний розвиток сільського господарства, зокрема тваринництва, основним фактором впливу на ефективність якого стають промислові технології вирощування і приготування кормової бази, спричиняє актуальний виклик перед фахівцями тваринниками щодо надання продуктивним тваринам якісної і безпечної води для щоденного споживання. Загальновідомо, що за останні десятиліття якість поверхневих вод у більшості країн світу значно погіршилась внаслідок забруднення різноманітними хімічними і біологічними факторами (Zakon Ukrainy, 1992; Dudnyk & Yevtushenko, 2013; Puzik et al., 2016; Movchan & Boltianska, 2019; Kutsan et al., 2022; Hrom, 2023). Водночас зоогігієнічні вимоги утримання тварин в умовах промислових технологій експлуатації стали більш суворі порівняно з екстенсивними умовами утримання, які практикувались раніш упродовж віків (Puzik et al., 2016; Sidashova et al., 2019; Movchan & Boltianska, 2019; Kutsan et al., 2022). За загальними вимогами – вода для напування тварин на фермах повинна бути чистою, прозорою, безбарвною, без запаху, не містити шкідливих для здоров'я тварин і людей, речовин і сполук, інфекційних мікроорганізмів. Візуально-органолептично кожен зооветеринарний фахівець ферми може перевірити якість води за низкою фізичних параметрів: температура, каламутність, колір, смак і запах. Але для дійсно якісного аналізу цього недостатньо, а для більш детальної ідентифікації шкودочинних факторів у воді необхідно проводити цілий комплекс дій за попередньо визначеним протоколом відбору проб, надання їх у сертифіковану лабораторію, використання відповідних методик визначення показників, порівняння отриманих результатів з нормативами тощо (Movchan & Boltianska, 2019; Lytvyn et al., 2021; Rehionalna dopovid..., 2022; Rudenko et al., 2022). Всі ці процедури в умовах сучасного інтенсивного поточного виробництва тваринницької продукції не відповідають потребам виробників: оперативно в режимі реального часу отримати висновок щодо безпечності використання наявної питної води для напування тварин.

Екологорегіональна ситуація в Україні, за висновками дослідників, дуже непроста, зокрема стан водопровідної води в Одеській області має багато невирішених питань щодо безпечності напування продуктивних тварин в умовах сільськогосподарських підприємств різної форми власності. В області планово щорічно проводиться соціально-гігієнічний моніторинг

різних джерел води з аналізом показників за визначених чинними документами параметрів (Sokoliuk, 2015). Так, в 2021 році за результатами лабораторних аналізів із 731 об'єктів централізованого водопостачання питна вода не відповідала санітарним нормам на 34,5 % з них, і на 30,0 % – з об'єктів нецентрального водопостачання (Sokoliuk, 2015). Порівняно з попереднім роком, коли за санітарно-хімічними показниками не відповідали нормативам 13 % об'єктів водопостачання, це демонструвало негативну динаміку стану водопостачальної мережі області. Статистика показала, що найбільший відсоток нестандартних проб питної води встановлено в Болградському районі за вмістом основних забруднювачів, зокрема дуже високий рівень мінералізації (Sokoliuk, 2015).

В матеріалах Регіональної доповіді про стан навколишнього природного середовища в Одеській області у 2021 говорилось, що у занедбаному та аварійному стані – 3053,3 км труб водопостачальної мережі, що становило 30,05 % від загальної протяжності (Sokoliuk, 2015). Забезпеченість підземними водами з якісною питною водою загалом по області становить близько 30 %. Питне водопостачання області майже на 80 % забезпечується за рахунок поверхневих джерел, тому якість води у поверхневих водних об'єктах є вирішальним чинником санітарного та епідеміологічного благополуччя населення (Sidashova et al., 2022). За даними лабораторного аналізу – рівень мінералізації питної води водопровідної мережі області був дуже високий: від 1,6 до 4,1 г/дм³, перевищення ГДК за вмістом солей спостерігалось в усіх пробах.

Фахівці Департаменту екології та природних ресурсів Одеської обласної державної адміністрації у щорічних доповідях щодо стану навколишнього природного середовища в Одеській області підкреслюють погіршення водопостачання регіону, пов'язане як із місцевими факторами нераціонального природокористування, зокрема сільськогосподарськими угіддями, так і впливом глобального потепління клімату і збільшення кількості посух на території області. В статистичних даних доповіді узагальнено та систематизовано моніторингову та науково-дослідницьку інформацію про стан довкілля Одеського регіону, про заходи щодо збереження і охорони природних ресурсів, зокрема водних, впровадження еколого-економічного механізму природокористування, виконання регіональних та загальнодержавних рекомендацій (Sokoliuk, 2015; Sova, 2023).

Але треба звернути увагу, що сучасна структура аналізу показників та взаємозв'язок дій окремих відповідальних організацій не повною мірою відповідає

ситуації щодо контролю безпечності питної води в умовах тваринницьких підприємств, де утримуються різні види продуктивних тварин. Так, в 2021 році відповідно до постанови Кабінету Міністрів України від 22.02.2006 № 182 “Про затвердження порядку проведення соціально-гігієнічного моніторингу довкілля” з метою оцінки можливого впливу забруднення довкілля на стан здоров’я населення в населених пунктах області рекомендується проводити соціально-гігієнічний моніторинг за станом якості питної води, води відкритих водойм, морської води в зонах рекреації тощо, що потребує уточнення показників та уніфікації оперативних і доступних методик перевірки для тваринницьких приміщень (Sova, 2023; Hrom, 2023). Зважаючи на те, що низка літературних джерел щодо аналітичних результатів випробування якості питної води надає суперечливі дані на базі тих же методичних підходів, існує потреба у більш детальному структуруванні необхідних і достатніх показників та методик (Sova, 2023).

Тваринницькі підприємства Одеської області суттєво відрізняються за концентрацією тварин, їх видами і рівнем продуктивності, умовами технологічного режиму, кадровою забезпеченістю, організацією санітарно-ветеринарного супроводу поголів’я. Внаслідок цих обставин виникає нагальна потреба використовувати у практичній роботі з напування тварин простого і доступного методу визначення безпечності питної води, яку отримують з водопроводу.

Сучасні навчальні програми і довідники для підготовки ветеринарних спеціалістів надають численні методики визначення якості та рівнів токсичності зразків води, але використання таких рекомендацій часто не збігається з потребами практичного тваринництва та практикою діяльності ветеринарного лікаря у режимі реального часу (Puzik et al., 2016; Movchan & Boltianska, 2019; Kutsan et al., 2022). Виникає потреба розглянути показник загальної токсичності питної води, яка визначається методом експрес-

біотестування еколого-токсикологічного скринінгу об’єктів довкілля, розробленого українськими дослідниками.

Використання експрес-біотесту з сухим препаратом інфузорій *Colpoda steinii* демонструє напрямок вирішення сучасних проблем перспективного напрямку наукових досліджень водної токсикології, що стосуються питань формування токсичних властивостей водного середовища за умов забруднення водних об’єктів токсикантами різної природи, походження, властивостей та механізмів дії і розвитку інтоксикації на різних рівнях біологічної організації водних екосистем.

Застосування синхронізованих препаратів інфузорій *Colpoda steinii* вирішує основне завдання будь-якого токсикологічного експерименту з визначення максимально недіючої (або нешкідливої, порогової, неефективної) концентрації речовин, за якої не встановлюються зміни в організмах.

Еколого-токсикологічний скринінг загальної токсичності води базується на визначенні тест-реакції тест-мікроорганізму на вплив токсикантів. Основними властивостями різних категорій тест-організмів вважаються висока чутливість до дії різних токсикантів, необхідність бути широко представленими в конкретних географічних зонах, доступними для збору, зручними для утримання й культивування в лабораторії і добре вивченими. Наприклад, для біотестування водних об’єктів використовуються різноманітні гідробіонти – водорості, мікроорганізми, найпростіші, безхребетні, риби. Інфузорії колподи відрізняються серед вказаних тест-організмів рядом переваг, а саме: оперативністю оцінки реакції (від двох хвилин до трьох годин), дешевизною, швидкістю розмноження, синхронністю реакції на токсиканти, здатністю зберігати свої властивості у висушеному (ліофілізованому) вигляді з подальшим відновленням життєвих функцій (згідно з настановою до препарату) (Movchan, 2018).

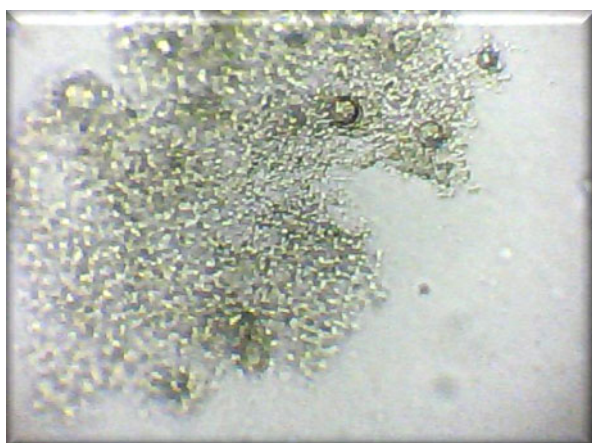


Рис. 1. Мікрофото: препарат для експрес-біотестування інфузорії *Colpoda steinii* після відновлення життєдіяльності у поживному середовищі: активні інфузорії рухаються і живляться біля колоній мікроорганізмів *Bacillus subtilis* (збільшення світлового мікроскопу $\times 100$)

Джерело: фотоархів автора

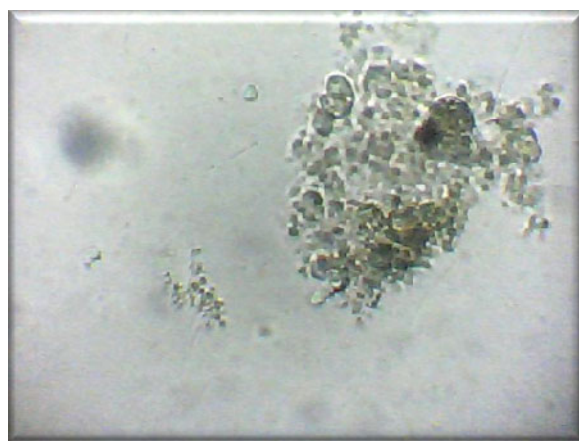


Рис. 2. Мікрофото: у полі зору мікроскопа видно токсичну дію зразка неякісної води на активність інфузорій *Colpoda steinii* (уповільнюється і припиняється рух, змінюється колір інфузорій, їх природні контури) ($\times 100$)

У біотестуванні для характеристики реакції тест-об'єкта на шкодочинну дію середовища використовують критерій токсичності (toxicity criterion), що визначається як тест-функція (рис. 1 і 2). Як показники біотестування для інфузорій використовують візуально вимірювану тест-функцію – виживаність мікроорганізмів (шляхом фіксації рухливості й характерної морфології та фізіології колпод).

Еколого-токсикологічне експрес-біотестування як мікробіологічний метод для оперативного визначення загальної токсичності або безпечності різних кормових складових раціону тварин використовується досить тривалий час (Hrom, 2023; Sidashova et al., 2023), що показано у низці публікацій українських авторів, але для визначення безпечності води тваринницьких підприємств методика потребує удосконалення організаційних підходів, визначення узагальнених профілів загальної токсичності води для напування тварин та інноваційного пошуку інших варіантів експрес-досліджень, придатних для щоденного використання в умовах ферм, наприклад визначення показників якості (рівня мінералізації, ін.), зокрема TDS-метрії.

Мета дослідження

Тому метою нашого науково-виробничого дослідження було визначення експрес-показників загальної токсичності та безпечності води тваринницьких підприємств у процесі порівняння методу еколого-токсикологічного біотестування і TDS-метрії. Літературні джерела показують, що загальновідома функція

обладнання TDS-метру (Total Dissolved Solids meter), або кондуктометру як пристрою, який використовується для вимірювання загального вмісту розчинених речовин у рідині, на сьогодні має широке використання серед населення, а його показник визнається у багатьох публікаціях як достатньо витребуваний для експрес-оцінки якості води (Iakubchak et al., 2022).

Для здійснення поставленої мети нами було розроблено і виконано такі завдання:

– ознайомлення з технологічними характеристиками двох різних методик визначення якості і безпечності води: мікробіологічного (з допомогою препарату сухої культури інфузорій *Colpoda steinii* (Movchan, 2018) і TDS-метрії;

– проведено добір трьох тваринницьких господарств Одеської області з різними видами продуктивних молочних тварин (корови, кози, вівці) для відбору зразків води для напування з наявної системи водопостачання в кожному господарстві (впродовж місяця в період кожного з двох років спостереження)

– проведено випробування зразків води для напування тварин в кожному з господарств за аналогічною схемою (рис. 3);

– проведено узагальнення даних, статистичний і структурно-порівняльний аналіз, визначення біометричних показників (Dudnyk, 2014);

– здійснені висновки і проведено обговорення результатів.

Узагальнені результати показано у вигляді таблиць, діаграм і малюнків.

Визначення безпечності питної води для напування тварин: експрес-методики Мікробіологічний метод (експрес-біотест) Комплексний хіміко-фізичний метод (TDS-метрія)		
Зразок:	вода водопровідна	вода водопровідна
Обладнання, матеріали	Мікроскоп світловий (100х), термостат, термометр	TDS-метр (експрес-аналізатор)
Біотест-організми	Інфузорії <i>Colpoda steinii</i> (синхронізована культура + поживне середовище)	–
Показник оцінки	Загальна токсичність зразку або нетоксичний зразок	Якість води за хіміко-фізичними і біологічними властивостями (придатна до вживання людей і тварин)
Термін визначення	1) 3 хвилини 2) 10 хвилин 3) 3 години	Відразу
Термін зберігання (препарату сухої культури інфузорії <i>Colpoda steinii</i> або приладу)	4 міс.	За ТУ експлуатації приладу

Рис. 3. Організаційно-методична схема науково-виробничого дослідження оцінки безпечності води для напування сільськогосподарських тварин

Матеріал і методи досліджень

Експериментальну частину дослідження проводили на території Одеської області в трьох тваринницьких господарствах різної форми власності: № 1 – Агрофірма “Петродолінське”, молочний комплекс (600 дійних корів з продуктивністю 6000 кг молока базисної жирності); № 2 – Фермерське родинне господарство (молочні кози); № 3 – сільськогосподарський обслуговуючий кооператив СОК “РЕСУРСКОМПАНИ КУБЕЙ” (молочні вівці); (тут і далі тваринницькі ферми подаються у наведеному порядку). Експерименти проводили за аналогічною схемою у літні місяці 2023 і 2024 років.

Еколого-токсикологічний скринінг з допомогою сухої культури інфузорій проводили відповідно до вимог чинної настанови виробника препарату (ГОСТ 13496.7-97, ТУ У 46.15.243-97), з відбором зразків свіжої водопровідної води безпосередньо з мережі водопостачання кожного господарства (Movchan, 2018). Для проведення експрес-біотестування використовували біологічний термостат (температура + 28–29 °C), мікроскоп “Біолам”, термометр водяний, препарат культури інфузорій *Colpoda steinii* (після відновлення життєдіяльності впродовж 16 годин у термостаті), предметні скельця, мікропіпетки. Використовували методику огляду зразків на предметному скельці – розчавлена крапля. Впродовж терміну фіксації результатів мікробіологічного дослідження за шкалою оцінки втрати (летальність) життєздатності 90 % і більше колпод: 2 хвилини – висока токсичність, 10 хвилин – виражена токсичність, 3 години – слабка токсичність. Візуально реєстрували поведінку тест-організмів (інфузорій колпод) в полі зору (не менше 5 оглянутих полів для кожного зразку) світлового мік-

роскопа (збільшення у 100 разів). Звертали увагу на тест-реакцію інфузорій – типовість руху, морфологічну відповідність вигляду інфузорій колпод, колір тест-об’єктів. За робочою шкалою використання інфузорій як тест-мікроорганізмів експрес-біотестування для питної води – слабо токсичними вважались результати, коли за контакту зі зразком води до трьох годин 90 % або всі інфузорії в полі зору мікроскопу – гинули.

Для всіх господарств результати експрес-біотестування фіксували в аналогічних протоколах випробувань.

Для господарства № 3 додатково використовували методику визначення якості води за комплексним фізико-хімічним показником TDS-метру, який надавався виробником лінії з очищення питної води “ECOSOFT-6500”, якою був обладнаний сільськогосподарський обслуговуючий кооператив для надання послуг очищення питної води для населення і продуктивних тварин. Методика визначення показнику рівня очищення питної води TDS-метром відповідала настанові виробника.

За узагальненими даними – аналітичне дослідження проводили в умовах ветеринарного факультету Одеського державного аграрного університету на кафедрі хірургії, акушерства та хвороб дрібних тварин Одеського державного аграрного університету з використанням біометричної обробки статистичних даних (Dudnyk, 2014).

Результати та їх обговорення

Результати експрес-біотестування зразків води для напування тварин, наведені в таблиці 1 (n = 106 зразків).

Таблиця 1

Результати експрес-біотестування водопровідної води для напування тварин з допомогою препарату *Colpoda steinii*, n=106

Рік обстеження, результат, %	Господарство № 1	Господарство № 2	Господарство № 3
2023			
п, кількість проб	31	10	11
Токсично	65,19	69,16	64,77
Нетоксично	34,81	30,81	35,23
2024			
п, кількість проб	32	12	10
Токсично	66,06	64,85 ± 1,39	64,99
Нетоксично	33,94	35,15	35,01
За два роки, середнє			
Токсично (M ± m)	65,62 ± 0,43 ^a	67,01 ± 2,16 ^b	64,88 ± 0,11 ^c
Нетоксично (M ± m)	34,38 ± 0,46 ^d	32,98 ± 2,17 ^e	35,12 ± 0,11 ⁱ

Примітка: a-b; a-c (P < 0,001), при $\bar{O}$ = 0,156; CV = 0,242; td = 1,660; d-e; d-i (P < 0,01), при $\bar{O}$ = 0,156; CV = 0,443; td = 67,986

За результатами мікробіологічного скринінгу питної води трьох тваринницьких підприємств встановлено, що серед зразків було виявлено за 2023 рік від 64,44 до 69,16 % проб зі слабкою загальною токсичністю; а за 2024 рік – від 64,88 до 67,01 %, відповідно, що свідчило за сталу достовірну тенденцію до поширення неякісної води у системі водопостачання області (P < 0,001). Наші моніторингові дослідження підт-

верджують небезпечну ситуацію з неякісною водою у водопроводі, щодо якої висловлюються ряд авторів (Sokoliuk, 2015; Sidashova et al., 2023), підкреслюючи аварійний та незадовільний стан трубопроводної системи, якою подається вода до споживачів.

Варто зазначити, що показник слабкої загальної токсичності демонструє низьку токсичність питної води, шкодочинна дія якої відразу не помітна на стані

макроорганізму, але фізіологи експериментально довели, що токсиканти, розчинені у воді, мають властивість накопичуватися в тканинах і органах тварин, що призводить до зниження продуктивності та погіршення якості тваринницької продукції, зокрема молока (Movchan & Boltianska, 2019). Варто зазначити, що в літературних джерелах відсутні дані досліджень щодо впливу загальної токсичності питної води на якісні показники і склад молока різних продуктивних тварин, що свідчить про необхідність проведення додаткових досліджень.

Особливістю мікробіологічних тест-організмів, а саме інфузорій колпод, є їх дуже висока чутливість до розповсюджених у тваринництві токсикантів, наприклад мікотоксинів, що за результатами дослідження має показати для зооветеринарних спеціалістів напрямки наукового пошуку нейтралізації хронічної інтоксикації у продуктивних тварин (Hrom, 2023).

Узагальнений аналіз за два роки досліджень в трьох молочних господарствах показав, що лише від

32,98 до 35,12 % проб водопровідної води мали еколого-токсикологічну характеристику показнику загальної токсичності “нетоксично” ($P < 0,01$), що висвітлює негативний стан питної води для тварин в Одеській області. Адже загальновідомо, що вода впливає на активізацію обмінних процесів і стимулює секрецію молока, за підрахунками фізіологів не менше ніж 4–6 літрів води потрібно корові для вироблення у вимені 1 літра молока. Якщо якість питної води для тварини буде низькою, тим паче токсичною, частина енергії піде на нейтралізацію інтоксикації організму, а низка токсикантів неодмінно потраплять у молоко. Особливо небезпечні останніми роками ксенобіотики як речовини, до яких тварини не звикли і токсична дія яких ще недостатньо вивчена (Movchan & Boltianska, 2019; Rehionalna dopovid..., 2022).

Результати експрес-вимірювання комплексного показника якості води (мінералізація та ін. фізико-хімічні параметри) з використанням TDS-метру наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Результати TDS-метрії водопровідної і очищеної питної води

Назва зразку води	n, кількість проб	2023 р.			n, кількість проб	2024 р.		
		Показник TDS, мг/л середнє	Lim min	max		Показник TDS, мг/л середнє	Lim min	max
Водопровідна до очищення ($M \pm m$)	10	985,11 $\pm$ 13,75 ^a	917	1038	22	1047,21 $\pm$ 8,58 ^a	992	1100
Водопровідна після очищення* ($M \pm m$)	10	35,63 $\pm$ 2,39 ^b	27	47	26	33,59 $\pm$ 2,40 ^b	5	57

Примітка: * – лінія очищення питної води “ECOSOFT-6500”; a-b ($P < 0,001$), при $\bar{O} = 39,524$; $CV = 4,92$; $td = 70,0905$



Рис. 4. Показники TDS-метра зразка неочищеної води для напування тварин з водопроводу

Джерело: фотоархів автора



Рис. 5. Показники TDS-метра зразка очищеної води після очищення на лінії “ECOSOFT-6500”

Як видно з аналізу даних TDS-метрії, водопровідна вода у всіх випробуваних зразках не відповідала рекомендованим нормативам якості (75–120 мг/л), причому у 2023 році рівень мінералізації перевищував норматив у середньому в 27,65 раза, а в 2024 – у 31,17 раза, що свідчило про зростання негативної тенденції

погіршення засоленості питної водопровідної води в Одеській області ($P < 0,001$).

На рис. 6 графічно показано сталу динаміку низької якості водопровідної води з мереж водопостачання Одеської області, про що йдеться у численних публікаціях науковців і практиків, які аналізують

рівень безпеки водокористання серед населення останніми роками питної води та обладнання для її очищення (Kutsan et al., 2022; Iakubchak et al., 2022).

Проведені нами скринінгові дослідження підтверджують дані інших авторів і привертають увагу до недостатньо вивченого питання негативного впливу неякісної питної води на здоров'я і продуктивність

сільськогосподарських тварин різного напрямку продуктивності.

Загальноприйнятим вважається, що добра якість води сприяє збільшенню надоїв та поліпшенню здоров'я корів, але літературні джерела свідчать, що практичні фахівці та науковці недостатню увагу приділяють воді як поживній речовині та фактору безпечності в раціоні тварин.

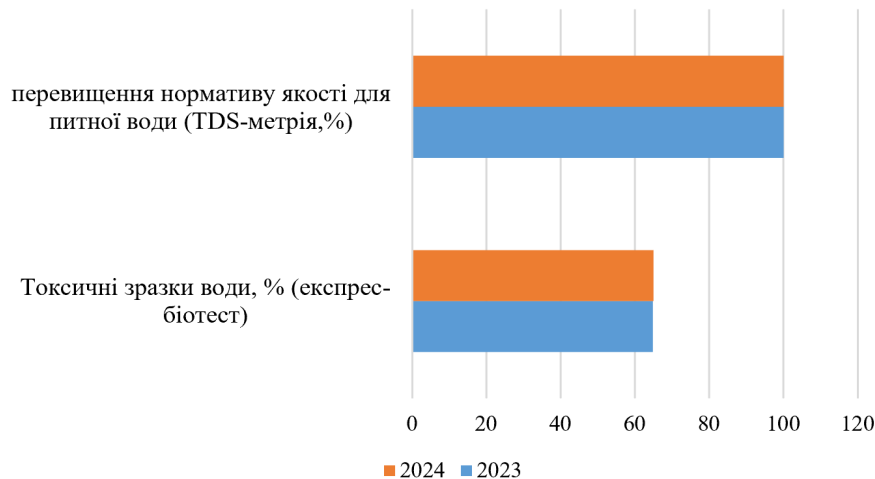


Рис. 6. Динаміка зростання показників слабкотоксичних і високомінералізованих зразків водопровідної води, яка використовувалась для напування продуктивного молочного поголів'я тварин у досліджуваному господарстві № 3, % від усіх обстежених проб (n =79 зразків)

Так, за даними дослідження українських вчених, було виявлено в умовах промислових тваринницьких підприємств вузькі технологічні місця, де проходить повторне забруднення питної води для корів (напувалки, жолоби, ін. конструктивні особливості системи водопостачання корівників). Авторами надано перелік лабораторних досліджень, які можуть характеризувати якість і безпечність води у приміщеннях ферм, але проведення цих досліджень потребують підготовлених спеціалістів, лабораторного обладнання і часу, що не відповідає виконанню виробничих завдань надання поголів'ю для щоденного напування достатнього об'єму безпечної води.

Голландські вчені, досліджуючи на великому поголів'ї корів молочних порід в умовах ферм з різної концентрацією стада та режиму здійснення технологічних процесів, розглядаючи умови напування тварин, звернули увагу на токсичний вплив поїння за рахунок утворення біоплівки у системі водопостачання підприємств. Для ідентифікації параметрів шкочинного впливу були застосовані у комплексі показники, що узагальнювали якість води у відносних світових одиницях, а вартість обстеження була досить високою для власників тварин.

Аналіз літературних джерел і статистичних даних свідчить про актуальність наукового пошуку універсальної, надійної, доступної методики визначення безпечності і якості води для напування продуктивних тварин в умовах реальних тваринницьких ферм. Окремим викликом для спеціалістів залишається необхідність оперативного аналізу з чіткою ідентифікацією безпеки води як у біологічному, так і фізико-

хімічному аспектах відразу на робочому місці. А також варто звернути увагу на фінансову доступність експрес-аналізів для тваринників-практиків. В програмах навчання фахівців зооветеринарного профілю викладені на сьогодні дуже детальні й сучасні методики, прийняті у токсикології, та відомості, що стосуються питань формування токсичних властивостей водного середовища за умов забруднення водних ресурсів та об'єктів токсикантами різної природи, походження, властивостей і механізмів дії та розвитку інтоксикації у різних видів тварин (Puzik et al., 2016; Movchan & Boltianska, 2019; Kutsan et al., 2022). Але недостатньо уваги приділено освоєнню молодими фахівцями оперативних способів експрес-аналізу безпечності питної води у тваринницьких приміщеннях.

Результати наших досліджень показали, що вода, яка надавалась продуктивним тваринам з системи водопостачання в різних підприємствах Одеської області в більшості випадків не відповідала чинним критеріям "безпечна вода для напування тварин", що вимагає введення у технологію годівлі і напування тварин технологічних ланок очищення водопровідної води. Це вимагає додаткових витрат від власників поголів'я, що відіб'ється збільшенням собівартості продукції. Тому для науковців і фахівців-практиків, які працюють у напрямку розвитку виробництва органічної якісної продукції тваринництва, виникає низка завдань з розробки менеджменту у використанні безпечних водних ресурсів для ферм різної форми власності.

Висновки

Експериментально встановлено, що мікробіологічний метод визначення еколого-токсикологічного показника якості води для напування тварин за показником “загальна токсичність” (з допомогою сухої культури інфузорій колпод), може бути широко застосований у тваринницьких підприємствах різної форми власності, з різним поголів’ям продуктивних тварин.

2. Методом експрес-біотестування зразків водопровідної води для напування тварин було встановлено, що у середньому зі 106 проб за два роки, оцінку “Загальна слабка токсичність” було надано 64,88–67,01 % випробуваних зразків (у середньому за трьома господарствами, $P < 0,001$).

3. Експериментально встановлено, що рівень показника слабкої загальної токсичності водопровідної води для напування тварин в різних господарствах Одеської області вирізнявся сталою достовірною тенденцією до зростання, з коливаннями в межах від мінімальної 64,77 % до максимальної – 69,16 % від усіх випробуваних зразків ($P < 0,001$).

4. Експериментально встановлено, що комплексний показник мінералізації питної води за значеннями TDS-метру перевищував у середньому рекомендовані нормативи у 27,65 і 31,17 раза (відповідно у 2023 і 2024 роках, $P < 0,001$), що свідчило про тенденцію погіршення якості водопровідної води за рівнем мінералізації в Одеській області.

5. За даними досліджень встановлено необхідність планового контролю якості й безпечності питної води для тваринницьких підприємств експрес-методами та необхідність розробки технологічних ланок додаткового очищення води для безпечного напування тварин.

Подяка

Автори висловлюють щирю подяку керівництву сільськогосподарського обслуговуючого кооперативу СОК “РЕСУСРКОМПАНИ КУБЕЙ” (Одеська обл., Болградський р-н) та його очільниці В. І. Попаз за підтримку у здійсненні на виробничо-навчальних потужностях підприємства даних науково-виробничих досліджень.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Dudnyk, S. V. (2014). *Metodychnyi posibnyk dlia samostiinoi roboty studentiv zaochnoi formy navchannia. Ch.1. Zahalni osnvoy vodnoi toksykologhii dl yabakalavriv za napriamom pidhotovky 6.090201 – “Vodni bioresursy ta akvakultura”*. Kyiv (in Ukrainian).

Dudnyk, S. V., & Yevtushenko, M. Yu. (2013). *Vodna toksykologhiia: osnovy teoretychnoho polozhennia ta yikhnie praktychne zastosuvannia. Monohrafiia*. Kyiv: Vydavnytstvo Ukrainskoho fitosotsiologichnoho tsentru. URL: <https://nubip.edu.ua/sites/default/files/>

[u104/Водна%20токсикологія-монографія.pdf](#) (in Ukrainian).

Hrom, V. (2023). *Orhanichne vyrobnytstvo yak napriam zabezpechennia prodovolchoi bezpeky Ukrainy: mat. 11 Vseukrainskoi naukovo-praktychnoi konferentsii “Innovatsiini ekolohobezpechni tekhnologii rosllynnytstva v umovakh voiennoho stanu”*. 31.08.2023. Instytut ahroekologhii i pryrodokorystuvannia NAAN. Kyiv, Ukraina, 59–61 (in Ukrainian).

Iakubchak, O. M., Tyshkivska, N. V., & Tyshkivskiy, M. Ya. (2022). *Toksychnist, mikrobiolohichni pokaz-nyky ta aminokyslotnyi sklad orhanichnoi kormovoi dobavky Hrinat. Naukovyi visnyk veterynarnoi me-dytsyny*, 1, 110–120. DOI: 10.33245/2310-4902-2022-173-1-110-119 (in Ukrainian).

Kutsan, O. E., Dukhnytskyi, V. B., Boiko, H. V., & Ishchenko, V. D. (2022). *Veterynarna toksykologhiia. Pid-ruchnyk. 2-he vydannnia, dop. i pererob*. Kyiv, NUBiP Ukrainy. <https://files.znu.edu.ua/files/Bibliobooks/Inshi76/0056829.pdf> (in Ukrainian).

Lytvyn, N., Rudenko, O., & Gutyj, B. (2021). *Assessment of the quality of pond waters of Lviv region and prospects for the use of phytoplankton biomass in these reservoirs. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences*, 23(95), 108–113. DOI: 10.32718/nvlvet-a9516.

Movchan, S. I. (2018). *Promyslvoe vodopostachannia v strukturi system vodohosopdarskoho menedzhmentu. Mat. mizhnar. nauk.-prkt. konf. “Ekologhiia - filosofiiia isnuvannia liudstva”*: zb. Nauk .prats za zah.red. Radievoi. Melitopol, TOV “Kolor Prynt”, 76–79 (in Ukrainian).

Movchan, S. I., & Boltianska, N. I. (2019). *Voda i vodni resursy v tekhnolohichnykh protsakh pidpriemstv APK. Navchalnyi posibnyk. VPTs “Liuks”, m. Melitopol* (in Ukrainian).

Puzik, V. K., Voloshchenko, V. V., Kryshchop, Ye. A., Rozhkov, A. O., & Voloshchenko, M. V. (2016). *Ekolohichna toksykologhiia. Navchalnyi posibnyk. Kharkiv*. URL: http://pdf.lib.vntu.edu.ua/books/2023/Puzik_2016_349.pdf (in Ukrainian).

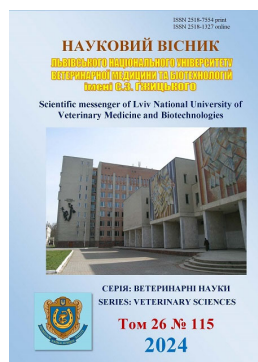
Rehionalna dopovid pro stan navkolishnoho pryrodnoho seredovyscha v Odeskii oblasti u 2021 rotsi (2022). ODESKA OBLASNA DERZhAVNA ADMINISTRATSIa. Odesa. URL: <https://mepr.gov.ua/wp-content/uploads/2022/10/Regionalna-dopovid-Odeska-ODA-2021.pdf> (in Ukrainian).

Rudenko, O., Lytvyn, N., Gutyj, B., & Dvyluk, I. (2022). *Biotechnological principles for improving the ecological state of natural springs in the city of Lviv. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences*, 24(96), 153–161. DOI: 10.32718/nvlvet-a9622.

Sidashova, S. O., Peretiatko, L. H., Onyshchenko, A. O., Sahlo, O. F., Horobei, A.O., & Stryzhak, T. A. (2019). *Ekoloho-toksykologhichni skryinh netradytsiinykh kormovykh kultur: zelena masa eikhornii. Svyarstvo*, 72, 114–124. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/svn_2019_72_15 (in Ukrainian).

Sidashova, S. O., Popova, I. M., Horobei, O. M. (2023). *Znachennia TDS – metrii pytnoi vody v umovakh informatsiino-osvitnoi bazy silskohosopdarskoho*

- obsluhovuiuchoho kooperatyvu: mat. mizhnar. nauk.-prakt. internet konferentsii "International scientific-practicak conference "Modern trends and prospects for the development of science, education and society". August, 2023. Aarhus, Danmark, 13–15 (in Ukrainian).
- Sidashova, S. O., Roman, L. H., Ulizko, S. I., Popova, I. M., & Yasko, V. M. (2022). Model ekoloho-toksykologichnoho skryninhu komovoi bazy demonstratsiinoi pasiky. Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Serii: Veterynarni nauky, 2, 45–54. DOI: 10.32845/bsnau.vet.2022.2.6 (in Ukrainian).
- Sokoliuk, V. M. (2015). Pokaznyky bezpeky vody dlia napuvannia tvaryn u bioheokhimichnykh zonakh Ukrainy. Naukovi dopovidi Natsionalnoho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannia Ukrainy, 1, 63–66. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2015_1_4 (in Ukrainian).
- Sova, L. (2023). Vplyv otsinky ekosystemnykh poverkhnevyykh vod na zberezhennia ahrobioriznomanittia v umovakh voiennoho stanu: mat. 11 Vseukrainskoi nauk.-prakt.konf. "Innovatsiini ekolohobezpechni tekhnologii roslinnytstva v umovakh voiennoho stanu". 31.08.2023. Inst-t ahroekolohii i pryrodokorystuvannia NAAN. K., 1155–1158 (in Ukrainian).
- Zakon Ukrainy № 2498-XII vid 25.06.1992 (1992). «Pro veterynarnu medytsynu» URL: https://zakononline.com.ua/documents/show/152242___152242 (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/nvlvet11503
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.92.09:616.5

Clinical signs of rabbit pododermatitis and seasonal dynamics of their development

R. V. Peredera, O. O. Peredera✉

Poltava State Agrarian University, Poltava, Ukraine

Article info

Received 17.05.2024
Received in revised form
19.06.2024
Accepted 20.06.2024

Poltava State Agrarian University,
Skovorody Str., 1/3, Poltava,
36003, Ukraine.
Tel.: +38-095-748-02-58
E-mail: lenavet26@ukr.net

Peredera, R. V., & Peredera, O. O. (2024). Clinical signs of rabbit pododermatitis and seasonal dynamics of their development. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 20–26. doi: 10.32718/nvlvet11503

The article describes studies of clinical signs of pododermatitis in rabbits. The work was carried out in 2023 in private farms of the Poltava region. A marked visual-analog scale was used to assess the clinical condition, according to Drescher and Schlender-Böbbs (1996). This scale predicted the presence of lesions, which was evaluated by the corresponding points. Their number was correlated with the degree of damage: 0 points (healthy paw without signs of damage, the amount of wool corresponds to the norm). One point is reddened skin and the presence of hypotrichosis or alopecia. Two points – low-grade hyperkeratosis combined with hypotrichosis (alopecia). Three points – moderately pronounced hyperkeratosis, combined with alopecia (exfoliation) of the surface layers of the epidermis in the form of large scales, formed in the disruption of the normal processes of keratonization). Four points – hyperkeratosis combined with alopecia; simultaneously, scabs formed due to the release of serous wound secretions and the beginning of ulcer formation were detected. Five points: hyperkeratosis with alopecia, scabs formed due to the release of bloody secretions from wounds and ulcers. Six points – hyperkeratosis with alopecia, deep ulcers, combined with degenerative changes in the surrounding tissues, crusts formed as a result of bloody secretions from wounds. According to the study results, the dynamics of the development of pododermatitis in farms with the same maintenance conditions are similar. According to the localization of pododermatitis, three forms of damage were identified on the hind paws – heel, middle of the metatarsal and pads (plantar, toes), and one on the front paws – plantar pads, mostly metatarsal. After the increase in the number of livestock in the spring, a simultaneous increase in the incidence rate of pododermatitis was recorded. At this time, the factors contributing to the development of the disease began to act simultaneously. The most significant of which is an increase in the temperature of the external environment and the introduction of fresh grass mass into the diet, which leads to increased humidity of the litter. Assessment of damage to the skin of the sole during this period indicates the initial stages of the disease in most animals. The number of patients with pododermatitis ranged from 17.0 % to 27.9 %. Shallow damage to the skin of the soles, measured in 1–3 points, was found in rabbits of the studied farms in the range of 67–89 %. In the summer, the percentage of rabbit pododermatitis patients in all farms increased to 24.4–43.6 %. Most of the damage to the skin of the soles of the hind paws was estimated at 4–6 points. These indicators were placed in the range of 79–93 %. In autumn, sick animals decreased to 15.4–19.0 %. Most of the sick animals were characterized by 4–6 points lesions according to the scale of Drescher and Schlender-Böbbs (1996). In farms, the percentage of such animals ranged from 83 to 100 %. It was established that animals with mild damage (an initial form with a score of 1–3 points on the scale of Drescher and Schlender-Böbbs (1996) had no abnormalities in their clinical condition. The body temperature of such rabbits was within normal limits. Appetite was not reduced compared to healthy animals. Depression of the general condition or other deviations from the norm were not noted in any sick animal. The appetite was reduced in rabbits with severe damage (which had a rating of 4–6 points). Anxiety was noticeable during feeding. The rabbits constantly jumped from place to place, shaking their damaged paws. Some animals (up to 10 % in different farms) had pronounced depression. 3–5 % of this group showed an increase in temperature by 1–2 °C above the norm.

Key words: rabbits, pododermatitis, clinical signs, localization, dynamics, seasonality.

Клінічні ознаки пододерматитів кролів та сезонна динаміка їх розвитку

Р. В. Передера, О. О. Передера✉

Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, Україна

У статті описані дослідження клінічних ознак за пододерматиту кролів. Робота виконувалася у 2023 році в приватних господарствах Полтавської області. Для оцінки клінічного стану використовувалася чітка візуально-аналогова шкала відповідно до Drescher i Schlender-Böbbs (1996). Дана шкала передбачала наявність уражень, що оцінювалася відповідними балами. Їх кількість корелювала зі ступенем ураження: 0 балів (здорова лапа без ознак уражень, кількість шерсті відповідає нормі). Один бал – почервоніла шкіра, наявність гіпотрихозу чи алопецій. Два бали – наявність гіперкератозу низького ступеня, що поєднані з гіпотрихозом (алопецією). Три бали – гіперкератоз добре виражений, середнього ступеня, поєднувався з алопецією (відшаруванням, злущуванням поверхневих шарів епідермісу у вигляді крупних лусок, що утворилися в процесі порушення нормальних процесів кератонізації). Чотири бали – гіперкератоз що поєднувався з алопецією; при цьому виявляли струпи, утворені внаслідок виділення серозного ранового секрету, та початок утворення виразки. П'ять балів: гіперкератоз з алопецією, струпи утворені внаслідок виділення кров'янистих виділень із ран та виразок. Шість балів – гіперкератоз з алопецією, виразки глибокі, поєднувалися з дегенеративними змінами навколишніх тканин; кірки утворені внаслідок кров'янистих виділень із ран. Згідно з результатами дослідження встановлено, що динаміка розвитку пододерматитів у господарствах з однаковими умовами утримання була подібною. За локалізацією пододерматиту виділили три форми пошкодження на задніх лапках – п'ятка, середина плесни та подушечки (плеснові, пальцеві) та одну на передніх лапках – підошовні подушечки, здебільшого п'ясткові. Після збільшення кількості поголів'я навесні реєстрували одночасне підвищення і відсоток захворюваності на пододерматити. Саме в цей час починали одночасно діяти фактори, що сприяли розвитку захворювання. Найбільш суттєві з них – це підвищення температури зовнішнього середовища та введення у раціон свіжої трав'яної маси, що призводило до підвищеної вологості підстилки. Оцінка пошкодження шкіри підошви у цей період вказувала на початкові стадії захворювання у більшості тварин. Кількість хворих на пододерматити коливалася в діапазоні 17,0–27,9 %. Неглибокі ушкодження шкіри підошви, що вимірювалися в 1–3 бали, виявлялися у кролів досліджуваних господарств у межах 67–89 %. Влітку відсоток хворих на пододерматити кролів в усіх господарствах підвищився і перебував у межах 24,4–43,6 %. Більшість пошкодження шкіри підошви задніх лап оцінювалися у 4–6 балів. Дані показники розміщувалися в діапазоні 79–93 %. Восени кількість хворих тварин зменшувалася і становила 15,4–19,0 %. Більшість хворих тварин при цьому характеризувалися ураженнями 4–6 балів за шкалою Drescher i Schlender-Böbbs (1996). У господарствах відсоток таких тварин коливався у межах 83–100 %. Встановлено, що тварини з легким ступенем ураження (початковою формою що мала оцінку в 1–3), відхилень у клінічному стані не мали. Температура тіла таких кролів перебувала в межах норми. Апетит не був знижений порівняно зі здоровими тваринами. У жодної хворої тварини не виявляли пригнічення загального стану чи інших відхилень від норми. У кролів із важким ступенем ураження (що мала оцінку в 4–6 балів) апетит був знижений. Під час вживання кормів була помітна тривожність. Кролі постійно стридали з місця на місце, трясли лапками, що мали пошкодження. Деякі тварини (до 10 % у різних господарствах) мали виражене пригнічення. У 3–5 % з цієї групи виявляли підвищення температури на 1–2 °C вище за норму.

Ключові слова: кролі, пододерматити, клінічні ознаки, локалізація, динаміка, сезонність.

Вступ

Ряд авторів описують пододерматити кролів як факторне хронічне захворювання шкіри, що характеризується ураженням підошовної поверхні задніх кінцівок (Hess & Tater, 2012; Andrist et al., 2013). Поява та розвиток даного захворювання корелюється з численними факторами (Blair, 2013; Ruchti et al., 2019). Дане захворювання прогресує повільно, викликає постійні больові відчуття, наслідком яких є зниження загальної резистентності та інтенсивності імунної відповіді на проникнення інфекційних агентів.

Rommers & Meijerhof (1996) знаходили зв'язок між появою пододерматитів у кролів із окремими характеристиками тварин, що й виступали факторами ризику. До таких належали вік, порода, маса тіла, довжина кігтів.

В окремих наукових працях пододерматити описані як одна з клінічних форм стафілококозу. Це пов'язано з циркуляцією збудника в тваринницьких господарствах, його тривалою персистенцією в організмі тварин та широким колом носіїв.

Ruchti et al. (2019) при дослідженні появи та розвитку пододерматитів кролів встановили, що стафілококи – не єдина причина захворювання. Метою дослідження Ruchti et al. (2019) було вивчення можливих факторів ризику та прогресування пододерматиту за

групового утримання тварин, яких розводять у Швейцарії на підстилці та пластикових дошках.

Поява даної патології є результатом цілої системи порушень чи одночасної дії декількох факторів.

Нашими попередніми дослідженнями, Peredera & Peredera (2024), була доведена залежність розвитку пододерматитів кролів від умов утримання і годівлі. Пік розвитку даного захворювання реєстрували влітку, за найвищих температур повітря та підвищеної вологості підлоги, що призводили до мацерації шкіри підошви кролів та зниження резистентності організму.

У Європі племінних самців на комерційних фермах зазвичай утримують в клітках із сітчастою підлогою (Mikó et al., 2012; Buijs et al., 2014), тому більшість праць зарубіжних авторів присвячується дослідженням розвитку пододерматиту внаслідок такої системи утримання. Пододерматит є поширеним захворюванням у комерційному кролівництві (Olivas et al., 2013; Buijs et al., 2014). Останні стадії вважаються болісними та можуть швидко призводити до розвитку важких ран. Часто це є причиною передчасного забою та серйозною загрозою для благополуччя уражених тварин (Drescher & Schlender-Böbbs, 1996; Olivas et al., 2013; Blair, 2013).

Тому вивчення зв'язку між клінічними ознаками за пододерматитів кролів та факторами утримання нині є актуальними питаннями.

Мета дослідження

Метою роботи було вивчення динаміки розвитку клінічних ознак за пододерматитів кролів.

Матеріал і методи досліджень

Робота виконувалася у 2023 році в приватних господарствах Полтавської області.

Діагностику здійснювали комплексно. Клінічні дослідження виконувалися загальноприйнятими методами, включаючи детальний анамнез. Брало до уваги загальний стан тварин та ступінь місцевих уражень на підшві задніх та передніх кінцівок. Для забезпечення однакового освітлення при огляді пошкоджень використовували ліхтар.

Результати та їх обговорення

Ruchti et al. (2018) описував за пододерматиту кролів дві локалізації пошкоджень: “п’ятка” та “середина”, які були оцінені після проведення пальпації поверхні підшви задніх лап кроля. У наших дослідженнях на задніх лапах ми виявляли три форми ушкоджень за локалізацією процесу: п’ятка, середина плесни та подушечки (плеснові, пальцеві); на передніх лапках – тільки підшовні подушечки, здебільшого п’ясткові.

Спочатку найбільш помітними були гіпотрихоз, алопеції та еритеми. Згодом у цих ділянках розвивалися дерматити, що характеризувалися гіперкератозом, ліхеніфікацією з подальшою ексудацією та появою кірочок (рис. 1, 2). Після їхнього відпадиння утворювалися спочатку поверхневі виразки (рис. 3, 4), а згодом глибокі гнійні рани (рис. 5). Зона ураження при цьому розширювалась.

Для оцінки клінічного стану нами була застосована маркована візуально-аналогова шкала відповідно до балів Drescher i Schlender-Böbbs (1996). Дана шкала передбачала наявність уражень, що оцінювалися відповідними балами. Їхня кількість корелювала зі ступенем ураження:

0 балів (здорова лапа без ознак уражень, кількість шерсті відповідає нормі);

один бал – почервоніла шкіра, наявність гіпотрихозу чи алопеції;

два бали – наявність гіперкератозу низького ступеня, що поєднані з гіпотрихозом (алопецією);

три бали – гіперкератоз добре виражений, середнього ступеня, поєднується з алопецією (відшаруванням (злущуванням) поверхневих шарів епідермісу у вигляді великих лусок, що утворилися в процесі порушення нормальних процесів кератинізації);

чотири бали – гіперкератоз, що поєднується з алопецією; при цьому виявляли струпи утворені внаслідок виділення серозного ранового секрету та початок утворення виразки;

п’ять балів – гіперкератоз з алопецією, струпи утворені внаслідок виділення кров’янистих виділень із ран та виразок;

шість балів – гіперкератоз з алопецією, виразки глибокі, поєднуються з дегенеративними змінами навколишніх тканин; кірки утворені внаслідок кров’янистих виділень із ран.

Дослідження причин виникнення пододерматитів проводилися в умовах 10 приватних господарств. Але на етапі визначення клінічних ознак було встановлено, що в господарствах, де були відсутні сприяючі фактори розвитку пододерматитів, у кролів не виявляли значних ушкоджень. Останні перебували в діапазоні 1–3 бали. Тому подальші дослідження проводили у чотирьох приватних господарствах зі ступенем ушкодження 1–6 балів (табл. 1).

Таблиця 1

Визначення ступеню пошкодження шкіри підшви задніх лап за пододерматитів кролів у різних господарствах з урахуванням сезонності

Номер господарства	Весна (травень)			Літо (серпень)			Осінь (листопад)		
	Кількість хворих (відсоток)	Оцінка клінічного стану у балах		Кількість хворих (відсоток)	Оцінка клінічного стану у балах		Кількість хворих (відсоток)	Оцінка клінічного стану у балах	
		1–3	4–6		1–3	4–6		1–3	4–6
№ 2	13 (17 %)	10 (77 %)	3 (23 %)	11 (24,4 %)	1 (9 %)	10 (91 %)	-	-	-
№ 3	19 (21 %)	16 (84 %)	3 (16 %)	33 (29,2 %)	7 (21 %)	26 (79 %)	4 (19 %)	-	4 (100 %)
№ 4	12 (22 %)	8 (67 %)	4 (33 %)	31 (32,6 %)	6 (20 %)	25 (80 %)	6 (18,2 %)	1 (17%)	5 (83 %)
№ 10	19 (27,9 %)	17 (89 %)	6 (11 %)	41 (43,6 %)	3 (7 %)	38 (93 %)	6 (15,4 %)	-	6 (100 %)

Згідно з отриманими результатами можна зробити висновок, що динаміка розвитку пододерматитів у господарствах з однаковими умовами утримання є подібною. Дану динаміку можна дослідити, незважаючи на постійний рух поголів’я у господарствах внаслідок скоростиглості тварин.

Після народження кроленят та збільшення кількості поголів’я навесні реєстрували одночасне підвищення і відсотка захворюваності на пододерматити. Саме в цей час починали одночасно діяти фактори, що сприяли розвитку захворювання. Найбільш суттєві з них – це підвищення температури зовнішнього середовища та введення у раціон свіжої трав’яної маси,

що призводить до підвищеної вологості підстилки. Оцінка пошкоджень шкіри підшви у цей період вказувала на появу початкових стадій захворювання у більшості тварин. Кількість хворих на пододерматити коливалася в діапазоні 17,0–27,9 %. Неглибокі ушко-

дження шкіри підшви, що вимірювалися в 1–3 бали за шкалою [Drescher i Schlender-Böbbs \(1996\)](#), виявлялися у кролів досліджуваних господарств у межах 67–89 %.



Рис. 1, 2. Алопеція, гіперкератоз, ліхеніфікація, початок утворення виразок середини плесни та п'ятки, оцінені у 4 бали

Влітку відсоток хворих на пододерматити кролів в усіх господарствах підвищився і перебував у межах 24,4–43,6 %. Більшість пошкоджень шкіри підшви задніх лап оцінювалися у 4–6 балів. Дані показники розміщувалися в діапазоні 79–93 %. Восени кількість хворих тварин зменшувалася і становила 15,4–19,0 %. Більшість хворих тварин при цьому характеризувалися ураженнями 4–6 балів. У господарствах відсоток таких тварин коливався у межах 83–100 %.

У господарстві № 2, легкі (початкові) форми пододерматитів (оцінюються в 1–3 бали) у травні мали 77 % від загальної кількості хворих тварин. У серпні частка таких хворих зменшилася на 68 % і становила 9 %. Натомість відбулося суттєве підвищення кількості тварин, що мали важчі пошкодження (з оцінкою 4–6 балів). Частка таких хворих зросла із 23 % до 91%, різниця становила 68 %.

У господарстві № 3 частка тварин, у яких виявляли легкі форми пододерматитів із 84 % у травні знизилася до 21 % у серпні, з різницею 63 %. Частка хво-

рих, що мали пошкодження в 4–6 балів, зросла в аналогічний період із 16 % до 79 %.

Схожа динаміка розвитку клінічних форм від легких до важких спостерігалася і в інших досліджуваних господарствах.

У господарстві № 4 частка тварин, у яких виявляли легкі форми пододерматитів, із 67 % у травні знизилася до 20 % у серпні, з різницею 47 %. Частка хворих, що мали пошкодження в 4–6 балів, зросла в аналогічний період із 33 % до 80 %.

Найбільша частка тварин, у яких розвиток легкої форми (від оцінки пошкоджень 1–3 балів) у травні призвів до важких форм пододерматитів (від оцінки пошкоджень 4–6 балів) у серпні було господарство № 10. У цьому господарстві частка тварин, у яких виявляли легкі форми пододерматитів, із 89 % у травні знизилася до 7 % у серпні, з різницею 82 %. Частка хворих, що мали пошкодження в 4–6 балів зросла в аналогічний період із 11 % до 93 %.



Рис. 3, 4. Гіперкератоз та поверхневі виразки з кров'янистими виділеннями середини плесни та п'ятки, оцінені у 5 балів



Рис. 5. Гіперкератоз та глибока виразка п'ятки, оцінені у 6 балів



Рис. 6, 7. Гіперкератоз, ліхеніфікація, поверхневі виразки підошовних подушечок, оцінені у 5–6 балів

Отже, при дослідженні кожного окремого господарства можемо встановити схожі закономірності. Аналіз отриманих даних свідчить, що найвищий відсоток хворих на пододерматити кролів з явними клінічними ознаками та важкими формами був зареєстрований влітку.

Одночасно з визначенням ступеня ураження шкіри підошви лап було проведено дослідження загального клінічного стану хворих на пододерматити кролів. Встановлено, що тварини з легким ступенем ураження (початковою формою, що мала оцінку в 1–3 бали), відхилень у клінічному стані не мали. Температура тіла таких кролів перебувала в межах норми. Апетит не був знижений порівняно зі здоровими тваринами. У жодної хворої тварини не виявляли пригнічення загального стану чи інших відхилень від норми.

У кролів із важким ступенем ураження (що мала оцінку в 4–6 балів) апетит був знижений. Під час вживання кормів була помітна тривожність. Кролі постійно стридали з місця на місце, трясла лапками, що мали пошкодження. Деякі тварини (до 10 % у різних господарствах) мали виражене пригнічення. У 3–5 % з цієї групи виявляли підвищення температури на 4–6 °C вище за норму.

Висновки

Згідно з результатами дослідження встановлено, що динаміка розвитку пододерматитів у господарствах з однаковими умовами утримання була подібною. За локалізацією пододерматити розділяли на три форми ушкоджень на задніх лапках – п'ятка, середина плесни та подушечки (плеснові, пальцеві) та одну на

передніх лапках – підошовні подушечки, здебільшого п'ясткові.

Після збільшення кількості поголів'я навесні реєстрували одночасне підвищення й відсотка захворюваності на пододерматити. Саме в цей час починали одночасно діяти фактори, що сприяли розвитку захворювання: підвищення температури зовнішнього середовища та введення у раціон свіжої трав'яної маси, що призводило до підвищеної вологості підстилки. Оцінка пошкоджень шкіри підошви у цей період вказує на початкові стадії захворювання у більшості тварин. Кількість хворих на пододерматити коливалася в діапазоні 17,0 %–27,9 %. Неглибокі ушкодження шкіри підошви, що вимірювалися в 1–3 бали за шкалою [Drescher i Schlender-Böbbs \(1996\)](#) виявляли у кролів досліджуваних господарств у межах 67–89 %. Влітку відсоток хворих на пододерматити кролів в усіх господарствах підвищився і перебував у межах 24,4–43,6 %. Більшість пошкоджень шкіри підошви задніх лап оцінювалися у 4–6 балів. Дані показники розміщувалися в діапазоні 79–93 %. Восени кількість хворих тварин зменшувалася і становила 15,4–19,0 %. Більшість хворих тварин при цьому характеризувалися ураженнями 4–6 балів. У господарствах відсоток таких тварин коливався у межах 83–100 %.

Встановлено, що тварини з легким ступенем ураження (початковою формою, що мала оцінку в 1–3 бали), відхилень у клінічному стані не мали. Температура тіла таких кролів перебувала в межах норми. Апетит не був знижений порівняно зі здоровими тваринами. У жодної хворої тварини не виявляли пригнічення загального стану.

У кролів із важким ступенем ураження (що мала оцінку в 4–6 балів) апетит був знижений. Під час вживання кормів була помітна тривожність. Кролі постійно стрибали з місця на місце, трясали лапками, що мали пошкодження. Деякі тварини (до 10 % у різних господарствах) мали виражене пригнічення. У 3–5 % з цієї групи виявляли підвищення температури на 1–2 °C вище за норму.

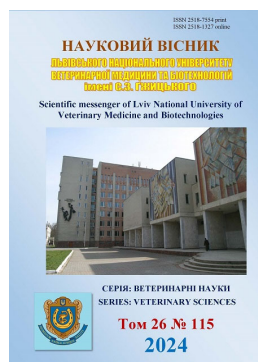
Перспективи подальших досліджень. Дослідити вплив окремих фізіологічних факторів на клінічний перебіг та динаміку розвитку пододерматитів кролів (вагітність, молочність, кількість кроленят у гнізді, період відлучення кроленят). Здійснити аналіз ефективності лікувальних заходів.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Andrist, C. A., van den Borne, B. H., Bigler, L. M., Buchwalder, T., & Roth, B. A. (2013). Epidemiologic survey in Swiss group-housed breeding rabbits: Extent of lesions and potential risk factors. *Preventive veterinary medicine*, 108(2-3), 218–224. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2012.07.015.
- Blair, J. (2013). Bumblefoot: a comparison of clinical presentation and treatment of pododermatitis in rabbits, rodents, and birds. *Vet Clin North Am Exot. Anim. Pract*, 16(3), 715–735. DOI: 10.1016/j.cvex.2013.05.002.
- Buijs, S., Hermans K., Maertens, L., Van Caelenberg, A., & Tuytens, F. A. M. (2014). Effects of semi-group housing and floor type on pododermatitis, spinal deformation and bone quality in rabbit does. *Anim. Int. J. Anim. Biosci.*, 8(10), 1728–1734. DOI:10.1017/S1751731114001669.
- Drescher, B., & Schlender-Böbbis, I. (1996). Pododermatitis beim Kaninchen. *Kleintierpraxis*, 41(2), 99–104.
- Haag, A. F., Fitzgerald, J. R., & Penadés, J. R. (2019). *Staphylococcus aureus* in Animals American. *Society for Microbiology*, 7(3). DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0060-2019.
- Hamir, A. N. (2010). Systemic *Staphylococcus aureus* infection in a freeranging raccoon (*Procyon lotor*). *J. Wildl. Dis.*, 46(2), 665–668. DOI: 10.7589/0090-3558-46.2.665.
- Hermans, K., Devriese, L. A., & Haesebrouck, F. (2003). Rabbit staphylococcosis: difficult solutions for serious problems. *Veterinary Microbiology*, 91(1), 57–64. DOI: 10.1016/S0378-1135(02)00260-2.
- Hess, L., & Tater, K. (2012). Chapter 18: dermatologic diseases. *Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical Medicine and Surgery* (third edition), Elsevier, 232–244. DOI: 10.1016/B978-1-4160-6621-7.00018-X
- Mikó, A., Szendrő, Z., Gerencsér, Z., Radnai, I., Odernatt, M., Nagy, I., & Matics, Z. (2012). Performance of rabbit does in cages with or without elevated platform or plastic footrest. *Proc. 10th World Rabbit Congr. Sharm El-Sheikh*, 441–445. URL: <http://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2012-Egypt/Papers/02-Reproduction/R-Miko.pdf>.
- Olivas, I., Torres, A. G., & Villagrà, A. (2013). Development of a pododermatitis score in breeding does using clustering methods. *Anim. Int. J. Anim. Biosci.*, 7(6), 1011–1016. DOI: 10.1017/S1751731112002509.
- Peredera, R., & Peredera, O. (2024). Analysis of the causes of the occurrence and measures of prevention of pododermatitis in rabbits. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 26(113), 30–35. DOI: 10.32718/nvlvet11305.
- Peton, V., & Le Loir, Y. (2014). *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 602–615. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.08.011.
- Rommers, J. M., & Meijerhof, R. (1996). The effect of different floor types on footpad injuries of rabbit does. *Proc. 6th World Rabbit Congr. Toulouse*, 2, 431–436. URL: <http://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-1996-Toulouse/Papers-pdf/06-Ethology-&Welfare/ROMMERS.pdf>.
- Ruchti, S., Kratzer, G., Furrer, R., Hartnack, S., Würbel, H., Sabine, & G. Gebhardt-Henrich (2019). Progression and risk factors of pododermatitis in part-time group housed rabbit does in Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine*, 166(1), 56–64. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.01.013.
- Ruchti, S., Meier, A. R., Würbel, H., Kratzer G., Gebhardt-Henrich, S. G., & Hartnack, S. (2018). Pododermatitis in group housed rabbit does in Switzerland-prevalence, severity and risk factors. *Preventive Veterinary Medicine*, 158, 114–121. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2018.06.011.
- Simpson, V. R., Davison, N. J., Kearns, A. M., Pichon, B., Hudson, L. O., Koylass, M., Blackett, T., Butler, H., Rasigade, J. P., & Whatmore, A. M. (2013). Association of a lukM-positive clone of *Staphylococcus aureus* with fatal exudative dermatitis in red squirrels (*Sciurus vulgaris*). *Vet Microbiol*, 162(2-4), 987–991. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.10.025.



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/nvlvet11504
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:636.088:616.17:636.39

Milk production of goats with different tone of the autonomic nervous system

B. I. Boychuk¹, V. I. Karpovskiy¹, B. V. Gutyj², I. A. Hryshchuk^{1✉}, A. V. Hryshchuk³

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Stepan Gzhitskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

³Luhansk Taras Shevchenko National University, Lubny, Ukraine

Article info

Received 20.05.2024

Received in revised form
20.06.2024

Accepted 21.06.2024

National University of Life
and Environmental Sciences of
Ukraine, Heroiv Oborony Str., 15,
Kyiv, 03041, Ukraine.
Tel.: +38-050-519-05-41
E-mail: hryshchuk.ihor.a@gmail.com

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

Luhansk Taras Shevchenko
National University,
Koval Str., 3, Lubny, Ukraine.

Boychuk, B. I., Karpovskiy, V. I., Gutyj, B. V., Hryshchuk, I. A., & Hryshchuk, A. V. (2024). Milk production of goats with different tone of the autonomic nervous system. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 27–30. doi: 10.32718/nvlvet11504

The active development of goat breeding is rapidly moving from small enterprises to large farms. This development is ensured by the rapid growth of demand for these products for ordinary consumers and people looking for an alternative to cow's milk. Therefore, a significant amount of effort is being made to improve the yield of dairy products from goats. This is because this farm cannot rapidly increase the number of livestock, and the demand for this product is constantly growing. Our study aimed to establish the dependence of the autonomic nervous system tone on the indicators of goat milk production. To form the experimental groups of animals, a variational pulse oscillometric study was used to calculate the following indicators: mode (Mo), mode amplitude (AMo), variation range (Δx), autonomic rhythm index (ARI), autonomic balance index (ABI), and tension index (TI). Subsequently, three experimental groups of animals were formed according to the tone of autonomic nervous regulation using the Baevsky method: sympathotonics, normotonics, and vagotonics. Statistical analysis of the results and calculation of Student's *t*-test to establish correlation and one-factor analysis of variance between milk production and autonomic nervous regulation tone were performed using Microsoft Excel. According to the results of the study, it was found that the highest milk production was determined in the experimental group of normotonics 1058 ± 9.76 l/year ($P < 0.001$), and the lowest in sympathotonics 845.5 ± 27.71 l/year ($P < 0.001$). Also, according to the initial data's statistical processing results, a correlation was established between milk production indicators and the tone of autonomic nervous regulation. Thus, the experimental group of normotonics had a correlation $r = (-0.649)$ ($P < 0.001$), sympathotonics $r = (-0.572)$ ($P < 0.001$), and vagotonics $r = 0.865$ ($P < 0.001$), which is confirmed by one - factor analysis of variance.

Key words: goats, productivity, autonomic nervous system, milk, correlation.

Молочна продуктивність кіз за різного тонусу автономної нервової системи

Б. І. Бойчук¹, В. І. Карповський¹, Б. В. Гутій², І. А. Гришчук^{1✉}, А. В. Гришчук³

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

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

³Луганський національний університет імені Тараса Шевченка, м. Лубни, Полтавська обл., Україна

Розвиток козівництва забезпечується стрімким ростом попиту на дану продукцію як для потреб звичайних споживачів, так і людей, які шукають альтернативу коров'ячому молоку. Тому, щоб покращити вихід молочної продукції від кіз, докладаються значні зусилля, оскільки дане господарство не має можливості швидко збільшити кількість поголів'я, а потреба у даній продукції невпинно зростає. Метою нашого дослідження було встановити залежність тонусу автономної нервової системи із показниками молочної продуктивності кіз. Для формування дослідних груп тварин застосовували варіаційно-пульсометричне дослідження із вираховування таких показників: мода (Mo), амплітуда моди (AMo), варіаційний розмах (Δx), автономний показник ритму (АПР),

індекс автономної рівноваги (IAP) та індекс напруги (IH). Надалі було сформовано три дослідні групи тварин відповідно до тонусу автономної нервової регуляції за методикою Баєвського: симпатотоніки, нормотоніки, ваготоніки. Статистичний аналіз отриманих результатів та обрахунок t-критерію Стюдента із встановлення кореляційної залежності і однофакторного дисперсного аналізу між показниками молочної продуктивності та показника тонусу автономної нервової регуляції виконувалося за допомогою програми Microsoft Excel. За результатами дослідження встановлено, що найбільша молочна продуктивність була визначена у дослідній групі нормотоніків: $1058 \pm 9,76$ л/рік ($P < 0,001$), а найменша у симпатотоніків: $845,5 \pm 27,71$ л/рік ($P < 0,001$). Також за результатами статистичної обробки вихідних даних було встановлено кореляційну залежність між показниками молочної продуктивності та показниками тонусу автономної нервової регуляції. Так, дослідна група нормотоніків мала кореляційну залежність $r = (-0,649)$ ($P < 0,001$), симпатотоніків $r = (-0,572)$ ($P < 0,001$) та ваготоніків $r = 0,865$ ($P < 0,001$), що підтверджується однофакторним дисперсним аналізом.

Ключові слова: кози, продуктивність, автономна нервова система, молоко, кореляція.

Вступ

Козівництво активно розвивається, зі зростанням попиту на молочну продукцію все більше дане підприємство стає залежним від концентрованих кормів (Coloma-García et al., 2020). Така зміна пояснюється особливостями вирощування поголів'я цього виду тварин. Підприємства не встигають фактично забезпечити обсяг необхідної молочної продукції за рахунок збільшення кількості кіз, адже потрібен час на ріст молодняку (Tesema et al., 2020; Horchanok et al., 2021). Внаслідок цього нестачу поголів'я намагаються компенсувати збільшенням продуктивності. Також активно застосовують різноманітні кормові добавки для підвищення метаболічних процесів у організмі кіз (Pardo et al., 2022; Ashshaadiq et al., 2024).

Дане питання варто розглянути також і з іншого боку. Як відомо, автономна нервова система досить ефективно відіграє роль у корегуванні сталості гомеостазу організму. За активної взаємодії її відділів, а саме симпатичної і парасимпатичної нервової системи збалансовуються процеси синтезу і розщеплення речовин (Martinez-Sanchez et al., 2022; Massender, 2022). Це своєю чергою досить суттєво впливає на молочну продуктивність кіз. Врахувавши цей факт, прогнозування дії різних кормових добавок у кормах тварини стає легшим. Адже кози, які мають активну симпатичну нервову систему, більш сприйнятливі до появи стресового чинника, що досить суттєво впливає на процеси обмінних реакцій у тілі тварини (Fernández et al., 2021; Chakraborty et al., 2023). Врахувавши тонус автономної нервової системи, корекція метаболічних процесів у кіз стане ефективнішою, що відобразиться у зростанні продуктивності (Pizarro Inostroza et al., 2020; Imai & Katagiri, 2022).

Мета дослідження

Дослідити взаємозалежність тонусу автономної нервової системи та молочної продуктивності кіз

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на базі приватної молочно-товарної ферми с. Княгинінок Луцького району Волинської області. Продуктивність досліджували у кіз породи Зааненська, що були одного віку, за клінічними показниками – цілком здорові. Для формування дослідних груп тварин використовували варіаційно-пульсометричне дослідження з аналізом тонусу авто-

номної нервової системи за методикою Баєвського. Для цього було виконано електрокардіографічне дослідження із встановленням таких показників, як мода (Mo), амплітуда моди (АМо), варіаційний розмах (Δx), автономний показник ритму (АПР), індекс автономної рівноваги (IAP) та індекс напруги (IH). Враховуючи отримані дані, ми сформували три дослідні групи кіз: симпатотоніки (тварини із перевагою впливу симпатичної нервової системи), ваготоніки (тварини із перевагою впливу парасимпатичної нервової системи) та нормотоніки (тварини зі збалансованим впливом симпатичної і парасимпатичної нервової системи). Показники продуктивності кіз формували на підставі внутрішньої документації господарства.

Статистичну обробку отриманих результатів дослідження виконували за допомогою програми Microsoft Excel, завдяки якій було сформовано статистичний аналіз даних та визначено t-критерій Стюдента, кореляційну залежність та однофакторний дисперсний аналіз.

Результати та їх обговорення

Під час аналізу молочної продуктивності кіз у господарстві виявлено відмінності в показниках отриманого об'єму молока за рік у тварин різного тонусу автономної нервової системи (табл. 1).

При оцінці молочної продуктивності дослідних груп кіз виявлено, що у дослідній групі нормотоніків показники коливаються в межах в $1043\text{--}1078$ л/рік при середньому значенні $1058 \pm 9,76$ л/рік. Дослідна група кіз симпатотоніків характеризувалася молочною продуктивністю у межах 805 до 893 л/рік за середнім значенням $845,5 \pm 27,71$ л/рік. Дослідна група тварин ваготоніків мала молочну продуктивність у межах $923\text{--}994$ л/рік та середнє значення $953,5 \pm 23,50$ л/рік. Як результат – нами було встановлено, що дослідна група нормотоніків мала найбільшу молочну продуктивність серед інших дослідних груп тварин ($P < 0,001$). Також варто зазначити, що тварини симпатотоніки мали найменші показники молочної продуктивності щодо інших дослідних груп тварин ($P < 0,001$).

Під час встановлення активності відділів автономної нервової системи було проаналізовано результати варіаційно-пульсометричного дослідження, на підставі якого встановили тонус автономної нервової системи, головним показником, що характеризував діяльність симпатичної і парасимпатичної нервової системи, враховувався індекс стресу. Даний показник мав значні відмінності серед дослідних груп кіз.

Таблиця 1

Показники надою кіз з різним тонусом автономної нервової системи

Дослідні групи кіз	КДС	СП	М	СВ	А	Мін.	Мак.
Нормотоніки	10	3,09	1058	9,76	0,65	1043	1078
Симпатотоніки	10	8,76	845,5	27,71	0,27	805	893
Ваготоніки	10	7,43	953,5	23,50	0,20	923	994

Примітка: КДС – кількість дійсних спостережень, СП – стандартна помилка, М – медіана, СВ – стандартне відхилення, А – асиметричність, Мін. – мінімальне значення, Мак. – максимальне значення

Таблиця 2

Показники індексу стресу в дослідних груп кіз

Дослідні групи кіз	КДС	СП	М	СВ	А	Мін.	Мак.
Нормотоніки	10	8,51	103	26,90	0,35	58	154
Симпатотоніки	10	12,74	517,5	40,27	0,03	459	587
Ваготоніки	10	2,77	31	8,79	0,36	18	48

Примітка: КДС – кількість дійсних спостережень, СП – стандартна помилка, М – медіана, СВ – стандартне відхилення, А – асиметричність, Мін. – мінімальне значення, Мак. – максимальне значення

При оцінці індексу стресу дослідних груп кіз виявлено, що у дослідній групі нормотоніків показники коливаються у межах 58–154 л/рік при середньому значенні $103 \pm 26,90$. Дослідна група кіз симпатотоніків характеризувалася високим стресовим станом у межах від 459 до 587 за середнього значення $517,5 \pm 40,27$ л/рік. Дослідна група тварин ваготоніків мала індекс стресу у межах 18–48 та середнє значення $31 \pm 8,79$ л/рік.

За результатами кореляційного дослідження встановлено взаємозалежність індексу стресу та молочної продуктивності кіз. Нормотоніки мали середню негативну кореляційну залежність $r = (-0,649)$ ($P < 0,001$). Ваготоніки мали сильну позитивну кореляційну залежність $r = 0,865$ ($P < 0,001$). Симпатотоніки мали середню негативну кореляційну залежність $r = (-0,572)$ ($P < 0,001$) (рис. 1).

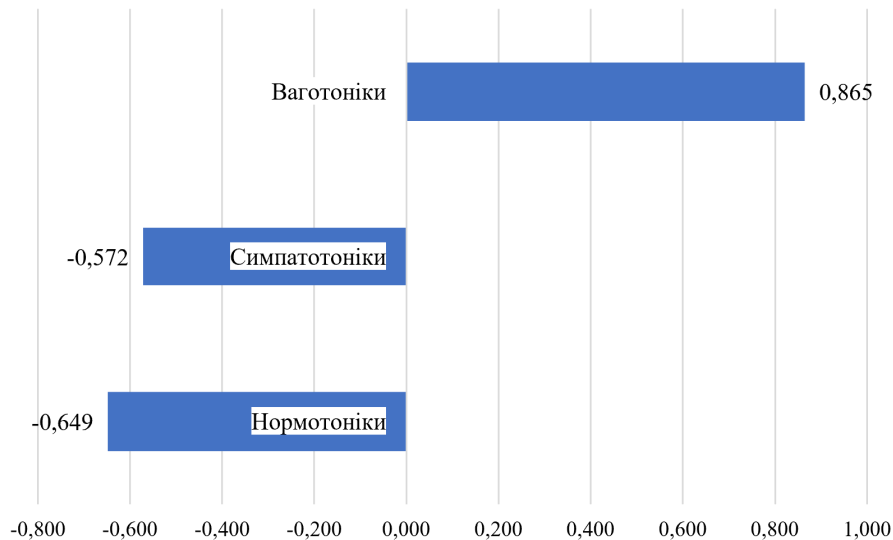


Рис. 1. Кореляційна залежність індексу напруги та надою молока кіз за рік

Згідно з проведеними дослідженнями стосовно взаємозалежності тонуру автономної нервової системи та молочної продуктивності кіз, нами було виявлено певну кореляційну залежність між показником активності симпатичної і парасимпатичної нервової системи та об'єму молока за період лактації. Дана взаємозалежність пояснюється значною роллю автономної нервової системи у підтримці сталості гомеостазу (Martinez-Sanchez et al., 2022). Як відомо, молочна продуктивність жуйних цілком залежить від протікання обмінних процесів, чим інтенсивніший обмін та чим більший об'єм органічних речовин в організмі тварини, тим кращим буде вихід молока (Fernández

Álvarez et al., 2020; Tajaddini et al., 2021). Прикладом цього є застосування різних харчових добавок до раціону тварин, внаслідок чого поліпшувалася молочна продуктивність. Також варто зазначити, що вчені надають перевагу біологічно активним речовинам, які забезпечують зростання ліпідної частки в організмі. Адже, як відомо, є пропорційна залежність між кількістю ліпідної фракції та молочною продуктивністю (Gaafar et al., 2021; Sultanayeva et al., 2023).

Проаналізувавши отримані результати, встановлено взаємозалежність молочної продуктивності та тонуру автономної нервової системи. Про це свідчать показники кореляційної залежності та результати

однофакторного дисперсного аналізу. Це підтверджує роль автономної нервової системи у підтриманні гомеостазу організму та корегуванні обмінних процесів, що відображається в показниках продуктивності.

Висновки

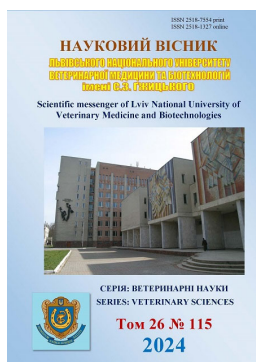
Встановлено відмінності у показниках продуктивності кіз із різним тонусом автономної нервової системи. Дослідна група нормотоніків мала найбільший показник молочної продуктивності: $1058 \pm 9,76$ л/рік ($P < 0,001$). Дослідна група симпатотоніків мали найменші показники продуктивності, зокрема $845,5 \pm 27,71$ л/рік ($P < 0,001$). Виявлено кореляційну залежність між молочною продуктивністю кіз та тонусом автономної нервової регуляції у нормотоніків: $r = (-0,649)$ ($P < 0,001$), у симпатотоніків: $r = (-0,572)$ ($P < 0,001$), у ваготоніків: $r = 0,865$ ($P < 0,001$).

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Ashshaadiq, I. H., Widiastuti, L. K., Warman, A. T., Ngadiyono, N., Atmoko, B. A., & Panjono, P. (2024). The productivity of Bligon goats during post-weaning period in Bantul Regency, Yogyakarta. In AIP Conference Proceedings, 2957(1), 070062. DOI: 10.1063/5.0183884.
- Chakraborty, P., Farhat, K., Po, S. S., Armoundas, A. A., & Stavakis, S. (2023). Autonomic nervous system and cardiac metabolism: links between autonomic and metabolic remodeling in atrial fibrillation. *Clinical Electrophysiology*, 9(7_Part_2), 1196–1206. DOI: 10.1016/j.jacep.2023.02.019.
- Coloma-García, W., Mehaba, N., Such, X., Caja, G., & Salama, A. A. (2020). Effects of cold exposure on some physiological, productive, and metabolic variables in lactating dairy goats. *Animals*, 10(12), 2383. DOI: 10.3390/ani10122383.
- Fernández Álvarez, J., León Jurado, J. M., Navas González, F. J., Iglesias Pastrana, C., & Delgado Bermejo, J. V. (2020). Optimization and validation of a linear appraisal scoring system for milk production-linked zoometric traits in Murciano-Granadina dairy goats and bucks. *Applied Sciences*, 10(16), 5502. DOI: 10.3390/app10165502.
- Fernández, C., Hernández, A., Gomis-Tena, J., & Llor, J. J. (2021). Changes in nutrient balance, methane emissions, physiologic biomarkers, and production performance in goats fed different forage-to-concentrate ratios during lactation. *Journal of animal science*, 99(7), skab114. DOI: 10.1093/jas/skab114.
- Gaafar, H. M., El-Nahrawy, M. M., El-Gendy, M. E. S., El-Riedy, K. F. E. B., Zommara, M. A. E. A., Mesbah, R. A. E. B., & Ghanimah, M. A. (2021). Nutritional effect of different forms of selenium additive on productive performance of dairy Zaraibi goats and their suckling kids. *Indian J. Vet. Res.*, 30(2), 10–19. DOI: 10.5958/0974-0171.2021.00009.1.
- Horchanok, A., Mykytiuk, V., Kuzmenko, O., Lytvyschenko, L., Chumak, V., & Porotikova, I. (2021). Milk productivity of Saanen goats while feeding organic humic origin feed supplement. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 9(1), 18–23. DOI: 10.32819/2021.91003.
- Imai, J., & Katagiri, H. (2022). Regulation of systemic metabolism by the autonomic nervous system consisting of afferent and efferent innervation. *International immunology*, 34(2), 67–79. DOI: 10.1093/intimm/dxab023.
- Martinez-Sanchez, N., Sweeney, O., Sidarta-Oliveira, D., Caron, A., Stanley, S. A., & Domingos, A. I. (2022). The sympathetic nervous system in the 21st century: Neuro-immune interactions in metabolic homeostasis and obesity. *Neuron*, 110(21), 3597–3626. DOI: 10.1016/j.neuron.2022.10.017.
- Massender, E. (2022). Investigating Genomic Methods to Improve the Productivity of Canadian Dairy Goats (Doctoral dissertation, University of Guelph). URL: <https://hdl.handle.net/10214/26993>.
- Pardo, G., del Prado, A., Fernandez-Alvarez, J., Yanez-Ruiz, D. R., & Belanche, A. (2022). Influence of precision livestock farming on the environmental performance of intensive dairy goat farms. *Journal of Cleaner Production*, 351, 131518. DOI: 10.1016/j.jclepro.2022.131518.
- Pizarro Inostroza, M. G., Navas González, F. J., Landi, V., León Jurado, J. M., Delgado Bermejo, J. V., Fernández Álvarez, J., & Martínez Martínez, M. D. A. (2020). Goat milk nutritional quality software-automatized individual curve model fitting, shape parameters calculation and Bayesian flexibility criteria comparison. *Animals*, 10(9), 1693. DOI: 10.3390/ani10091693.
- Sultanayeva, L., Balji, Y., Korotkiy, V., Shantyz, A., Issabekova, S., Borovskiy, A., ... & Abakanova, G. (2023). The effect of extruded feed additives with balsamic poplar buds on productivity of dairy goats. *International Journal of Veterinary Science*, 12(1), 114–119. DOI: 10.47278/journal.ijvs/2022.166.
- Tajaddini, M. A., Dayani, O., Khezri, A., Tahmasbi, R., & Sharifi-Hoseini, M. M. (2021). Production efficiency, milk yield, and milk composition and fatty acids profile of lactating goats feeding formaldehyde-treated canola meal in two levels of dietary crude protein. *Small Ruminant Research*, 204, 106519. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2021.106519.
- Tesema, Z., Alemayehu, K., Kebede, D., Getachew, T., Kefale, A., & Deribe, B. (2020). Reproductive performance and milk production of Central Highland and Boer x Central Highland goats. *Heliyon*, 6(12), e05836. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e05836.



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/nvlvet11505
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:618.56:636.2

Distribution of chronic latent gynecological pathologies in dairy cows

S. O. Sidashova^{1✉}, B. V. Gutyj², V. L. Shnaider³, V. B. Todoriuk⁴

¹Agrarian Advisory Service of Odessa region, advisor to the NGO “All-Ukrainian Council of Women Farmers”, Odessa, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

³Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

⁴Vinnytsia National Agrarian University, Vinnytsia, Ukraine

Article info

Received 23.05.2024

Received in revised form

24.06.2024

Accepted 25.06.2024

Agrarian Advisory Service of
Odessa region, advisor to the NGO
“All-Ukrainian Council of Women
Farmers”, Odessa, Ukraine.
Tel.: +38-068-790-82-41
E-mail: sidashova2020@ukr.net

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

Polissia National University,
Sary Boulevard, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.

Vinnytsia National Agrarian
University, Sontachna Str., 3,
Vinnytsya, 21000, Ukraine.

Sidashova, S. O., Gutyj, B. V., Shnaider, V. L., & Todoriuk V. B. (2024). Distribution of chronic latent gynecological pathologies in dairy cows. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 31–41. doi: 10.32718/nvlvet11505

The purpose of the research and production research in four breeding dairy farms of the industrial type was to establish the prevalence of chronic latent inflammatory processes of the reproductive organs, which lead to the loss of generative resources of dairy breeds of cattle. Analytical, structural-comparative, and statistical methods were used to perform the research tasks. The research data were obtained through a comprehensive examination of cows of the main milking herd ($n = 552$) and groups of culled cows due to numerous ineffective inseminations ($n = 116$), namely, ultrasound scanning of the tissues and uterine cavity and differential palpation of the fallopian tubes and gonads. Experimentally under in vivo conditions, it was established that compared to cows of the leading dairy herd in the culled group, the prevalence of symptoms of chronic latent endometritis was 33.93 % higher on average ($P < 0.05$) with significant fluctuations in different herds (from 12.06 to 67.51 %). A considerable spread of multiorgan gynecological pathology was established, namely the spread of chronic adhesive salpingitis, the symptoms of which in dairy cows were on average 39.40 % (with fluctuations of 7.18–83.65 %), which significantly increased among culled cows: +30, 77 % (in different farms from 52.17 to 90.00 %), which indicated the chronicity of long-term inflammatory processes in the endometrium and the area of the ciliated epithelium of the oviducts, which lead to chronic irreversible infertility ($P < 0.01$). An innovative methodological approach to improving diagnostics requires the introduction of innovations in the practical training methods of zoo-veterinary specialists and the requirements for preserving the generative and secretory functions of the reproductive organs of cows in gynecological therapy schemes.

Key words: dairy cows, endometritis, salpingitis, ovo salpingitis, oophoritis, chronicity, generative resources of the breed.

Поширення хронічних латентних гінекологічних патологій молочних корів

С. О. Сідашова^{1✉}, Б. В. Гутій², В. Л. Шнайдер³, В. Б. Тодорюк⁴

¹ГО “Всеукраїнська Рада Жінок Фермерів”, м. Одеса, Україна

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

³Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

⁴Вінницький національний аграрний університет, м. Вінниця, Україна

Метою науково-виробничого дослідження в чотирьох племінних молочних господарствах промислового типу було встановлення поширеності хронічних латентних запальних процесів репродуктивних органів, які призводять до втрати генеративних ресурсів молочних порід ВРХ. Для виконання завдань дослідження були використані аналітичні, структурно-порівняльні та статисти-

чні методи. Дані дослідження отримали шляхом комплексного обстеження корів основного дійного стада ($n = 552$) і груп вибраних корів внаслідок численних неефективних осіменень ($n = 116$), а саме: УЗ-сканування тканин і порожнини матки і диференційної пальпаторної діагностики яйцеводів і гонад. Експериментально в умовах *in vivo* встановлено, що порівняно з коровами основного дійного стада в групі вибраних поширення симптомів хронічного латентного ендометриту більше на 33,93 % у середньому ($P < 0,05$) зі значними коливаннями у різних господарствах (від 12,06 до 67,51 %). Встановлено істотне поширення поліорганної гінекологічної патології, а саме: розповсюдження хронічного злипливого сальпінгіту, симптомів яких у дійних корів було в середньому 39,40 % (з коливаннями 7,18–83,65 %), що значно збільшилось серед вибраних корів: +30,77 % (в різних господарствах від 52,17 до 90,00 %), що свідчило про хронізацію тривалих запальних процесів в ендометрії і ділянці миготливого епітелія яйцеводів, які призводять до хронічної незворотної неплідності ($P < 0,01$). Інноваційний методологічний підхід до удосконалення діагностики потребує введення інновацій у методики практичного навчання зооветеринарних фахівців і внесення у гінекологічні схеми терапії вимог збереження генеративних і секреторних функцій репродуктивних органів корів.

Ключові слова: молочні корови, ендометрит, сальпінгіт, овосальпінгіт, овофорит, хронізація, генеративні ресурси породи.

Вступ

Відтворення молочної худоби завжди залишалось складною ланкою у технології виробництва молока, зокрема в секторі промислового молочарства (Mazur et al., 2020; Mylostyvyi et al., 2021; Chekan, 2023; Gutyj et al., 2024). Питання ефективної репродукції корів загострюються внаслідок дії біологічного конфлікту між еволюційно адаптованими фізіологічними потребами виду великої рогатої худоби (ВРХ) і збільшення тиску негативного впливу штучно змінених умов промислового утримання корів у сучасних молочних комплексах (Kharuta et al., 2008; Humennyi, 2016; Ordin, 2016; Sidashova et al., 2019; Vlizlo et al., 2021). Науковий пошук протидії викликам, які впливають з умов цього конфлікту, висвітлені у численних літературних джерелах, що описують різні ділянки складного виробничого процесу отримання кінцевого продукту промислового скотарства – молока, але висновки з цього демонструють фрагментарний розгляд загальної ситуації. В літературі зовсім окремо надаються дані з лабораторного або клінічного вивчення фізіологічних і клінічних проявів або симптомів гінекологічних захворювань самиць ВРХ різних молочних порід (Kharuta et al., 2009; Smolianinov et al., 2012; Sharapa & Boiko, 2018; Lozynskyi et al., 2023).

За даними досліджень авторів з України та іноземних джерел, в умовах сучасних молочних комплексів реєструється від 16 до 80 % випадків гінекологічних патологій корів порівняно із загальною їх кількістю хвороб, що свідчить як про значне поширення патологій репродуктивних органів, так і про суперечливість діагностичних підходів до аналізу даних, отриманих за різними методиками (Kharuta et al., 2008; Sharapa & Boiko, 2018; Roman et al., 2022).

Зважаючи на складність і глибину біологічного та технологічного конфліктів у молочному скотарстві, треба зауважити, що на сьогодні у вирішенні проблем зниження фертильності корів не розроблено загальноприйнятого підходу до ідентифікації комплексу клінічних симптомів, які надають чітке визначення діагнозу “хронічна неплідність” та дозволяють однозначно зробити прогноз цього анамнезу, котрий має істотний вплив на ріст господарських витрат, а також на вибір адекватних схем терапії з максимальним виходом гінекологічно здорових і потенційно плідних самиць. Численні рекомендації щодо лікувальних і стимулюючих схем ліквідації неплідності корів відрізняються низьким ефектом за спроб їх масштабування. Рівень неплідності корів молочних порід зростає у всіх країнах із

розвиненим молочним скотарством, що суттєво негативно впливає на рентабельність виробництва і є підґрунтям підвищення собівартості продукції (Stefanyk et al., 2017; Katsaraba et al., 2018; Koreyba, 2018; Sachuk et al., 2019; Roman et al., 2020; Sidashova et al., 2021).

Крім того, тваринники-практики і науковці-селекціонери звертають увагу на істотний від’ємний вплив низької фертильності високопродуктивних корів сучасних спеціалізованих молочних порід на ефективність племінної роботи і зниження темпів селекційного прогресу з удосконалення порід (Babik, 2017; Mylostyvyi & Karlova, 2017; Sidashova & Gumenny, 2017). За даними низки досліджень, останніми роками позитивний вихід дочок молочних корів високопродуктивних стад досягає 2,10–1,45 телички на одну корову (Mylostyvyi & Karlova, 2017). Загальновідомо, що для біологічно обґрунтованого рівня відтворення стада ВРХ необхідно отримувати більше 2,50 телички від однієї корови за строк її господарського використання (Sidashova & Kovtun, 2018; Sidashova et al., 2020). Дані результатів відтворення більшості молочних підприємств слугують маніфестацією кардинального зниження фертильності молочних корів і нагальної необхідності наукового пошуку інноваційних підходів до збільшення надходження приплоду від корів молочних порід.

Для України ефективне відтворення корів на період післявоєнного відновлення економіки стає ще більш актуальним питанням, бо за статистичними даними, у господарствах країни кількість поголів’я ВРХ зменшилася порівняно з передвоєнними роками у 10 разів.

Діагностика у клінічній практиці залишається ключовою ланкою для постановки чіткого діагнозу, ідентифікації шкодочинних факторів та зваженого вибору адекватних заходів профілактики захворювань тварин, зокрема це стосується хронічних гінекологічних патологій різної етіології.

Мета дослідження

Тому за мету нашого дослідження ми поставили аналіз поширення симптомів хронічних запальних патологій у неплідних корів з латентним протіканням патогенезу.

Для здійснення поставленої мети були розроблені й виконані такі завдання:

– проведено аналіз даних літературних джерел щодо поширення діагнозу “хронічна неплідність” у

корів дійного стада промислових молочних господарств з високим рівнем продуктивності;

- адаптовано попередньо розроблену методику комплексного гінекологічного дослідження незапліднених корів у чотирьох племінних господарствах різних областей України (за промислових умов утримання) (Sidashova, 2018; Sidashova et al., 2019);

- розроблено методично-організаційну схему проведення науково-виробничого дослідження за аналогічною методикою, використану для кожного обстеженого господарства (рис. 1);

- проведено підготовку фахівців-виконавців науково-виробничого дослідження з врахуванням дотримання аналогічних вимог схеми дослідження (Sidashova, 2018);

- проведено добір груп корів у кожному господарстві відповідно до схеми досліджень;

- проведено комплексне гінекологічне дослідження (УЗД і пальпаторна диференційна діагностика) органів відтворення у ділянці “тканини і порожнина матки-яйцеводи-яєчники” з врахування латеральної локалізації парних органів;

- проведено фіксацію даних обстеження за аналогічною схемою для кожного господарства, отримано зразки забійного патматеріалу для ілюстрування прикладів патологій (Sidashova, 2018);

- проведено узагальнення, аналіз і статистичну обробку отриманих даних та їх порівняння (Petrovska et al., 2022);

- здійснено висновки та обговорення отриманих даних дослідження.



Рис. 1. Схема проведення науково-виробничого дослідження корів у чотирьох господарствах

Матеріал і методи досліджень

Експериментальну частину науково-виробничого дослідження проводили за аналогічною методикою в чотирьох племінних господарствах різних областей України, які входили до складу АПК провідних молочних підприємств свого регіону. Поголів'я всіх господарств утримувалося за промислових технологій молочного виробництва, за наявною сталою кормовою базою власного виробництва, безприв'язного утримання тварин у модернізованих або новозбудованих приміщеннях корівників, забезпечених засобами контролю зоогігієнічних показників відповідно до сучасних вимог безпечного утримання продуктивних тварин (Sidashova et al., 2020). Господарства відрізнялись окремими організаційно-технологічними підходами виробництва і за складом порід та рівнем продуктивності, дані обстеження наведені тут і далі в такому порядку:

№ 1 – Одеська область, українська червона молочна (УЧМ) порода з середньорічною продуктивністю 5 800 кг молока за стандартну лактацію;

№ 2 – Сумська обл., українська чорно-ряба молочна (УЧРМ) порода з продуктивністю 9 500 кг молока;

№ 2 – Дніпропетровська обл., українська чорно-ряба молочна порода, продуктивність 5 900 кг молока;

№ 3 – Полтавська обл., айрширська порода з продуктивністю 6 000 кг молока.

В кожному господарстві відповідно до схеми досліджень було проведено добір методом періодів груп незапліднених корів за принципом “мале стадо”: вік корів коливався від першої до 6-ї, термін від отелення – понад 91 день. Крім незапліднених самиць основного дійного стада, за аналогічною методикою проведено обстеження груп вибраканих корів з анамнезом “хронічна неплідність з причин численних неефективних штучних осіменів”. Зоотехнічні дані відбирали з комп'ютерних баз обліку кожного господарства,

анамнестичні – з даних обліку акушерсько-гінекологічної диспансеризації ветеринарної служби.

Всі корови піддавались попередньому обстеженню клінічного стану матки з допомогою УЗ-сканування “Tringa vet” (Kharuta et al., 2008; 2009) для ідентифікації хронічних запальних патологій тканин матки та наявності патологічного ексудату в порожнині матки. Для диференційної діагностики симптомів хронічних злипливих патологій тканин у ділянці “яйцевід-яєчник”, яка має анатомічно обумовлені обмеження щодо УЗД результативності обстеження ознак хронічних процесів у прозорі яйцеводів, проводили пальпацію за модифікованою методикою, рекомендованою українськими дослідниками і показаною у наших попередніх публікаціях (Sidashova et al., 2019; 2024). Особливості стадіального та клінічного стану тканин яєчників проводили з використанням методики візуалізації даних пальпаторного обстеження з використанням об’ємних моделей гонад (Sidashova et al., 2019).

Всі обстежені тварини під час дослідження були зафіксовані у спеціальних станках, їх здоров’ю не було завдано шкоди (Humennyi, 2016). Все обстежене поголів’я в кожному господарстві було забезпечено ветеринарним супроводом і комплексом санітарно-ветеринарних заходів щодо профілактики інфекційних хвороб з вакцинацією відповідно до вимог чинних ветеринарних інструкцій (Humennyi, 2016).

Отримані дані в кожному господарстві були зафіксовані, узагальнені і статистично оброблені (Petrovska

et al., 2022). Аналітичну частину дослідження проводили на кафедрі гігієни, санітарії та загальної ветеринарної профілактики імені М. В. Демчука Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького з використанням структурно-порівняльного і статистичного методів.

Результати та їх обговорення

Впродовж проведення науково-виробничого дослідження було обстежено чотири дійних стада різних молочних порід української селекції (УЧМ, УЧРМ, айршир), загальною кількістю 668 голів (552 – основне дійне стадо, 116 – вибрактовані корови внаслідок багаторазових неефективних штучних осіменін). Результати комплексного гінекологічного обстеження структурували відповідно до клінічних даних з окремих ділянок репродуктивного тракту, а також було проведено узагальнене порівняння динаміки поширення різних патологій, які відповідно до мети дослідження мали ключовий тиск на прогноз фертильного здоров’я корови і відновлення її генеретивного використання (хронічний латентний ендометрит, хронічний злипливий сальпінгіт, хронічні гонадопатії склеротичного характеру, овосальпігіти). В таблиці 1 надано результати УЗ-сканування тканин і порожнини матки дійних корів, які структуровано відповідно до схеми дослідження.

Таблиця 1

Результати клінічного *in vivo* обстеження тканин і порожнини матки незапліднених корів, n = 552

Господарство	n	Клінічний стан тканин матки:					
		в нормі		хронічний латентний ендометрит		підгострий гнійний ендометрит	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%
№ 1	199	17	85,93	24	12,06	4	2,01
№ 2	40	18	45,00	20	50,00	2	5,00
№ 3	104	17	16,35	70	67,31	17	16,35
№ 4	209	118	56,46	82	39,23	9	4,31
M ± m	-	50,40 ± 14,39 ^a		-	42,15 ± 11,58 ^b	-	6,92 ± 3,21 ^c

Примітка: a-b; a-c (P < 0,05), при $\bar{O} = 6,417$; CV=92,764; td = 2,985

Узагальнені дані свідчать, що 50,40 % (P < 0,05) незапліднених корів відповідно до УЗД мали діагноз “тканини матки у нормі”, одночасно показники у різних стадах значно коливались: від 85,93 % (господарство № 1) до 16,35 % (господарство № 3), що демонструє значний вплив на гінекологічний профіль дійного стада паратипових і генетичних факторів.

У частини корів (від 2,01 до 16,35 %) в процесі діагностики були виявлені підгострі запальні процеси з наявністю гнійного ексудату в порожнині матки, що свідчило про недостатньо ефективні терапевтичні схеми ветеринарного супроводу стада у післяйотельний період.

Особливу увагу було приділено диференційній ідентифікації симптомів хронічного ендометриту з латентним протіканням. УЗ-сканування у випадку такого патогенезу дає специфічну візуальну картину – характерні візуальні сліди хронічного запалення ен-

дометрію на локальних ділянках внутрішніх стінок матки. За результатами наших досліджень, симптоми хронічного латентного ендометриту виявлені в 42,15 % корів у середньому (P < 0,05), зі значним рівнем коливальності: від 12,06 % (господарство № 1) до 67,31 % (господарство № 3). Отримані дані підтверджували закономірні зв’язки між впливом організації утримання, рівня ветеринарної служби та виробництва і зростанням хронізації симптомів запальних хвороб ендометрію корів дійного стада. В численних дослідженнях ряду авторів підтверджується значна варіативність поширення симптоматики хронічних ендометритів серед поголів’я молочних порід різних стад (Smolianinov et al., 2012; Humennyi et al., 2019).

Під час дослідження були виявлені випадки наслідків неадекватного вибору протизапальних ветеринарних препаратів внутрішньоматкового введення (рис. 2). На УЗД такі патології виглядають як наявність

у порожнині матки екссудату незрозумілого характеру, макропатологоанатомічний препарат на розтині за-свідчив вміст стороннього твердого осаду на стінках ендометрію, який вірогідно провокував хронічні запальні й дегенеративні процеси тканин матки, що призводили до настання незворотної неплідності. Вірогідно спільний вплив ослаблення резистентності організму високопродуктивної корови у післятільний період з одночасним зниженням моторики матки спричинили патологічну реакцію репродуктивної системи



Рис. 2. Макропатологоанатомічний препарат матки неплідної корови: розтин порожнини рогу матки показує наявність стороннього осаду на ендометрії, що вірогідно утворився внаслідок внутрішньоматкового введення ветеринарного препарату низької якості

Джерело: фотоархів автора, Лабораторія трансплантації ембріонів "Полтаваплемсервіс"

на лікувальний препарат внутрішньоматкового введення, з подальшими розвитком механічного травмування слизових оболонок. Зовнішньо у корови не спостерігались ознаки запалення, але реєструвались симптоми тривалої ациклії та анафродизії. Результати дослідження демонструють необхідність удосконалення як методик діагностики в умовах *in vivo*, так і методів добору адекватних способів терапії і лікувальних схем для гострих і підгострих гінекологічних патологій.

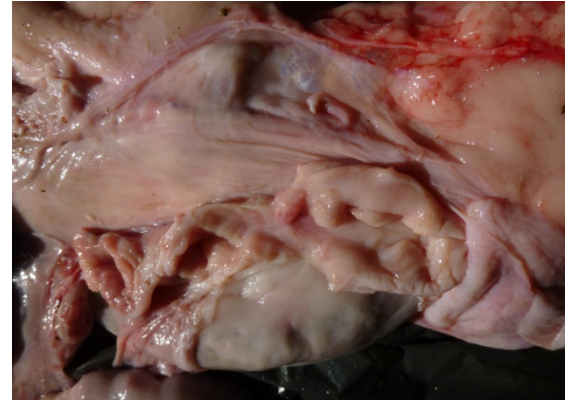


Рис. 3. Макропатологоанатомічний препарат ділянки репродуктивного тракту фертильної корови (верхівки рогів матки – яйцевод – яєчник): візуально на тканинах відсутні ознаки хронічних запальних процесів, прозір яйцеводів анатомічно нормальний, спайкових змін тканин не спостерігається

Значне різноманіття рекомендованих гінекологічних схем терапії свідчить про відсутність загальноєфективного підходу до вирішення питань лікування ендометритів з одночасним збереженням генеративної функції самиці на тривалий термін виробничої експлуатації, що показано у численних літературних джерелах (Babik, 2017; Sharapa & Boiko, 2018). За даними зарубіжних дослідників, саме зниження життєвильної функції ендометрію призводить до втрати клітинами матки секреції простагландинів, що прово-

кує гормональні дисфункції і тривалі періоди відсутності циклів або неповноцінні статеві цикли з втратою ранніх ембріонів (Babik, 2017; Sharapa & Boiko, 2018).

Результати таблиці 2 показують співвідношення поширення хронічних ендометритів, зокрема і їх латентного протікання, і діагностованих в умовах *in vivo* симптомів хронічних сальпінгітів (для спрощення аналізу дані латеральних і білатеральних сальпінгітів узагальнено).

Таблиця 2

Результати диференційного пальпаторного *in vivo* обстеження тканин і порожнини матки та клінічного стану яйцеводів незапліднених корів, n = 552

Господарство	n	Клінічний стан тканин матки і яйцеводів:					
		В нормі		хронічний латентний та гнійний ендометрит		в тому числі хронічний сальпінгіт*	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%
№ 1	199	17	85,93	28	14,00	24	12,06
№ 2	40	18	45,00	22	55,00	22	55,00
№ 3	104	17	16,35	77	74,04	87	83,65
№ 4	209	118	56,46	91	43,54	15	7,18
M ± m	-		50,4 ± 14,39	-	46,66 ± 12,55	-	39,40 ± 18,23

Примітка: * – злипливі стани тканин яйцеводів разом латерально (справа або зліва) і білатерально

Результати обстеження показують, що в середньому серед дослідженого поголів'я 46,66 % корів мали симптоми хронічних ендометритів, в тому числі з безсимптомним протіканням, водночас було виявлено

39,40 % суміжної патології з деструктивними змінами тканин яйцеводів – хронічні сальпінгіти. Простежується тенденція до збільшення гінекологічної поліорганної патології в ділянці "порожнина матки – роги

матки – яйцеводи”, але кореляційних зв’язків не вдалось встановити, що свідчить про суттєвий вплив на патогенез паратипових чинників. В літературі характер виникнення і течії хронізації запальних і злипливих процесів цієї ділянки репродуктивного тракту корів висвітлено недостатньо і дуже фрагментарно та підкреслено необхідність удосконалювати методику подібних обстежень внаслідок їх непередбаченого впливу на хронізацію гінекологічних патологій з втратою фертильності самиць (Kharuta et al., 2008; Sidashova, 2017; Roman et al., 2020).

Загальновідомо, що діагностика *in vivo* сальпінгітів можлива лише пальпаторним методом і у стані, коли змінені склеротично тканини яйцеводів наразі вже не піддаються відновленню, тому лікувальні та стимулюючі заходи за такого діагнозу марні. Необхідність у збереженні репродуктивного здоров’я корів потребує ранньої діагностики гінекологічних хвороб, які провокують злипливі сальпінгіти. Цей виклик практичного скотарства потребує удосконалення методик навчання ветеринарних фахівців-практиків, що

показано в рекомендаціях українських спеціалістів і в наших попередніх публікаціях (Kharuta et al., 2008; Kharuta & Baban, 2009).

На рис. 4 показано клінічний стан яйцеводів корови з діагнозом “незворотна неплідність” внаслідок склеротизації тканин стінок яйцеводів, які втратили еластичність і внутрішній прозор, що спричинило неможливість руху гамет (яйцеклітини і сперміїв). Для візуалізації даних пальпаторної діагностики використовуються у процесі навчання об’ємні моделі (рис. 5), які характеризують основні ознаки патології в умовах *in vivo*: втрата анатомічної рухливості органів, еластичності тканин, твердість тканин тощо (Sidashova et al., 2019).

В таблиці 3 наведено структуровані за латеральним розташуванням пальпаторні дані симптомів хронічних сальпінгітів з розглядом наявності *in vivo* ознак склеротизації тканин яєчників, які унеможливають здійснення генеративної функції репродуктивної системи самиці.



Рис. 4. Макропатологоанатомічний препарат ділянки репродуктивного тракту неплідної корови: візуально і пальпаторно видимі патологічні деструктивні зміни тканин яйцеводу, що спричинили втрату проходимості для гамет

Джерело: фотоархів автора, Лабораторія трансплантації ембріонів “Полтаваплемсервіс”



Рис. 5. Об’ємна модель ділянки репродуктивного тракту корови з прикладом хронічного злипливого сальпінгіту: показані видимі симптоми характерних змін тканин і контурів органів – яйцеводу і яєчника

Таблиця 3

Результати клінічного *in vivo* диференційного пальпаторного обстеження тканин яйцеводів і яєчників незапліднених корів, n = 552

Господарство	n	Клінічний <i>in vivo</i> пальпаторний стан тканин яйцеводів і яєчників							
		Без змін		Хронічний спайковий сальпінгіт латерально*		Хронічний спайковий сальпінгіт білатерально		В т. ч. склероз яєчників**	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%	гол.	%
№ 1	199	175	84,94	14	7,04	10	5,03	11	5,53
№ 2	40	18	45,00	20	50,00	2	5,00	0	0,00
№ 3	104	17	16,35	70	67,31	17	16,35	3	2,88
№ 4	209	194	92,82	9	4,64	6	3,09	7	3,35
M ± m	-		59,78 ± 17,86 ^a	-	32,25 ± 15,66 ^b		7,37 ± 3,03 ^c	-	1,31 ± 0,69 ^d

Примітка: * – зліва або справа; ** – білатерально; a-b; a-c; a-d (P < 0,05), при $\bar{O} = 6,057$; CV = 159,460; td = 3,271

За результатами диференційної пальпаторної діагностики було встановлено в умовах *in vivo* відсутність симптомів змін тканин яйцеводів у 59,78 % незапліднених корів різних стад. Серед всього обстеженого поголів’я пальпаторно діагностовано симптоми одно-

бічного розташування хронічних злипливих сальпінгітів у 32,25 % корів, з коливаннями у різних стадах від 4,64 % до 67,31 % (P < 0,05). Латерально локалізовані спайки яйцеводу суттєво знижують рівень заплідненості корів, що підтверджено зарубіжними дослі-

дженнями (Roman et al., 2020; Sidashova et al., 2021). Встановлення 7,37 % випадків симптомів білатерального хронічного сальпінгіту (у середньому ($P < 0,05$) свідчило про повну відсутність морфофункціональних умов для фізіологічного руху гамет в прозорі яйцеводів цих корів і незворотну втрату високопродуктивно-

го генофонду молочного стада (Sidashova & Kovtun, 2018; Sidashova et al., 2024).

В таблиці 4 наведені дані УЗ-сканування тканин і порожнини матки корів, які були в групі вибраковки внаслідок численних неефективних осіменінь.

Таблиця 4

Результати клінічного *in vivo* обстеження тканин і порожнини матки вибраваних корів, $n = 116$

Господарство	n	Клінічний стан тканин матки:					
		В нормі		хронічний латентний ендометрит		підгострий гнійний ендометрит	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%
№ 1	31	9	29,03	22	70,97	0	0,00
№ 2	20	2	10,00	16	80,00	2	10,00
№ 3	19	0	0,00	11	57,89	8	42,11
№ 4	46	0	0,00	44	95,65	2	4,35
$M \pm m$	–	–	$9,76 \pm 6,84^a$	–	$76,13 \pm 7,93^b$	–	$5,65 \pm 4,18^c$

Примітка: a-b; a-c ($P < 0,01$), при $\bar{O} = 13,222$; $CV = 234,14$; $td = 7,859$

Поголів'я вибраваних корів свідчило про значний ріст клінічної симптоматики хронічних ендометритів в порівнянні з самицями основного дійного стада, особливо за латентного патогенезу: в середньому 76,13 % оглядів на екрані сканера показували характерну картину для хронічних запальних процесів, що підтверджувалось і пальпаторною діагностикою (тістуватість і рихлість тканин матки, нечіткість контурів, втрата еластичності тканин тощо ($P < 0,01$). Кількість корів з симптомами гнійних запалень суттєво зменшилась (в середньому до 5,65 %), що демонструвало течію довготривалого запального процесу з хронізацією деструктивних змін ендометрію. В гістологічних дослідженнях українських авторів було встановлено суттєві структурні зміни в будові тканин ендометрію впродовж тривалого періоду неплідності й анафродизії корів: серед клітин ендометрію були спостережені склеротизовані волокна, які розташовані біля артерій або у стінках артерій, що внаслідок суттєво могло зменшити живлення клітин матки (Babik, 2017). Результати наших досліджень в умовах *in vivo* підтверджують висновки лабораторних випробувань.

В таблиці 5 показано динаміку в корів з хронічним латентним ендометритом росту кількості симптомів

склерозу в тканинах не тільки яйцеводів, а й яєчників, що формувало синдром овосальпінгітів з повною втратою генеративної і гормональної функції репродуктивної системи.

У вибраваних корів у середньому у чотирьох стадах симптоми хронічного злипливого сальпінгіту виявили у 70,17 % випадків з одночасною суміжною незворотною патологією – склерозом яєчників – у 9,13 % ($P < 0,01$).

Графічно на рисунку 6 видно стрімке зростання кількості важких незворотних гінекологічних патологій у групах вибраваних корів, що свідчило про негативний тиск саме гінекологічного патогенезу на втрату серед високопродуктивного стада цінних генетичних ресурсів внаслідок раннього вибуття корів з утраченою фертильністю. Аналіз профілю динаміки поліорганичних гінекологічних патологій у групах корів з хронічною неплідністю дозволив в умовах *in vivo* ідентифікувати початок деструктивних процесів, а саме: хронізацію різних проявів запальних процесів ендометрію матки, симптоми яких в групах з численними неефективними осіменіннями досягали від 70,97 % до 100 % ($P < 0,01$).

Таблиця 5

Результати диференційного пальпаторного *in vivo* обстеження тканин матки і клінічного стану яйцеводів вибраваних корів, $n = 116$

Господарство	n	Клінічний стан тканин яйцеводів і гонад							
		В нормі		Хронічний латентний та гнійний ендометрит		В тому числі хронічний сальпінгіт*		В т.ч. склероз яєчників	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%	гол.	%
№ 1	31	9	29,03	22	70,97	25	80,65	4	12,09
№ 2	20	2	10,00	18	90,00	18	90,00	5	25,00
№ 3	19	0	0,00	19	100,00	11	57,89	7	36,84
№ 4	46	0	0,00	46	100,00	24	52,17	8	17,39
$M \pm m$	–	–	$9,76 \pm 6,84^a$	–	$90,24 \pm 6,84^b$	–	$70,17 \pm 9,03^c$	–	$9,13 \pm 4,21^b$

Примітка: a-b; a-c; a-d ($P < 0,01$), при $\bar{O} = 9,833$; $CV = 226,738$; $td = 11,322$

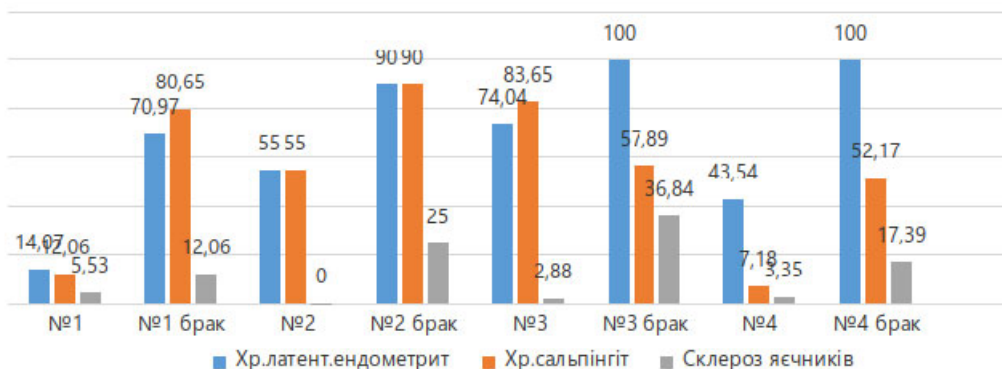


Рис. 6. Динаміка зростання хронічних поліоргічних гінекологічних патологій у корів різних молочних стад (% від всіх обстежених), n = 668

Гістологічні дослідження ряду українських науковців показали, що в тканинах яєчників корів з хронічною анафродизією спостерігається характерний комплекс патологічних змін в тканинах фолікулярного шару, а саме: зменшення кількості везикулярних фолікулів, спотворення їх морфології та зменшення розмірів. В тканинах яєчників дослідники виявили утворення склеротизованих волокон, які накопичуються в стінках артерій і капілярів, деструктивно впливаючи на їх живильну функцію, змінюючи гемодинаміку живлення органа (Kharuta et al., 2008; Kharuta & Baban, 2009; Babik, 2017). Деструктуризація морфології тканин яєчників суттєво негативно діє на рівень фертильності корови і має незворотний характер, що призводить до втрати генетичних ресурсів як окремої самиці, так і породи загалом.

При зіставленні профілю зростання кількості хронічних запальних патологій в суміжних ділянках репродуктивного тракту (таких органів, як матка, яйцевода і яєчники), причому за візуально безсимптомного патогенезу протікання, привертає увагу менший рівень негативних показників у господарстві № 2 порівняно з № 3: у стаді № 3 молочна продуктивність за стандартну лактацію становила в середньому 9500 кг, а у стаді № 3 – 5900 кг. Зокрема, технології утримання і організації годівлі, склад раціонів були дуже схожі. Генетична складова у даному прикладі була аналогічною, в обох підприємствах вирощували племінних тварин української чорно-рябої молочної породи вітчизняної селекції зі значною часткою голштинізації. Тому можна зробити попередній висновок щодо умовно меншого впливу на понаднормове вибуття корів з діагнозом “хронічна неплідність” внаслідок генетичних, кормових та експлуатаційних чинників, а відповідно – зростання ролі якісного ветеринарного супроводу поголів’я на всіх етапах вирощування і господарського використання. Діагностика є початковим і ключовим етапом виявлення та чіткої ідентифікації шкодочинних факторів негативного впливу довкілля на фертильність кожної корови і дійного стада загалом, тому методики її удосконалення демонструють шляхи оптимізації терапевтичних схем гінекологічного лікування і профілактики неплідності молочних стад з високим генетичним потенціалом. Результати наших досліджень показали необхідність подальших науково-виробничих випробувань в

умовах реальних підприємств, що вимагає організації навчальної діяльності з удосконалення навичок ветеринарних спеціалістів (Sidashova, 2018; Sidashova et al., 2019).

Висновки

Експериментально встановлено, що серед незапліднених корів (n = 552) чотирьох племінних стад різних молочних порід шляхом комплексного гінекологічного обстеження (УЗД + диференційна пальпаторна діагностика) поширені хронічні запальні патології матки з візуально нечіткою або прихованою симптоматикою: у середньому випадків хронічного латентного ендометриту виявлено *in vivo* у дійному стаді 42,15 %, з коливаннями у різних господарствах від 12,06 до 67,51 % (P < 0,05).

Експериментально встановлено, що у 39,40 % обстежених хронічний ендометрит ускладнений поліоргічною патологією у вигляді хронічного спайкового сальпінгіту (латерального розташування або білатерально). В різних господарствах коливання поліоргічної гінекологічної патології суттєво різнились: від 7,18 до 83,65 % всіх *in vivo* діагностованих корів.

Використання диференційної пальпаторної діагностики за латеральним принципом показало, що однобічний хронічний сальпінгіт у дійних корів (зліва або справа) спостерігався в середньому у 32,25 % (коливання від 3,09 до 16,35 %), а білатерально – у 7,32 % (коливання від 4,64 до 67,31 %), що свідчило про значний рівень в окремих господарствах поширення незворотної хронічної неплідності та втрату значних генеративних ресурсів породи племінних тварин.

Експериментально встановлено наявність склеротичних спайкових змін у тканинах яєчників *in vivo* у вигляді симптомів овосальпінгітів і овофоритів: в середньому 1,31 % (коливання від 0,00 до 5,53 %), що свідчило про втрату генеративної і гормональної функції гонад високопродуктивних корів у процесі хронізації ендометриту (P < 0,01).

Порівняння рівней поширення хронічних латентних ендометритів і хронічних сальпінгітів серед корів основного стада (n = 552) і серед групи (n = 116) вибраних, внаслідок численних неефективних осіменіння, показало значний ріст поліоргічної гінекологічної патології і збільшення випадків незворотної втра-

ти фертильності. Так, хронічних латентних ендометритів у вибрактованих самиць було більше на + 33,98 %, хронічних злипливих сальпінгітів і овосальпінгітів – на +30,77 %, що свідчило про накопичення наслідків шкочинних факторів руйнації морфології тканин репродуктивного тракту з поступовою втратою генеративної і секреторної функцій окремих органів.

Експериментально встановлено серед племінних високопродуктивних корів різних господарств значне поширення процесів хронізації запальних гінекологічних патологій, характер патогенезу яких поступово набуває поліорганного і незворотного розвитку, що істотно скорочує термін виробничого використання молочних корів і гальмує селекційний прогрес породи.

Аналіз даних (*in vivo*), отриманих в чотирьох різних молочних промислових підприємствах, вказує на необхідність удосконалення методологічних підходів до діагностики гінекологічних запальних хвороб з латентним протіканням та наукового пошуку адекватних схем генікологічної терапії, яка акцентує увагу на збереженні генеративної функції органів репродуктивного тракту самиць ВРХ.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

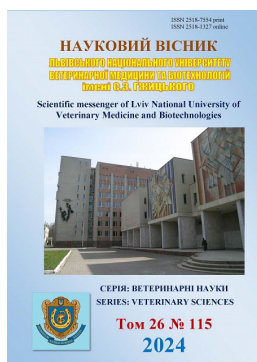
References

- Babik, N. P. (2017). Vplyv henotypovykh chynnykiv na tryvalist i efektyvnist dovichnoho vykorystannia koriv holshtynskoi porody. Rozvedennia i henetyka tvaryn, 53, 61–69. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/rgt_2017_53_10 (in Ukrainian).
- Chekan, O. (2023). The role of obstetrical diseases in the development of subclinical metritis. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 25(110), 9–15. DOI: 10.32718/nvlvet11002.
- Gutyj, B., Goralskyi, L., Mylostyvyi, R., Sokulskyi, I., Stadnytska, O., Vus, U., Khariv, I., Martyshuk, T., Leskiv, K., Vozna, O., Adamiv, S., & Petrychka, V. (2024). The influence of “Butaselmavit” on the antioxidant status of the cows’ organisms during the development of endotoxemia. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 26(114), 210–216. DOI: 10.32718/nvlvet11431.
- Humennyi, O. H. (2016). Metryty koriv v hospodarstvakh Ukrainy: materialy mizhnarodnoi konferentsii “Efektyvni veterynarni tekhnolohii”, 11.05.2016. Odesa, 26–27 (in Ukrainian).
- Humennyi, O. H., Sidashova, S. O., & Stryzheniuk, V. S. (2019). Poshyrenist khronichnykh asotsiirovanykh subk-linichnykh endometritiv v stadakh molochnykh porid promyslovyykh ferm. Mizhnar. nauk.-praktych. konf. “Aktualni problemy epizootolohii ta zaraznykh khvorob tvaryn”, prysviach. 80-richchiu vid dnia narodzhennia prof. Atamasia V. Ya.: tezy. Odesa, 24–26.10.2019 (in Ukrainian).
- Katsaraba, O., Stefanyk, V., Kostyshyn, Y., Sachuk, R., & Kulinich, O. (2018). Application of intrauterine aerosol preparation for the treatment of cows with postpartum complications. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 20(87), 55–59. DOI: 10.15421/nvlvet8711.
- Kharuta, H. H., & Baban, O. A. (2009). Poshyrenist hipoplazii yaiechnykh koriv u strukturi hinekolohichnykh khvorob zalezno vid viku, produktyvnosti i kilkosti laktatsii. Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarynoho universytetu. Seriya “Veterynarna medytsyna”, 8(19), 133–137 (in Ukrainian).
- Kharuta, H. H., Plakhotniuk, I., & Baban, O. (2008). Dyferentsiina diahnostyka hipofunktsii i hipoplazii yaiechnykh u koriv. Veterynarna medytsyna Ukrainy, 9, 34–37 (in Ukrainian).
- Kharuta, H. H., Podvaliuk, D. V., & Kraievskyi, A. Y. (2008). Metody doslidzhennia statevykh orhaniv i molochnoi zalozy u velykoi rohatoi khudoby. Bila Tserkva, 2, 65–72 (in Ukrainian).
- Kharuta, H. H., Podvaliuk, D. V., & Vlasenko, S. A. (2009). Rekomendatsii z vykorystannia sonohrafiu i vidtvorenni tvaryn. Bila Tserkva (in Ukrainian).
- Koreyba, L. (2018). Clinical and haematological indices of the cows for acute catarrhal-purulent endometritis. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 20(92), 121–124. DOI: 10.32718/nvlvet9225.
- Lozynskyi, I., Gutyj, B., Ivashkiv, R., Ilchysyn, M., Martyshuk, T., Todoriuk, V., Dashkovskyi, O., Magrelo, N., SusH., Voriak, V., & Vus, U. (2023). The state of the body’s immune system of beef cows with signs of endotoxemia. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 25(112), 78–82. DOI: 10.32718/nvlvet11213.
- Mazur, N. P., Fedorovych, V. V., Fedorovych, E. I., Fedorovych, O. V., Bodnar, P. V., Gutyj, B. V., Kuziv, M. I., Kuziv, N. M., Orikhivskyi, 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.
- Mylostyvyi, R. V., & Karlova, L. V. (2017). Produktivne dovholittia holshtynskykh koriv yevropeiskoi selektsii riznykh liniu v umovakh promyslovoi tekhnolohii. Rozvedennia i henetyka tvaryn, 54, 65–71. URL: <http://dspace.dsau.dp.ua/jspui/handle/123456789/455> (in Ukrainian).
- Mylostyvyi, R., Lesnovskaya, O., Karlova, L., Khmeleva, O., Kalinichenko, O., Orishchuk, O., Tsap, S., Begma, N., Cherniy, N., Gutyj, B., & Izhboldina, O. (2021). Brown Swiss cows are more heat resistant than Holstein cows under hot summer conditions of the continental climate of Ukraine. J Anim Behav Biometeorol, 9(4), 2134. DOI: 10.31893/jabb.21034.
- Mylostyvyi, R., Sejan, V., Izhboldina, O., Kalinichenko, O., Karlova, L., Lesnovskaya, O., Begma, N., Marenkov, O., Lykhach, V., Midyk, S., Cherniy, N., Gutyj, B., & Hoffmann, G. (2021). Changes in the Spectrum of Free Fatty Acids in Blood Serum of Dairy Cows during a Prolonged Summer Heat Wave. Animals, 11(12), 3391. DOI: 10.3390/ani1123391.

- Ordin, Yu. M. (2016). Otsinka metodiv likuvannia koriv za deiakykh funktsionalnykh rozladiv yaiechnykh. Zbirnyk tez dopovidei naukovo-praktychna internet konferentsiia, 5-6 kvitnia 2016 r. Poltava "Vyrishennia suchasnykh problem u veterynarii medytsyni". Poltava, 150–152 (in Ukrainian).
- Petrovska, I. R., Salyha, Yu. T., & Vudmaska, I. V. (2022). Statystychni metody v biolohichnykh doslidzhen-niakh: navchalno- metodychnyi posibnyk. Kyiv: Ahrarna nauka (in Ukrainian).
- Roman, L., Broshkov, M., Popova, I., Hierdieva, A., Sidashova, S., Bogach, N., Ulizko, S., & Gutj, 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. URL: <https://www.ujecology.com/articles/influence-of-ovarian-follicular-cysts-on-reproductive-performance-in-the-cattle-of-new-ukrainian-red-dairy-breed.pdf>.
- Roman, L., Sidashova, S., Danchuk, O., Popova, I., Levchenko, A., Chorny, V., Bobritska, O., Gutj, B. (2020). Functional asymmetry in cattle ovaries and donor-recipients embryo. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(3), 139–146. URL: <https://www.ujecology.com/articles/functional-asymmetry-in-cattle-ovaries-and-donorrecipients-embryo.pdf>.
- Roman, L., Sidashova, S., Korejba, L., Ulyzko, S., Todarov, N., Popova, I., Chorny, V., Kushnir, V., & Gutj, B. (2022). Measuring of the heifers ovaries and probiotic defence of the mucous membranes. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 24(108), 69–74. DOI: 10.32718/nvlvet10810.
- Roman, L., Sidashova, S., Popova, I., Stepanova, N., Chorny, V., Sklyarov, P., Koreyba, L., Gutj, B. (2020). The impact of lateral localization of the procedure on the effectiveness of transplants of pre-implantation embryos in heifers-recipient. *Ukrainian Journal of Ecology*, 10(6), 121–126. URL: <https://www.ujecology.com/articles/the-impact-of-lateral-localization-of-the-procedure-on-the-effectiveness-of-transplants-of-preimplantation-embryos-in-.pdf>.
- Sachuk, R., Stravsky, Y., Katsaraba, O., Zhigalyuk, S., Kulinich, O., & Kushnir, M. (2019). Monitoring of obstetric pathology of cows in agricultural enterprises of Rivne region. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(96), 117–123. DOI: 10.32718/nvlvet9621.
- Sharapa, H. S., & Boiko, O. V. (2018). Reproduktyvna zdarnist i molochna produktyvnist koriv riznykh porid. *Rozvedennia i henetyka tvaryn*, 55, 219–224 (in Ukrainian).
- Sidashova, S. O. (2017). Bakteriina terapiia khronichnoi neplidnosti koriv. *Visnyk SNAU. Veterynarna medytsyna*, 11(41), 147–154 (in Ukrainian).
- Sidashova, S. O. (2018). Metodychni pidkhody do orhanizatsii intensyvnykh treninhiv na robochomu misti zoove-tspetsialistiv z pytan reproduktyvnoi biotekhnolohii tvaryn. *Materialy 5 Mizhnarod. nauk.-prakt. konf. "Suchasni aspekty tekhnolohii vyrobnytstva i pererobky produktsii tvarynnytstva"*. 25–26.10.2018. Mykolaiv, MNAU (in Ukrainian).
- Sidashova, S. O., & Kovtun, S. I. (2018). Henetychni resursy plemynnykh molochnykh stad: selektsiyni potentsial krashchykh koriv ta efektyvnist yikh vidt-vorennia. *Rozvedennia i henetyka tvaryn*, 55, 209–219 (in Ukrainian).
- Sidashova, S. O., Avdosieva, I. K., Hryhorasheva, I. M., & Humennyi, O. H. (2019). Zastosuvannia probi-otychnoho preparatu "Multybaktern veterynarnyi Bs+La suspenziia" dlia pidvyshchennia efektyvnosti trans-planatsii embrioniv velykoi rohatoi khudoby: metodychni rekomendatsii. *DNKI vetpreparativ i kormovykh dobavok, Lviv-Odesa* (in Ukrainian).
- Sidashova, S. O., Shcherbak, O. V., Kovtun, S. I., & Trotskyi, P. A. (2019). Orhanizatsiia treninhiv z di-ahnostyky stanu yaiechnykh koriv i telyts za trans-plantatsii embrioniv. *Chubynske* (in Ukrainian).
- Sidashova, S., & Gumenny, O. (2017). Rhythm of sexual cycles of cows and level of the hidden early embrionic mortality. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(78), 121–128. DOI: 10.15421/nvlvet7825.
- Sidashova, S., Gutj, B., Magrelo, N., Martyschuk, T., Dvilyuk, I., Sus, H., Vus, U., & Todoruk, V. (2024). Evaluation of the signals of the comfort of keeping dairy cows in the conditions of an industrial dairy complex. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 26(114), 78–85. DOI: 10.32718/nvlvet11412.
- Sidashova, S., Gutj, B., Martyschuk, T., & Shneider, V. (2024). Chronic latent inflammatory processes of re-productive organs of dairy cows. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 26(113), 202–211. DOI: 10.32718/nvlvet11330.
- Sidashova, S., Sherbak, O., Kovtun, S., Stahovskyy, V., & Stryzhak, T. (2021). Formation of a cryobank of high producing cows embryos in the conditions of the industrial dairy complex. *CRYO2021. Virtual meet-ing. The 58th annual meeting of the society for cryobi-ology. Abstracts. July 20-23, 2021*.
- Sidashova, S.O., Stryzhak, T.A., & Stadnytska, O. I. (2020). Dynamika produktyvno-reproduktyvnykh pokaznykh koriv plemiadra pviddenoi populiatsii novostvorennoi ukrainskoi chervonoj molochnoi porody. *Naukovo-informatsiyni visnyk bioloho-tekhnolohichnoho fakultetu. Kherson: KhDAU, VTs "Kolos"*, 13, 161–167 (in Ukrainian).
- Smolianinov, B. V., Parshyn, P. V., & Krotkykh, M. O. (2012). Prychyny neplidnosti u koriv u hospodarst-vakh Odeskoi oblasti. *Mizhvidomchyi tematychnyi naukovyi zbirnyk*, 80, 551–552 (in Ukrainian).
- Stefanyk, V., Stravskyy, Y., & Kobylukh, I. (2017). Superpo-sitions with nanoparticles of the ferum in the correction of the antioxidant protection of the organism of cows after calving. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(82), 201–204. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/1366>.
- Vlizlo, V., Prystupa, O., Slivinska, L., Hu, S., Voloshyn, R., Gutj, B., Maksymovych, I., Shcherbaty, A., Lychuk, M., Chernushkin, B., Leno, M., Rusyn, V., Drach, M., Fedorovych, V., Zinko, H., & Yaremchuk, V. (2021).

Protein-synthesizing, bile-forming, urea-forming and carbohydrate functions in cows with fatty degeneration of the liver. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 23(104), 60–65. DOI: 10.32718/nvlvet10410.

Zakon Ukrainy “Pro veterynarnu medytsynu” (Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy (VVR), 1992, № 36, st.531) (iz zminamy vid 30.06.2023). URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2498-12#Text> (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/nvlvet11506
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616/922:616-084:636.2

Complex treatment of hoof of cows for ungulomycosis

N. M. Khomyn[✉], V. V. Pritsak, I. I. Ihlitskyi, S. V. Tsisinska

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

Article info

Received 23.05.2024
Received in revised form
24.06.2024
Accepted 25.06.2024

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

Khomyn, N. M., Pritsak, V. V., Ihlitskyi, I. I., & Tsisinska, S. V. (2024). Complex treatment of hoof of cows for ungulomycosis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 42–50. doi: 10.32718/nvlvet11506

Under modern conditions of cattle breeding, ungulates are often exposed to various adverse factors associated with errors in feeding, maintenance, and corrective cleaning during the winter-stalling period. The hooves of cows, which are often exposed to multiple adverse factors, lead, for the most part, to the development of inflammatory processes in the area of the base of the skin of the sole, sometimes to septic genesis, complicated by keratomycetes. As is known, the purulent inflammatory process in this part of the hoof contributes to a decrease in the productivity of cows, which leads to significant economic losses. Treatment methods used for ungulomycosis do not always give the desired effect. Therefore, the work aimed to develop an effective method of treating cows with ungulomycosis using medicinal substances with antibacterial, antifungal, stimulating, and regenerative action. For research, two groups of cows with 5 animals each were formed, selected according to the principle of analogs regarding the nature and location of the pathological process. For therapeutic purposes, cows of both groups underwent orthopedic cleaning, irrigation of the surface of the soles of the hooves with a 0.02 % furacilin solution. A finely grated (separately) mixture of potassium permanganate boric acid and syntomycin liniment was applied to the affected area of the animals of the control group, and povidone-iodine 10 % in combination with a 30 % dimexide solution was applied to the surface of the hoof (corolla and sole area) of the experimental group after novocaine blockade, diluted with a 0.5 % solution of novocaine and, subsequently, levomekol ointment; carried out ultraviolet irradiation of cows with a PRK lamp at a dose of 250 mer/hour/m² for 25 min. three times a week, and 10 ml of trivit was administered intramuscularly three times a week. Animals of both groups were given antiseptic bandages and orthopedic shoes on their hooves. Clinical, biochemical, biophysical, immunological, bacteriological, mycological, and statistical studies were conducted. The proposed method of treatment improves the quality of the hoof horn, ensures the restoration of its structure, contributes to the elimination of defects, and shortens the duration of treatment by 10 days, which is confirmed by the results of the research conducted.

Key words: cows, hoof horn, ungulomycosis, keratomycetes, orthopedic cleaning, povidone-iodine, trivit, levomekol, treatment.

Комплексне лікування копитець корів за унгуломікозу

Н. М. Хомин[✉], В. В. Прицак, І. І. Іглицький, С. В. Цісінська

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

За сучасних умов ведення скотарства копитця худоби у зимово-стійловий період утримання нерідко зазнають дії різних несприятливих факторів, пов'язаних з похибками у годівлі, утриманні, коректуючій розчистці. 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. Як відомо, гнійний запальний процес у цій ділянці копитець сприяє зниженню продуктивності корів, що призводить до значних економічних втрат. Методи лікування, які застосовують за унгуломікозу, не завжди дають бажаний ефект. Тому метою роботи була розробка ефективного методу лікування корів за унгуломікозу з використанням лікарських речовин антибактеріальної, антимікотичної, стимулювальної та регенеративної дії. 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 проводили ортопедичну розчистку, зрошування поверхні підшви копитець розчином 0,02 % фурациліну. На уражену ділянку тваринам контрольної групи наносили тонкотерту (нарізно) суміш калію перманганату і борної кислоти та лінімент синтоміцину, а дослідної – після новокаїнової блокади на поверхню копитця (ділянка вінчика і підшви) аплікували йод печаєвський 10 % у поєднанні з 30 % розчином димексиду, розведеного 0,5 % розчином новокаїну та згодом мазь левомеколь; проводили ультрафіолетове опромінення корів лампою ПРК у дозі 250 мер/год/м² тривалістю 25 хв тричі на тиждень, і тричі на тиждень внутрішньом'язово вводили по 10 мл тривіту. Тваринам обох груп на копитця накладали антисептичні пов'язки та ортопедичні черевики. Були проведені клінічні, біохімічні, біофізичні, імунологічні, бактеріологічні, мікологічні та статистичні дослідження. Встановлено, що запропонований метод лікування дає можливість поліпшити якість копитцевого рогу, забезпечує відновлення його структури, сприяє усуненню дефектів та скороченню тривалості лікування на 10 діб, що підтверджується результатами проведених досліджень.

Ключові слова: корови, копитцевий ріг, унгуломікоз, кератоміцети, ортопедична розчистка, йод печаєвський, тривіт, левомеколь, лікування.

Вступ

Як відомо, збільшення частоти та поширеності травматизму у скотарстві визначає необхідність удосконалення методів лікування ортопедично хворих тварин (Lischer et al., 2002; De Vries & Marcondes, 2020; Krupnyk et al., 2021). Однією з передумов успішного лікування, зокрема хворих на унгуломікоз корів, є своєчасне виявлення захворювання та усунення причин, що його викликали, оскільки на початкових стадіях розвитку хвороба досить часто має прихований характер, але може викликати надалі розвиток різноманітних ускладнень, основою яких є запальний процес (Hassall et al., 1993; Panko, 2000; Bond, 2010; Mylostyvyi et al., 2021; Mysak et al., 2021). Просякання епідермісу копитець ексудатом, накопичення його у копитцевому розі, часто у поєднанні з набутим порушенням постави копитець, є основними причинами утворення деформованих копитець. Відкладання в епідермісі копитець білково-полісахаридних сполук, порушення процесу відшарування кератиноцитів на поверхні підшви копитець супроводжується надмірним відростанням рогу копитець (Panko et al., 1998; Kozij et al., 2000; Borysevyeh et al., 2004; Borysevyeh et al., 2007).

Патологічно деформаційні процеси у копитцях посилюються у зв'язку з порушеннями постави кінцівок та змінами векторів опорно-силових навантажень у структурах копитець. Ці два фактори здебільшого і визначають виникнення копитцевої деформації. Надмірно й неправильно відростаючий ріг тисне насамперед на сосочки та листочки основи шкіри, посилюючи запалення і дистрофічні процеси, наслідком чого

є ще більше відростання рогу, що призводить до виникнення своєрідного “порочного кола” (Borysevyeh et al., 2007; Khomyn et al., 2017; 2020) і робить його менш стійким до впливу бактерій та мікроскопічних грибів, які потрапляють через різноманітні мікротріщини (Izdepskyi et al., 2008). Створюються передумови для вільного поширення грибової флори, яка, за умов відсутності ортопедичної розчистки копитець, накопичується у видозміненому епідермісі, зокрема підшви копитець, і проявляє свою патогенну дію. Загальноприйняті методи лікування не завжди дають бажаний ефект; через вибракування таких тварин господарства зазнають економічних збитків.

Мета дослідження

Метою роботи було розроблення ефективного методу лікування корів за унгуломікозу з використанням лікарських речовин антибактеріальної, антимікотичної, стимулювальної та регенеративної дії.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили у господарствах Львівської області на коровах чорно-рябї породи у зимово-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 – здорові тварини, дослідна – хворі на гнійний пододерматит, ускладнений кератоміцетами (табл. 1).

Таблиця 1

Схема дослідіу

Група тварин	
Контрольна	Дослідна
Ортопедична розчистка, зрошування поверхні підшви копитець 0,02 % розчином фурациліну	
1. Тонкотерта (нарізно) суміш калію перманганату і борної кислоти	1. Новокаїнова блокада на поверхню копитця (ділянка вінчика і підшви)
2. Лінімент синтоміцину	2. Йод печаєвський 10 % у поєднанні з 30 % розчином димексиду, розведеного 0,5 % розчином новокаїну
	3. Мазь левоміколь
	4. Ультрафіолетове опромінення корів лампою ПРК у дозі 250 мер/год/м ² тривалістю 25 хв двічі на тиждень
	5. Внутрішньом'язове введення по 10 мл тривіту тричі на тиждень
Антисептична пов'язка та ортопедичні черевики	

З лікувальною метою коровам обох груп проводили ортопедичну розчистку, зрошування поверхні підшви копитець розчином 0,02 % фурациліну. На уражену ділянку тваринам контрольної групи наносили тонкотерту (нарізно) суміш калію перманганату і борної кислоти та лінімент синтоміцину, а дослідної – після новокаїнової блокади на поверхню копитця (ділянка вінчика і підшви) апікували йод печаєвський 10 % у поєднанні з 30 % розчином димексиду, розведеного 0,5 % розчином новокаїну, та згодом – мазь левомерколь; проводили ультрафіолетове опромінення корів лампою ПРК у дозі 250 мер/год/м² тривалістю 25 хв тричі на тиждень, і тричі на тиждень внутрішньом'язово вводили по 10 мл тривіту.

Тваринам обох груп на копитця накладали антисептичні пов'язки та ортопедичні черевики. Були проведені клінічні, біохімічні, бактеріологічні, мікологічні, гістоморфологічні та статистичні дослідження.

Йод печаєвський – антисептичний препарат із широким спектром протимікробної дії щодо бактерій, деяких вірусів, грибків і найпростіших мікроорганізмів.

Левоміколь мазь. Комбінований препарат для місцевого застосування з антимікробною, репаративною та протизапальною дією. Діючі речовини: хлорамфенікол, метилурацил; Хлорамфенікол (левоміцетин), що входить до складу препарату, чинить антимікробну дію, механізм якої пов'язаний з порушенням синтезу білків мікроорганізмів. Діє бактеріостатично, активний щодо грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів (стафілокок, стрептокок, синьогнійна і кишкова палички). Метилурацил прискорює процеси клітинної регенерації, сприяє рубцюванню ран та чинить протизапальну дію. Поліетиленоксидна основа адсорбує рановий ексудат, потенціює активність лікарських речовин.

Диметилсульфоксид має особливість проникати крізь біологічні мембрани, включаючи бар'єри шкіри, реалізуючи таким чином свої специфічні ефекти, до яких належать протизапальний, антипіретичний, анальгетичний, антисептичний, помірний фібринолітичний. Препарат підсилює проникнення крізь непошкоджену шкіру і слизові оболонки лікарських засобів (здатність до транспортування).

Новокаїнова блокада захищає кору головного мозку від больових імпульсів, замінюючи сильне подразнення "слабким", що сприяє відновленню рівноваги між процесами збудження та гальмування, завдяки чому нормалізуються порушені патологічним процесом взаємозв'язки між корою головного мозку та внутрішніми органами. Своєю чергою це призводить до покращення трофіки тканин, що позитивно впливає на перебіг захворювання.

Новокаїн-хлористоводнева сіль складного ефіру параамінобензойної кислоти та діетиламіноетанолу, параамінобензойна кислота має антигістамінну та антитоксичну дію, діетиламіноетанол – анестезувальну.

Тривіт – комплексний полівітамінний препарат, який застосовується для корекції та нормалізації об-

мінних процесів у тварин. Вітаміни (А, Д₃, Е), що входять до складу препарату, беруть участь у біохімічних процесах в організмі тварин.

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, фарбованих за Грамом. Встановлення видового складу мікроскопічних грибів проводили шляхом мікроскопії зруйнованого рогу та висівання на живильні середовища. Вміст волог копитцевого рогу 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. Кератози визначали за методом Корфілда у модифікації І. А. Макара. Визначення SH-груп та Сульфору проводили хімічними методами, вмісту Кальцію, Купруму та Цинку – методом атомно-абсорбційної спектrophотометрії, а Фосфору – фотоколориметричним методом за А. Т. Усовичем. Крім того, щільність копитцевого рогу визначали шляхом гідростатичного зважування, а твердість – за методом Бринеля. Дослідження проводили за загальноприйнятими методиками.

При проведенні дослідження були дотримані вимоги Закону України № 3447-IV "Про захист" від 16.10.2012 року, "Загальних етичних принципів експериментів над тваринами", схвалених на Першому національному конгресі з біоетики, вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для досліджень та інших наукових цілей, та Загальної декларації про гуманне поводження з тваринами (Універсальна Декларація, 2007).

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою програми Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Для оцінки достовірності використовували F-критерій Фішера. Різницю між отриманими даними визнавали вірогідною за $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Результати та їх обговорення

Як показали результати досліджень, загальний стан тварин, хворих на унгуломікоз, був пригнічений, температура, пульс та дихання перебували у межах норми. Мала місце сильна кульгавість опираючої кінцівки, больова реакція у ділянці підшви, підвищена місцева температура в ділянці вінчика м'якуша, міжпальцевого склепіння, підшви та стінки копитця; яскраво виражена пульсація пальцевих артерій. По всій підшві знаходили порожнини, заповнені зруйнованим рогом, який мав вигляд сироподібної крихкої маси, а також дефекти копитцевого рогу з різномірними краями і дном та сліпокінцевими ходами (рис. 1–2).

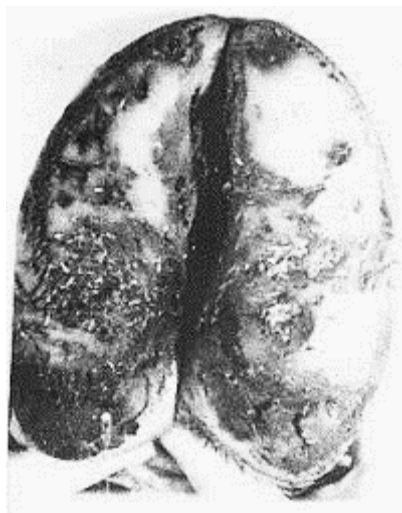


Рис. 1. Вогнищеве гниття поверхні копитцевої підошви з утворенням дефектів

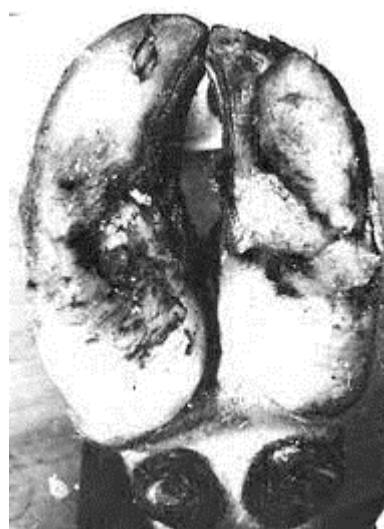


Рис. 2. Вогнищеве гниття підошви з розшаруванням рогової субстанції і утворенням сліпокінцевих ходів

Мікрофлора вмісту, отриманого з підошви копитця 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 копитця, оскільки, як відомо, пред-

ставники цих видів мікроскопічних грибів володіють яскраво вираженими кератолітичними властивостями.

До початку лікування були проведені дослідження окремих біохімічних та біофізичних показників копитцевого рогу. Так, уміст вологи в епідермісі копитця в обох групах перебував у межах $34,6 \pm 0,56$ проти $35,1 \pm 0,49$ % (рис. 3).

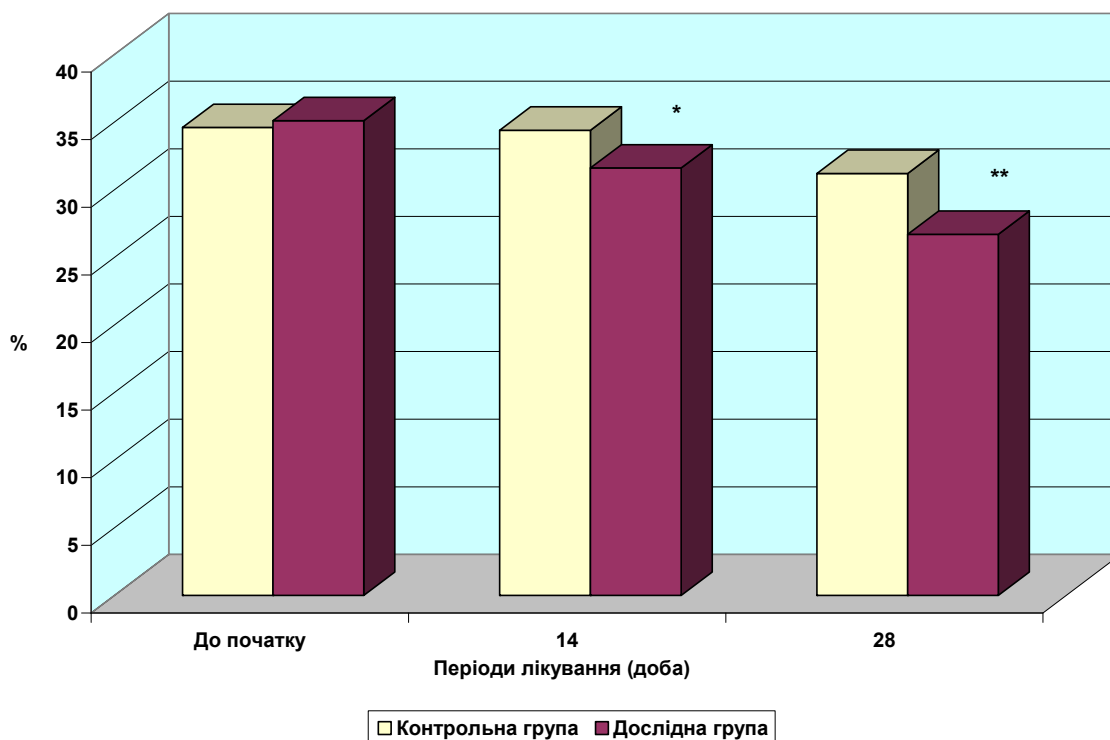


Рис. 3. Зміни вмісту вологи в копитцевому розі хворих корів у процесі лікування, % (* – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$), $n = 5$

Кількість SH-груп у дослідній групі становила $48,4 \pm 0,67$, тимчасом як у контрольній – $48,9 \pm 0,82$ мкмоль/г (рис. 4).

Дослідженнями ряду вчених встановлено важливе біологічне значення цього показника. Так,

сульфгідрильні групи є необхідними для дії гідролітичних та окисно-відновних ферментів. Вони перебувають у складі коензиму ацетилювання КоА, активний центр якого є ланкою, що зв'язує вуглеводний, жировий та білковий обміни (Kravtsiv & Paska, 2003).

Як відомо, важливим показником якості копитцевого рогу є наявність певного співвідношення кератоз, отриманих шляхом фракціонування епідермісу копитця.

Кератози – поліпептиди, з'єднані дисульфідними зв'язками. Причиною хімічної відмінності різних кератинів є різне співвідношення фракцій кератоз. Особливе значення мають γ -кератози, тобто лабільний білок з високим вмістом Сульфору.

Нашими дослідженнями встановлено незначне порушення співвідношення кератоз у копитцевому розі корів дослідної групи, яке полягало у збільшенні концентрації α - та зменшенні – γ -фракції. Співвідношення α -, β - та γ кератоз у тварин дослідної групи складало 65,4 : 18,4 : 16,2, а контрольної – 65,2 : 17,8 : 17,0. Такі зміни, очевидно, сприяли погіршенню якості рогу копитця піддослідних тварин (рис. 5).

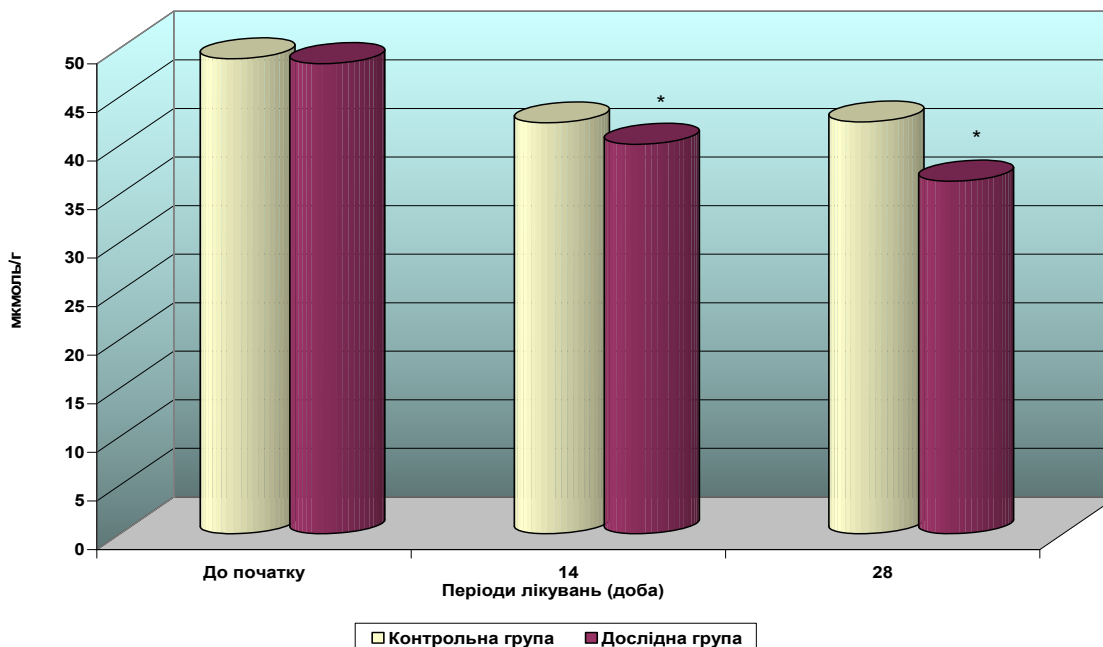


Рис. 4. Динаміка вмісту SH-груп у копитцевому розі хворих корів у процесі лікування, мкмоль/г, n = 5

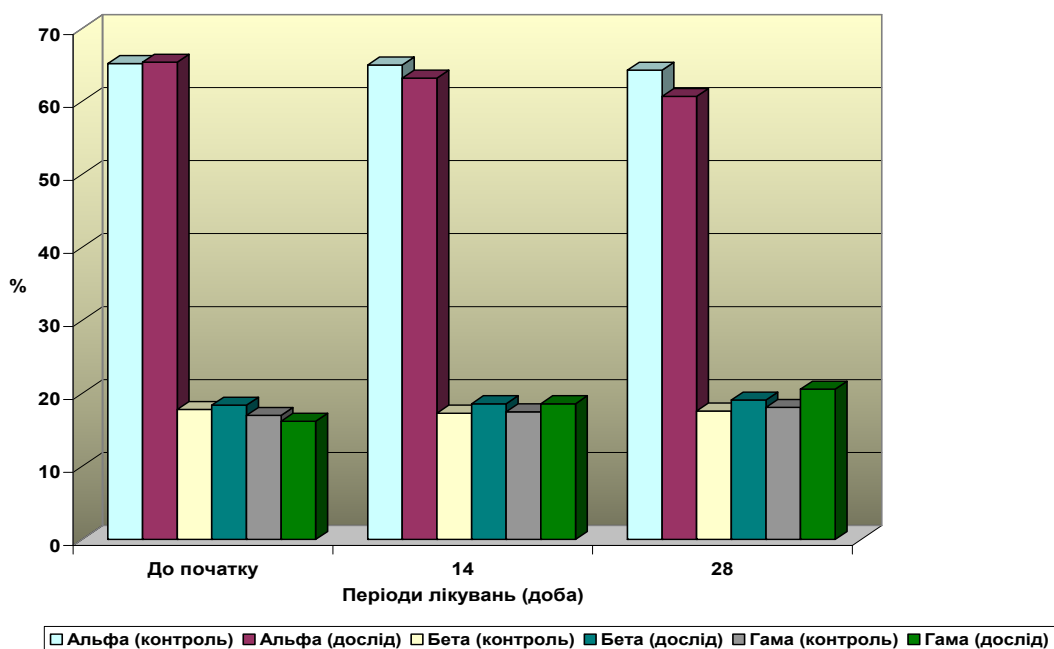


Рис. 5. Співвідношення динаміки вмісту кератозу у копитцевому розі хворих корів у процесі лікування, %, (* – P < 0,05), n = 5

Водночас у копитцевому розі корів уміст Сульфору та Цинку був на рівні нижньої межі фізіологічної норми і становив у тварин дослідної групи $3,96 \pm 0,408$ проти $14,17 \pm 0,207$ г/кг, а у контрольної –

$15,67 \pm 0,116$ проти $15,58 \pm 0,202$ г⁻³/кг (рис. 6 ,7). Концентрація Купруму в копитцевому розі до початку проведення лікування перебувала в межах 22,13–22,63 г⁻³/кг (рис. 8).

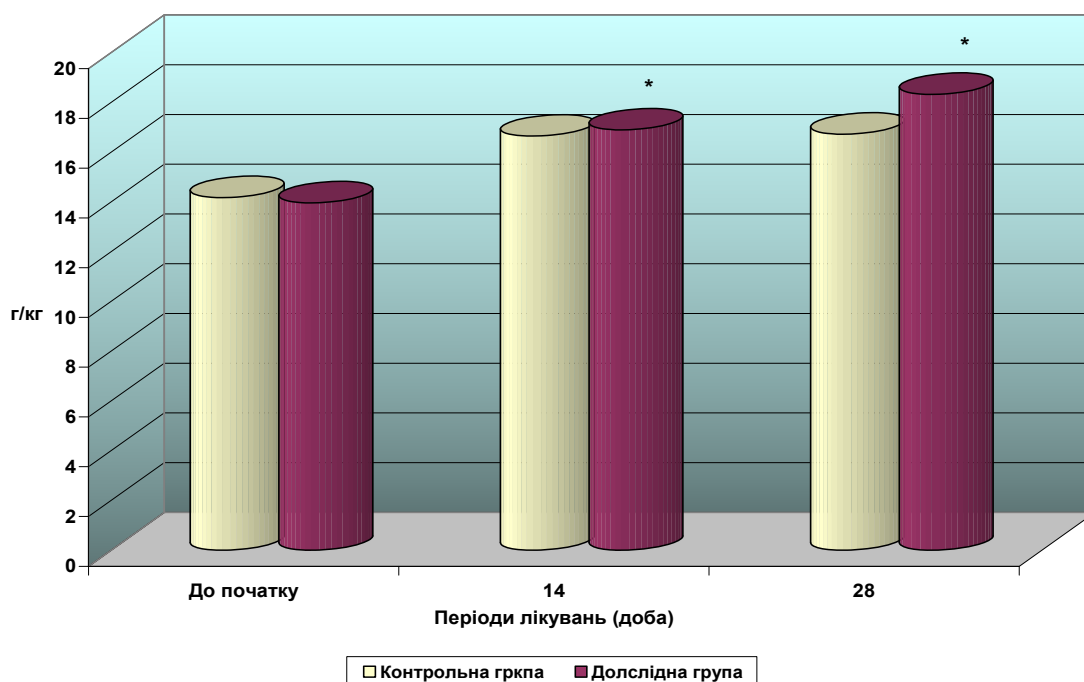


Рис. 6. Зміни вмісту Сульфуру в копитцевому розі хворих корів у процесі лікування, г/кг, $M \pm m$, $n = 5$

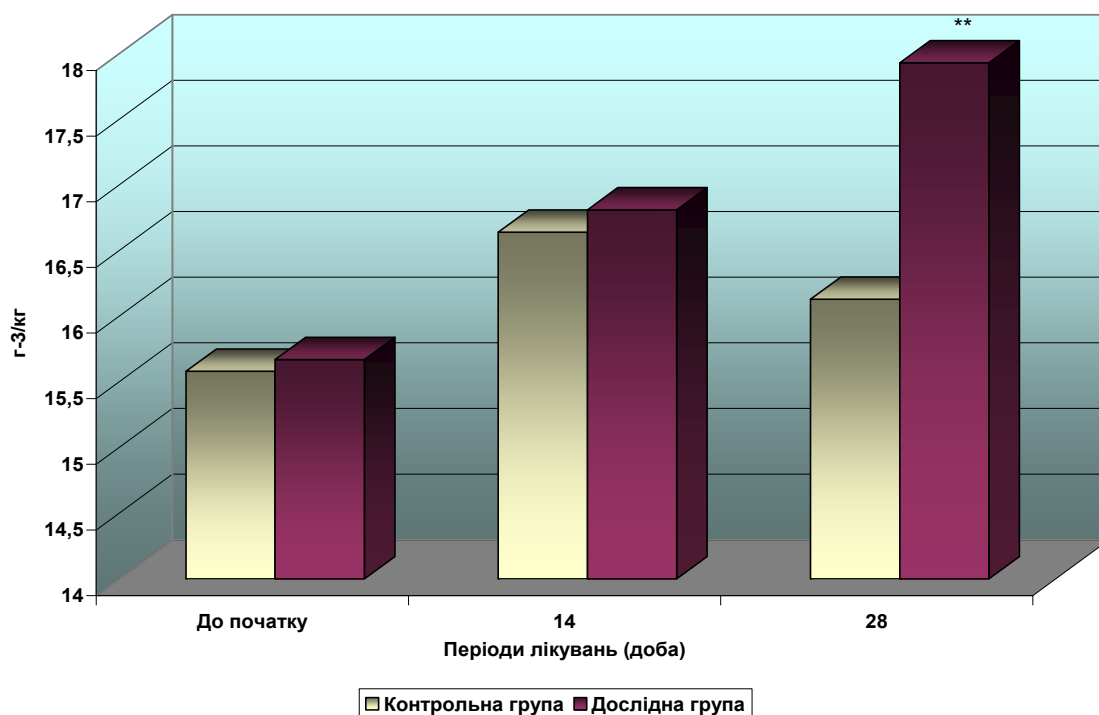


Рис. 7. Зміни вмісту Цинку у копитцевому розі хворих корів у процесі лікування, г-3/кг (* – $P < 0,05$), $n = 5$

Біологічна роль Сульфуру в забезпеченні якості копитцевого рогу полягає у включенні її у процес кератинізації, тобто перетворенні сульфгідрильних груп прекератину у дисульфідні – кератину. Іншими словами, перетворенні цистеїну в цистин. В організм Сульфур надходить з кормами, а також у вигляді підкормки і в процесі біохімічних перетворень всмоктується у кров, переважно у вигляді сірковмісних амінокислот, а саме: цистину, цистеїну та метіоніну (Dronyk et al., 1997; Sedilo, 2002).

Гістологічні дослідження основи шкіри копитця

корів, хворих на унгуломікоз, показали, що у тварин обох груп ознаки запалення основи шкіри мали пролонгований характер. У ділянці листочків захворювання проявлялося запальною гіперемією, переважно капілярної сітки останніх. Відомо, що капіляри і венули листочків дуже чутливі до дії гістаміну та інших біогенних амінів (Borysevych et al., 2004; Borysevych et al., 2007).

У зв'язку з цим пролонговану запальну гіперемію у листочках можна розглядати як результат дії біогенних амінів, утворення яких у перебігу запалення посилювалося. Це своєю чергою сприяло хронізації

гнійного пододерматиту. Виявлялися явища склерозування, дезінтеграції колагенового каркасу копитцевої дерми з ознаками гомогенізації фіброзної структури (рис. 9).

Отже, за відсутності раціонального лікування цього захворювання у зв'язку з посиленням продуку-

вання біогенних амінів у перебігу запальної реакції закономірно і неминуче розвиваються патологічні ознаки запалення основи шкіри копитець, симптоми якого на цій стадії хвороби набувають чітко вираженої клінічної картини.

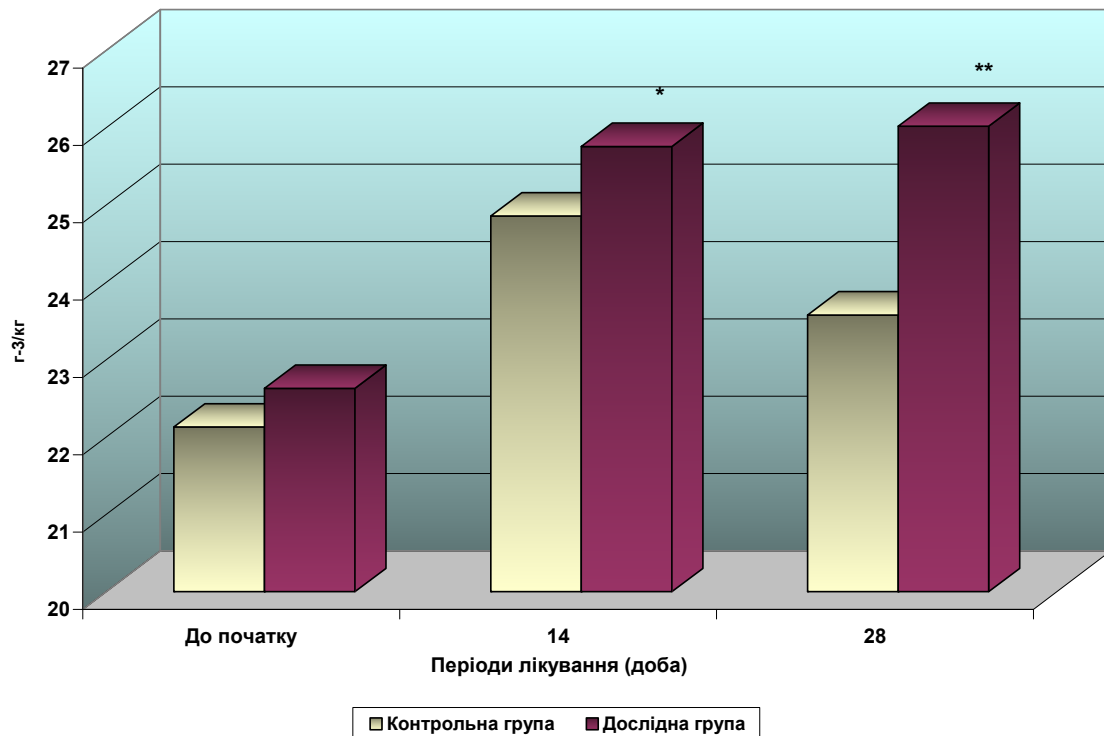


Рис. 8. Зміни вмісту Купруму в копитцевому розі хворих корів у процесі лікування, г⁻³/кг (* – $P < 0,05$), $n = 5$

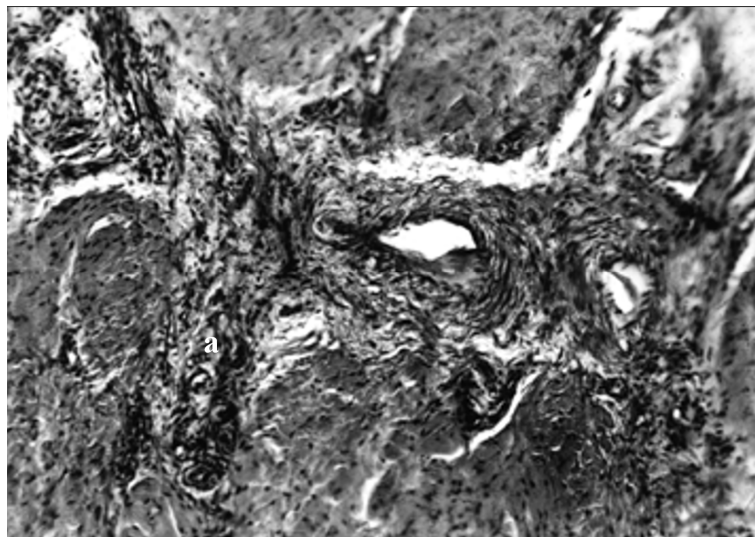


Рис. 9. Склероз і дезінтеграція фіброзної структури копитцевої дерми (а) (пікрофуксин, х 80)

На чотирнадцяту добу від початку лікування у тварин дослідної групи загальний стан був задовільний, болючість та підвищена місцева температура підшви відсутні. Тварини вільно опиралися на уражену кінцівку на відміну від корів контрольної групи, у яких частково збереглися ознаки місцевого запального процесу (кульгавість опираючої кінцівки, больова реакція у ділянці підшви, підвищена місцева температура в ділянці вінчика м'якуша, міжпальцевого

склепіння, підшви та стінки копитець).

Мали місце зміни біохімічних показників копитцевого рогу. Так, концентрація вологи знизилася на 2,8 % (абсолютних), а SH-груп – на 2,2 % стосовно контрольного показника, що становило відповідно $31,6 \pm 0,88$ проти $34,4 \pm 0,30$ % ($P < 0,02$) та $40,1 \pm 0,63$ проти $42,3 \pm 0,50$ мкмоль/г ($P < 0,05$) (рис. 3–4).

Відбулися зміни і щодо співвідношення кератоз; на 1,8 (абсолютних) зменшився вміст α -кератоз та на

2,0 % (абсолютних) вірогідно зросла концентрація γ -фракції. Співвідношення склало 63,2 : 18,6 : 18,2, що сприяло поліпшенню якості копитцевого рогу, тимчасом як у епідермісі копитець корів контрольної групи становило 65,0 : 17,3 : 18,2 (рис. 5).

У копитцевому розі тварин дослідної групи спостерігалася тенденція до незначного зростання вмісту Сульфуру, Купруму та Цинку відповідно на 1,5 % 3,6 та 1,0 % що в абсолютних величинах становило $16,89 \pm 0,082$ г/кг, $25,76 \pm 0,248$ г³/кг та $16,81 \pm 0,342$ г³/кг і позитивно вплинуло на стан епідермісу копитець (рис. 6–8).

На двадцять восьму добу від початку лікування симптомів захворювання у тварин дослідної групи не виявлено, тимчасом як у корів контрольної групи спостерігалася незначно виражена кульгавість та болючість за відсутності інших клінічних ознак запалення.

Так, у копитцевому розі дослідних тварин відбулися зміни величини окремих показників. Зокрема, вміст Купруму у тварин дослідної групи порівняно з вихідним періодом збільшилася на 15,0 %, що становило $26,02 \pm 0,449$ проти $22,63 \pm 0,202$ г³/кг, тимчасом як у корів контрольної групи – лише на 6,5 % і складало $23,58 \pm 0,390$ проти $22,13 \pm 0,550$ г³/кг, тимчасом як стосовно контрольного показника ця величина була більшою на 10,3 % (рис. 8).

Спостерігалась стабільна тенденція до збільшення концентрації Сульфуру від вихідного показника і вірогідне збільшення концентрації Сульфуру на 9,5 % порівняно з контрольним, що становить $18,32 \pm 0,398$ г/кг проти $16,72 \pm 0,374$ г/кг. За період лікування у тварин обох груп збільшився вміст Цинку. Так, величина цього показника у корів контрольної групи збільшилась на 3,5 % і складала $16,13 \pm 0,130$ г³/кг, тимчасом як у тварин дослідної – на 14,4 %, що становило $17,93 \pm 0,398$ г³/кг. Вірогідна різниця спостерігалась між дослідною і контрольною групами, яка полягала у збільшенні величини цього показника в корів дослідної групи на 11,2 % (рис. 6, 7).

Ці зміни певною мірою вплинули на інші біохімічні показники. Так, на 3,7 % і 4,5 % (абсолютних) вірогідно знизився вміст води, та на 14,4 % – SH-груп, що в абсолютних величинах складало $36,3 \pm 0,89$ проти $42,4 \pm 1,50$ мкмоль/г (рис. 3–4).

Спостерігалась зміна співвідношення фракцій білка, а саме: вірогідно зросла концентрація γ -кератоз на 2,0 та знизилася – α -кератоз на 2,5 % (абсолютних), що вказує на поліпшення якості копитцевого рогу. Воно складало у копитцевому розі дослідних тварин 60,7 : 19,1 : 20,2, тимчасом як у корів контрольної 64,3 : 17,6 : 18,1 (рис. 5).

Як показали результати гістологічних досліджень, на гістопрепаратах чітко проявлялася запальна гіперемія капілярно-венулярного русла сполучнотканинних листочків копитець корів контрольної групи, мала місце дилатація судин, стаз крові у них супроводжувався набряком.

У тварин дослідної групи основа шкіри копитець набула ознак гістологічної будови, характерних для норми. У епідермісі чітко диференціювалася його

клітинна будова зі збереженням характерних цитологічних і гістологічних показників пошарової епідермальної організації.

Роговий шар складався з кератиноцитів, з'єднаних між собою тонкими прошарками міжклітинного цементу, який на рівні краю підошви і підошовної поверхні деградував, що сприяло відшаруванню зношених кератиноцитів.

На нашу думку, вищезазначені зміни відбулися завдяки унікальним властивостям поєднаних у схемі лікування препаратів, які діють антисептично із широким спектром протимікробної дії, протизапально, антипіретично, анальгетично, помірно фібринолітично, покращують трофіку тканин і забезпечують репаративні процеси.

Отже, результати проведених досліджень показують, що на двадцять восьму добу лікування у тварин дослідної групи всі досліджувані показники повернулися до фізіологічної норми. На основі клінічних ознак та результатів біохімічних, бактеріологічних, мікологічних, гістоморфологічних досліджень можна стверджувати, що корови дослідної групи вважаються клінічно здоровими, тимчасом як схожі зміни у тварин контрольної групи спостерігалися лише на тридцять п'яту добу лікування.

Висновки

1. За лікування корів, хворих на гнійний пододерматит, ускладнений кератоміцетами, встановлено зниження вмісту води на 4,5 % (абсолютних) та SH-груп – 14,4 % на тлі підвищення концентрації в епідермісі копитець Сульфуру на – 9,5 %, Купруму на – 10,3 % та Цинку – на 11,2 %, що вказує на поліпшення якості копитцевого рогу.

2. Лікування хворих корів після ортопедичної розчистки, зрошування поверхні підошви копитець розчином 0,02 % фурациліну та новокаїнової блокади полягає в аплікації на поверхню копитця (ділянка вінчика і підошви) 10 % розчину йоду п'єдасівського у поєднанні з 30 % розчином димексиду, розведеного 0,5 % розчином новокаїну та згодом – нанесенні левоміколю, проведенні ультрафіолетового опромінення корів лампою ПРК у дозі 250 мер/год/м² тривалістю 25 хв тричі на тиждень і тричі на тиждень внутрішньом'язового введення по 10 мл тривіту; на уражені копитця тварин накладати бинтову пов'язку та захисний чохол.

3. Лікування дає змогу покращити якість копитцевого рогу та скоротити період лікування хворих корів на 7 днів.

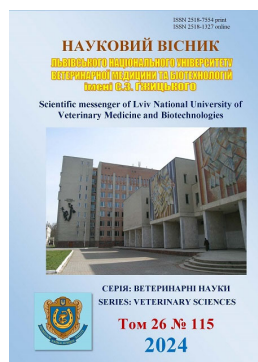
Перспективи подальших досліджень. Дослідження будуть спрямовані на розробку нових заходів профілактики гнійного пододерматиту у корів, ускладненого кератоміцетами.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Bond, R. (2010). Superficial veterinary mycoses. *Clinics in dermatology*, 28(2), 226–236. DOI: 10.1016/j.clinidmatol.2009.12.012.
- Borysevych, V. B., Borysevych, B. V., Petrenko, O. F., & Khomyn, N. M. (2007). *Veterynarna ortopediya: Hvoroby kopyt i kopytecz. Kyiv: TOV "Ukrzolo-topostach"* (in Ukrainian).
- Borysevych, V. B., Kogut, N. V., & Khomyn, N. M. (2004). Poverhnevyy ta glybokyy gnijnyy pododermatyt u koriv. *Visnyk Bilocerkiv. derzh. agrar. un-tu. Bila Cerkva*, 28, 8–14 (in Ukrainian).
- De Vries, A., & Marcondes, M. I. (2020). Review: Overview of factors affecting productive lifespan of dairy cows. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 14(S1), s155–s164. DOI: 10.1017/S1751731119003264.
- Dronyk, H. V. Tsisaryk, O. Y., & Charkin, V. A. (1997). Metabolichnyi profil orhanizmu vysokoproduktyvnykh koriv zalezno vid fiziologichnoho stanu i alimentarnykh faktoriv. Suchasni problemy biolohii, vetery-narii, medytsyny, zootekhnologii ta tekhnologii produktiv tvarynystva.: Zb. mizhnar. nauk.-prakt. konf. Lviv, 292–294 (in Ukrainian).
- Hassall, S. A., Ward, W. R., & Murray, R. D. (1993). Effects of lameness on the behaviour of cows during the summer. *The Veterinary record*, 132(23), 578–580. DOI: 10.1136/vr.132.23.578.
- Izdepskyi, V. Y., Kulynych S. M., Kabluchka, A. P. (2008). Rol mikroskopichnykh hrybiv u patohenezi pododermatytu u koriv. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii*, 4, 119–128 (in Ukrainian).
- Izdepskyi, V. Y., Kulynych, S. M., Kabluchka, A. P. (2008). Sposib vyavlennia keratolitychnykh vlastyvostei hrybiv. Patent 33564 UA MPK (2008) A 61 D 7/00. Zaiavl. u 2008 – 03074 vid 11.03.2008; Biul №12. 4 s. (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., Nazaruk, N., Lenjo, Y., & Khomyn, M. (2020). Hoof deformity and its influence on the occurrence of chronic aseptic pododermatitis in cows. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 51–56. DOI: 10.32718/nvlvet9809
- Kozij, V. I., Ivchenko, V. M., & Stadnyk, P. O. (2000). Deyaki pytannya etiologiyi zahvoryuvan u dilyanci palcyu u vysokoproduktyvnykh koriv. *Visnyk BCz-DAU. Bila Cerkva*, 13(I), 49–53 (in Ukrainian).
- Kravtsiv, R. Y., Paska, M. Z. (2003). Hlutation, sulfhidrylni hrupy ta malonovy dialdehyd za korektsii mikroelementoznoho zhyvlennia vidhodivelnnykh buhaysiv. *Nauk. visnyk Lviv. natsion. akad. vet. medytsyny im. S. Z. Hzhyskoho*, 5(3), 64–69 (in Ukrainian).
- Krupnyk, Y., Tsisinska, S., & Lenjo, Y. (2021). Ungulomycosis of cattle: etiological factors and pathogenetic mechanisms. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(101), 100–106. DOI: 10.32718/nvlvet10117.
- Lischer, C. J., Koller, U., Geyer, H., Mülling, C., Schulze, J., & Ossent, P. (2002). Effect of therapeutic dietary biotin on the healing of uncomplicated sole ulcers in dairy cattle—a double blinded controlled study. *Veterinary journal*, 163(1), 51–60. DOI: 10.1053/tvj.2001.0627.
- Mylostyvyi, R., Sejian, V., Izhboldina, O., Kalinichenko, O., Karlova, L., Lesnovskay, O., Begma, N., Marenkov, O., Lykhach, V., Midyk, S., Cherniy, N., Gutyj, B., & Hoffmann, G. (2021). Changes in the Spectrum of Free Fatty Acids in Blood Serum of Dairy Cows during a Prolonged Summer Heat Wave. *Animals*, 11(12), 3391. DOI: 10.3390/ani11123391.
- Mysak, A., Lenjo, Y., Gutyj, B., Krupnyk, Y., Tsisinska, S., Iglitskyj, I., & Dudchak, I. (2021). Ungulomycosis of cattle: treatment and preventive measures. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(103), 168–178. DOI: 10.32718/nvlvet10324.
- Panko, I. S. (2000). Novi pidkhody do vyvchennia prychnyn ta profilaktyky khvorob ratyts u vysokoproduktyvnykh koriv. *Visnyk Bilotserkiv. derzh. ahrar. un-tu*. 13(1), 19–22 (in Ukrainian).
- Panko, I. S., Tyhonyuk, L. A., Nagornyy, V. V. (1998). Osoblyvosti diagnostyky ta likuvannya pry gnijno-nekrotychnykh procesah dilyanky palcyu u vysokoproduktyvnykh koriv. *Visnyk BCzDAU*, 5(2), 190–192 (in Ukrainian).
- Sedilo, H. M. (2002). Rol mineralnykh rehovyn u protsesakh vovnoutvorennia. L.: Afisha (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/nvlvet11507
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 614.9:636.2.034:615.281.9

Identification of causative agents of cow mastitis in farms of Ternopil region

O. Vasylykiv¹, M. Kukhtyn²✉

¹Ternopil research station of the Institute of Veterinary Medicine of the National Academy of Sciences, Ternopil, Ukraine

²Ternopil Ivan Puluj National Technical University, Ternopil, Ukraine

Article info

Received 27.05.2024

Received in revised form

27.06.2024

Accepted 28.06.2024

Ternopil research station of the
Institute of Veterinary Medicine,
Trolleybusna Str., 12, Ternopil,
46012, Ukraine.

Tel.: +38-097-239-20-57

E-mail: kuchtynnic@gmail.com

Vasylykiv, O., & Kukhtyn, M. (2024). Identification of causative agents of cow mastitis in farms of Ternopil region. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 51–56. doi: 10.32718/nvlvet11507

Mastitis in lactating cows is a problem that causes significant economic losses and is more common on large farms with machine milking. In addition, the microbial factor is considered dominant in the etiology of mastitis. The aim of the work was to determine the prevalence of mastitis among lactating cows and to identify pathogens that are released in clinical and subclinical forms of udder inflammation. The analysis of the prevalence of mastitis in cows was carried out on four dairy farms with untethered Holstein cows and milking in modern milking parlors in the Ternopil region (Ukraine). Identification of pathogens was carried out according to methods generally recognized in microbiological practice, while commercial test systems for identification of microorganisms API (bioMérieux, France) were used. It was established that on modern dairy farms, during the year, an average of 21% of lactating cows in the winter period, and an average of 17.6 % in the summer period, fell ill with a subclinical form of mastitis. At the same time, from 1.5 to 2.9 % of cows suffered from the clinical form of mastitis during the lactation period. Among the pathogens of subclinical mastitis of cows, *Str.* was most often identified in the monoculture. *agalactiae*, which was isolated from a third of the diseased quarters. A little less often in monoculture, the causative agent of mastitis was *Staph. aureus*, which was identified in 31.4 ± 2.7 % of quarters. The number of diseased udder quarters from which two pathogens *Str. agalactiae* and *Staph. aureus* was 27.8 ± 2.3 %. Association of three pathogens (*Staph. aureus* + *E. coli* + *P. aeruginosa*) caused subclinical mastitis in 7.3 ± 0.8 % of udder quarters. The main pathogen of the clinical form of mastitis in farms was *Staph. aureus*, which was identified in monoculture in 35.8 ± 3.1 % of sick cows. Only 2 % less *E. coli* was isolated from the inflamed mammary gland in monoculture (33.9 ± 2.8 %). Mixed microflora from three pathogens (*Staph. aureus* + *E. coli* + *P. aeruginosa*) was isolated for clinical mastitis in 22.6 ± 1.9 % of cases. Rarely (in 7.7 ± 0.6 %) an association of two pathogens (*Staph. aureus* + *P. aeruginosa*) was isolated from the udder quarters of patients with clinical mastitis. Therefore, the causative agents of the clinical form of mastitis are the same pathogens that cause subclinical mastitis, which must be taken into account in the prevention program of this disease.

Key words: mastitis, pathogens, *Staph. aureus*, *Str. agalactiae*, microflora, subclinical, clinical form.

Ідентифікація збудників маститу корів у господарствах Тернопільської області

О. Б. Васильків¹, М. Д. Кухтин²✉

¹Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини НААН, м. Тернопіль, Україна

²Тернопільський національний технічний університет ім. І. Пулюя, м. Тернопіль, Україна

Мастит серед лактуючих корів є проблемою, яка завдає значних економічних збитків і найчастіше реєструється на великих фермах з машинним доїнням. До того ж в етіології виникнення маститу мікробний чинник вважається домінуючим. Метою роботи було визначити поширеність маститу серед лактуючих корів та ідентифікувати збудники, які виділяються за клінічної й субклінічної форми запалення вимені. Аналіз поширеності маститу в корів проводили на чотирьох молочних фермах з без-

прив'язним утриманням корів Голштинської породи та доїнням у сучасних доїльних залах у Тернопільській області (Україна). Ідентифікацію збудників проводили за загальноновизнаними у мікробіологічній практиці методами при цьому використовували комерційні тест-системи для ідентифікації мікроорганізмів API (bioMérieux, Франція). Встановлено, що на сучасних молочних фермах за безприв'язного утримання корів субклінічною формою маститу перехворіли протягом року в середньому 21 % лактуючих корів у зимовий період та в середньому 17,6 % у літній період. Водночас клінічною формою маститу в лактаційний період хворіли від 1,5 до 2,9 % корів. Серед патогенів субклінічного маститу корів найчастіше ідентифікували в монокультури *Str. agalactiae*, який виділявся з третини хворих чверток. Деяко рідше в монокультури збудником маститу був *Staph. aureus*, який ідентифікували в 31,4 ± 2,7 % чверток. Кількість хворих чверток вимені, з яких виділялися два збудники *Str. agalactiae* й *Staph. aureus*, становила 27,8 ± 2,3 %. Асоціація з трьох збудників (*Staph. aureus* + *E. coli* + *P. aeruginosa*) спричиняла субклінічний мастит у 7,3 ± 0,8 % чвертей вимені. Основним патогеном клінічної форми маститу в господарствах був *Staph. aureus*, який ідентифікувався в монокультури у 35,8 ± 3,1 % хворих корів. Всього на 2 % рідше виділялася в монокультури із запаленої молочної залози *E. coli* (33,9 ± 2,8 %). Змішану мікрофлору з трьох збудників (*Staph. aureus* + *E. coli* + *P. aeruginosa*) виділяли за клінічного маститу в 22,6 ± 1,9 % випадків. Рідше (в 7,7 ± 0,6 %) виділяли з чверток вимені хворих на клінічний мастит асоціацію з двох збудників (*Staph. aureus* + *P. aeruginosa*). Отже, збудниками клінічної форми маститу є ті ж самі патогени, що спричиняють субклінічний мастит, що необхідно враховувати у програмі профілактики даного захворювання.

Ключові слова: мастит, збудники, *Staph. aureus*, *Str. agalactiae*, мікрофлора, субклінічна, клінічна форма.

Вступ

Однією з найбільших проблем у молочному скотарстві, що впливає на продуктивність дійних корів та знижує рентабельність отриманого молока, є хвороби молочної залози, особливо мастит (Horiuk et al., 2018; Cobirka et al., 2020). Запалення молочної залози на даний час є одним із найпоширеніших захворювань молочної худоби не тільки в Україні, а й у світі (Kukhtyn et al., 2016; Jamali et al., 2018; Zhou et al., 2023). Тому не дивно, що приблизно 60–70 % усіх протимікробних препаратів, що застосовуються на молочних фермах, призначені для профілактики та лікування маститу (Stevens et al., 2016; Horiuk et al., 2019).

Поширення маститу на молочних фермах – ця проблема є багатокомпонентною, оскільки виникають затрати через вибраковування молока, лікування корів та можливість формування антибіотикорезистентної мікрофлори у мікробіоценозі молочної ферми (Abdi et al., 2021; Duse et al., 2021). До того ж за даними дослідників (Pascu et al., 2022; Zhang et al., 2022) – молочна залоза може бути джерелом персистентного перебування стійких до антибіотиків мікроорганізмів – збудників харчових токсикозів й інфекцій, звідки вони потрапляють у молоко. У такому випадку виникає проблема для громадського здоров'я у зв'язку із можливістю поширення збудників маститу в харчовому ланцюгу сировина – харчові продукти.

Незважаючи на те, що дослідження з проблеми маститу на молочній фермі постійно проводяться в різних напрямках, зокрема селекція стійкої до маститу худоби, розробка нових антимікробних лікувальних та профілактичних препаратів як біологічної, так і хімічної дії (Dyson et al., 2022; Awandkar et al., 2022). Проблема ще далека до остаточного вирішення, оскільки запалення молочної залози у лактуючих корів все ще досить поширене на молочних фермах. Водночас поширеність контагіозного маститу може бути зменшена за допомогою впровадження різних протимаститних програм (Neculai-Valeanu & Ariton, 2022), зокрема загальноновизначеної в Європі і Америці програми, яка складається з десяти пунктів (Cobirka et al., 2020). Ця програма охоплює аспекти здоров'я вимені, технологію доїння, терапію клінічної та субклінічної форми маститу, догляд за сухостійними ко-

ровами й інші методи управління для контролю основних збудників запалення вимені.

Дослідники зазначають, що в основному мастит корів викликають такі бактерії, як *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* і *Staphylococcus aureus* (Wellnitz & Bruckmaier, 2012), водночас поширеність конкретних патогенів різна в кожному регіоні чи навіть на окремих фермах. У деяких стадах найсерйознішу проблему викликають коагулазонегативні стафілококи (Vakkamäki et al., 2017), які можуть виявлятися або не проявлятися як проблема в інших стадах. Тому інформація про наявні збудники, які спричиняють мастит на конкретній молочній фермі, вважається першочерговою під час розроблення програми з профілактики й лікування маститу. До того ж спеціалісти ветеринарної медицини повинні завжди мати дані про чутливість до застосованих антимікробних препаратів збудників-патогенів маститу для запровадження ефективної програми лікування. Враховуючи наведену інформацію, нами було визначено поширеність маститу на молочних фермах Тернопільської області для розроблення сучасних екологічно безпечних лікувальних препаратів.

Мета дослідження

Метою роботи було визначити поширеність маститу серед лактуючих корів та ідентифікувати збудники, які виділяються за клінічної і субклінічної форми запалення вимені.

Матеріал і методи досліджень

Аналіз поширеності маститу в корів проводили на чотирьох молочних фермах з безприв'язним утриманням корів Голштинської породи та доїнням у сучасних доїльних залах у Тернопільській області (Україна). Коровам перед та після доїння проводять гігієну вимені за допомогою сануючих засобів з умістом антибактеріальних речовин. Програма проведення протимаститних заходів у чотирьох господарствах аналогічна (виявлення хворих тварин, відокремлення в окрему групу, лікування, доїння окремими доїльними апаратами тощо). Наявність субклінічної форми маститу визначали за допомогою мастидинової проби

перед початком доїння, а клінічної форми додатково за допомогою клінічних методів (огляд, пальпація, вимірювання температури). Корів вважали хворими на субклінічний мастит за наявності реакції з мастином (згусток) у вигляді двох і більше “хрестів”. Відбирання секрету молочної залози для мікробіологічних досліджень проводили в стерильні пробірки з дотриманням правил асептики. Проби ставили в сумку-холодильник (+ 6 °C) і протягом двох годин доставляли для дослідження в Тернопільську дослідну станцію інституту ветеринарної медицини НААН. У лабораторії після попередньої підготовки проб проводили висів 0,1 мл секрету молочної залози та його десятикратних розведень на середовища для виділення збудників запалення молочної залози. Зокрема для виділення стафілококів на кров'яний агар з 5 % натрію хлориду, для стрептококів на середовище Гарро, для кишкової палички на Ендо, для псевдомонад на агар з цетилперидинію хлорид, для грибів на середовище Сабуро. Після інкубації посівів проводили ідентифікацію збудників за загальновизнаними у мікробіологічній практиці методами (Kukhtyn & Kravchenyuk, 2023), при цьому використовували комерційні тест-системи для біохімічної ідентифікації мікроорганізмів API (bioMérieux, Франція). Отримані результати піддавалися статистичній обробці з використанням комп'ютерної програми Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA). Результати вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати досліджень

Для з'ясування частоти виникнення маститу корів у лактаційний період було визначено кількість тварин, як перехворіли протягом року у чотирьох господарствах. Для більшої інформативності дані розділено на два періоди, зимовий та літній, оскільки вважається, що в зимовий період мастит частіше реєструється. Результати виявлення субклінічної форми маститу наведено на [рисунку 1](#).

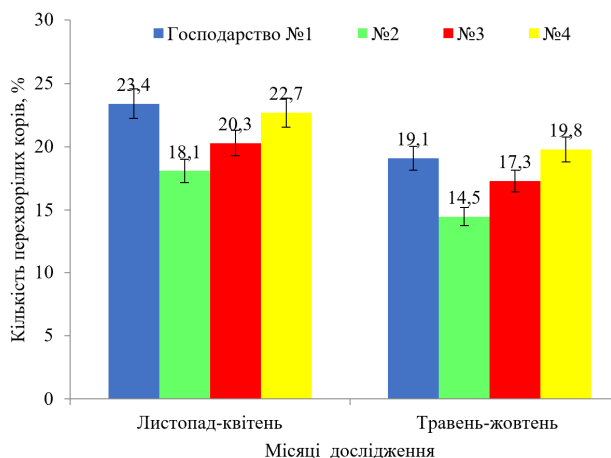


Рис. 1. Кількість тварин, які хворіли на субклінічну форму маститу протягом року в чотирьох господарствах Тернопільської області

Кількість корів, які перехворіли на субклінічну форму маститу протягом листопада–квітня була практично однакова в трьох господарствах (№ 1, № 3 і № 4) і становила 20,3–23,4 % ([рис. 1](#)). Вірогідно меншу кількість ($P < 0,05$) хворих на субклінічну форму маститу виявляли серед корів у господарстві № 2 ($18,1 \pm 1,5$ %), порівнюючи з трьома іншими господарствами.

У літній період з травня по жовтень субклінічну форму маститу реєстрували на 3–4 % менше, ніж у зимовий період ($P < 0,05$). До того ж тенденція щодо кількості виникнення маститу зберігалася між господарствами, тобто найбільша кількість хворих тварин була в господарствах № 1, № 2 та № 3.

Загалом результати вказують, що навіть на сучасних молочних фермах за виконання вимог протимаститної програми в зимовий період хворіють на субклінічну форму маститу в середньому 21 % лактуючих корів, а в літній період кількість хворих становила в середньому 17,6 %.

Результати щодо поширеності клінічного маститу у даних господарствах наведено на [рисунку 2](#).

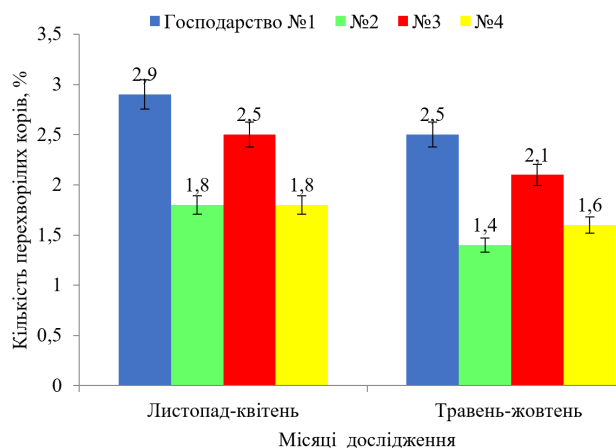


Рис. 2. Кількість тварин, які хворіли на клінічну форму маститу протягом року в чотирьох господарствах Тернопільської області

З даних [рисунку 2](#) видно, що вірогідної різниці щодо кількості хворих на мастит корів між періодами року не спостерігається. Водночас у господарствах № 1 та № 3 кількість хворих на клінічний мастит корів була в середньому в 1,4–1,8 раза більша, ніж у господарствах № 2 та № 4. При цьому у господарствах № 1 та № 3 кількість хворих становила 2,5–2,9 %, а в № 2 та № 4 – 1,4–1,8 %. Загалом отримані дані вказують, що на клінічний мастит у даних господарствах хворіє незначна кількість тварин, водночас враховуючи контагіозність даної форми маститу, необхідно запроваджувати заходи щодо недопущення збільшення захворюваності.

Важливо було провести ідентифікацію виділених збудників за різних форм маститу, адже саме видовий склад патогенної мікрофлори визначає стратегію успішної терапії. Ідентифікація збудників за субклінічного маститу у даних чотирьох господарствах наведено на [рисунку 3](#).

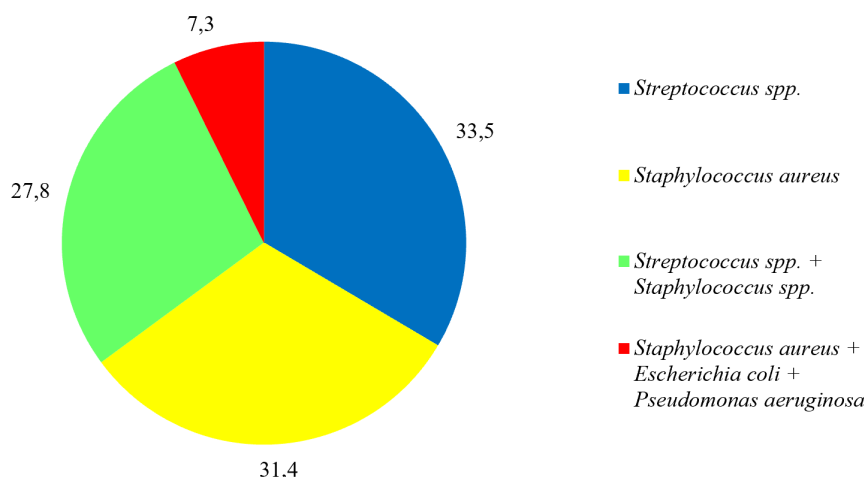


Рис. 3. Ідентифікація збудників маститу корів за субклінічної форми в чотирьох господарствах Тернопільської області

Серед патогенів субклінічного маститу корів найчастіше ідентифікували в монокультури *Str. agalactiae*, який виділявся з третини хворих чверток (рис. 3). Дещо рідше в монокультури збудником маститу був *Staph. aureus*, який ідентифікували в 31,4 ± 2,7 % чверток. Кількість хворих чверток вимені, з яких виділялися два збудники *Str. agalactiae* й *Staph. Aureus*, становила 27,8 ± 2,3 %. Асоціація з трьох збудників (*Staph. aureus* + *E. coli* + *P. aeruginosa*) спричиняла субклінічний мастит у 7,3 ± 0,8 % чвертей вимені. Таким чином, з досліджень випливає, що в основному за субклінічного маститу ідентифікуються тривіальні збудники в монокультури (64,9 ± 5,3 %) або в асоціації між собою.

Дослідження складу мікробіоти за клінічного маститу корів наведено на рисунку 4.

Спостерігаємо (рис. 4), що основним патогеном клінічної форми маститу в наших господарствах був *Staph. aureus*, який ідентифікувався в монокультури у 35,8 ± 3,1 % хворих чвертей вимені. Всього на 2 % рідше виділялася в монокультури із запаленої молочної залози *E. coli* (33,9 ± 2,8 %). Змішану мікрофлору з трьох збудників (*Staph. aureus* + *E. coli* + *P. aeruginosa*) виділяли за клінічного маститу в 22,6 ± 1,9 % випадків. Рідше (в 7,7 ± 0,6 %) виділяли з чверток вимені хворих на клінічний мастит асоціацію з двох збудників (*Staph. aureus* + *P. aeruginosa*). Таким чином збудниками клінічної форми маститу були ті самі патогени, що спричиняють субклінічний мастит, що необхідно враховувати у програмі профілактики даного захворювання.

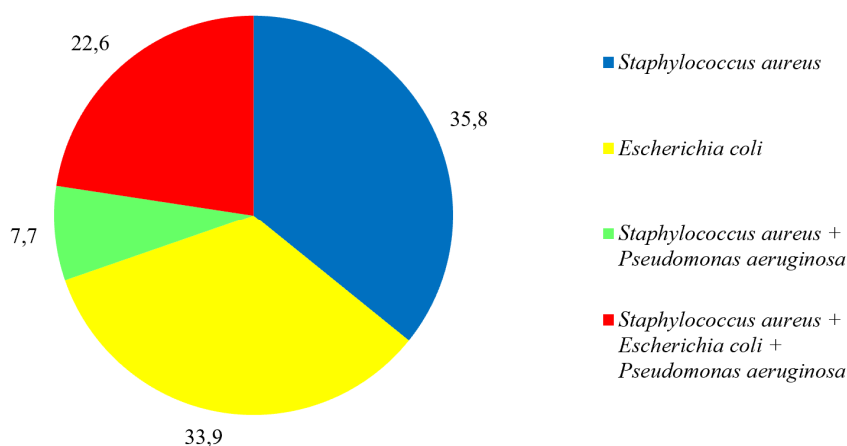


Рис. 4. Ідентифікація збудників маститу корів за клінічної форми в чотирьох господарствах Тернопільської області

Обговорення

Мастит серед лактуючих корів є проблемою, яка завдає значних економічних збитків і найчастіше реєструється на великих фермах з машинним доїнням, де задіяно мало людської праці (Kovačević et al., 2021). До того ж в етіології виникнення маститу мік-

робний чинник вважається домінуючим (Kukhtyn et al., 2017; Asmare & Kassa, 2017; Jin et al., 2024). Тому метою даної роботи було проаналізувати поширеність маститу в корів у господарствах Тернопільської області та ідентифікувати збудники, які виділяються за субклінічної й клінічної форми запалення вимені. Встановлено, що на сучасних молочних фермах за

безприв'язного утримання корів та доїнням в доїльних залах субклінічною формою маститу переохворіли протягом року в середньому 21 % лактуючих корів в зимовий період та в середньому 17,6 % в літній період. Водночас клінічною формою маститу в лактаційний період хворіли протягом цього періоду від 1,5 до 2,9 % корів. У дослідженнях, проведених (Perkii et al., 2023) в господарствах Західного регіону України, реєстрували мастит у корів на рівні 20 %, таким чином, ми можемо стверджувати, що в Україні маститом протягом року хворіють 20–25 % тварин протягом лактації. Однак наші результати узгоджуються з даними (Heikkilä et al., 2018; Saidani et al., 2018) про те, що субклінічний мастит трапляється в декілька разів частіше, ніж клінічна форма, і його тривалість більша. Тому субклінічний мастит важче виявити, а бактерії-збудники служать резервуаром патогенів, які поширюють інфекцію вимені серед тварин у стаді.

Визначення збудників маститу має вирішальне значення під час запровадження програми з профілактики маститу на молочній фермі (Cobirka et al., 2020). Наші дослідження виявили, що за субклінічного маститу основними патогенами були *Str. agalactiae* та *Staph. aureus*, які в монокультури та в асоціації між собою спричиняли мастит в 29,7 % чвертей вимені. Дослідження вказують (Klaas & Zadoks, 2018), що ці збудники можуть бути класифіковані як патогени навколишнього середовища, навіть якщо вони зазвичай класифікуються в літературі як збудники контагіозного маститу (Cobirka et al., 2020). Такий погляд дослідники пояснюють тим, що ці збудники передаються кількома шляхами – не тільки через інфіковане молоко від хворих корів або через погану гігієну під час доїння, а також через підстилку, фекалії, сечу та інші забруднення. Враховуючи таку інтерпретацію, ми вважаємо, що повністю позбавитися від маститу на молочній фермі нереально, а підтримувати його на певному мінімальному рівні в стаді цілком можливо. Попередні наші дослідження (Perkii et al., 2023) виявили, що з секрету молочної залози нетелей на останньому триместрі тільності виявляється золотистий стафілокок, а до 20 % здорових корів є носіями коагулазопозитивних стафілококів на шкірі дійок (Kukhtyn et al., 2021). Тому намагатися позбутися патогенів, які постійно циркулюють у мікробіоценозі молочної ферми, недоцільно.

За клінічної форми маститу в наших господарствах ідентифікувалися три збудники *Staph. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*. При цьому в однаковій кількості, в середньому по 33 %, з хворих чверток вимені виділялися в монокультури *Staph. aureus* та *E. coli*, водночас за цієї форми маститу не ідентифікували стрептококи, це пояснюється тим, що *Str. agalactiae* й *Str. uberis* не здатні тривалий час виживати в навколишньому середовищі (Cobirka et al., 2020). Водночас ми схилиємося до думки, що у виникненні клінічної форми маститу, крім етіологічного фактора, суттєве значення має імунний статус організму та інші сприяючі фактори (пошкодження або подразнення тканин молочної залози, переохолодження тощо).

Висновки

Отже, враховуючи отримані результати, підсумовуємо, що знання про збудники маститу на конкретній фермі дозволить більш цілеспрямовано проводити протимаститні заходи, адже протимікробні препарати (для санації шкіри, лікування чи профілактики) більш ефективно будуть діяти у випадку розуміння механізму дії на конкретний вид бактерій. До того ж для зменшення частки хворих на субклінічний мастит корів в господарстві необхідно постійно дотримуватися програми боротьби з маститом, враховувати наукові рекомендації на кожній конкретній фермі.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні антибіотикограм у виділених збудників за маститу для ефективного лікування й розроблення сучасних профілактичних препаратів.

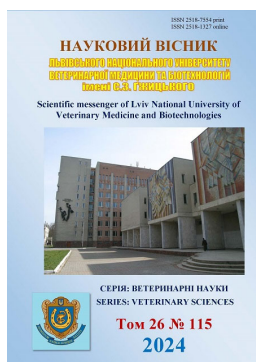
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abdi, R. D., Gillespie, B. E., Ivey, S., Pighetti, G. M., Almeida, R. A., & Kerro Dego, O. (2021). Antimicrobial resistance of major bacterial pathogens from dairy cows with high somatic cell count and clinical mastitis. *Animals*, 11(1), 131. DOI: 10.3390/ani11010131.
- Asmare, A. A., & Kassa, F. (2017). Incidence of dairy cow mastitis and associated risk factors in Sodo town and its surroundings, Wolaitia zone, Ethiopia. *Slovak Journal of Animal Science*, 50(2), 77–89. URL: http://www.cvzv.sk/slju/17_2/3_Asefa_Asmare.pdf.
- Awandkar, S. P., Kulkarni, M. B., & Khode, N. V. (2022). Bacteria from bovine clinical mastitis showed multiple drug resistance. *Veterinary Research Communications*, 46(1), 147–158. DOI: 10.1007/s11259-021-09838-8.
- Cobirka, M., Tancin, V., & Slama, P. (2020). Epidemiology and classification of mastitis. *Animals*, 10(12), 2212. DOI: 10.3390/ani10122212.
- Duse, A., Persson-Waller, K., & Pedersen, K. (2021). Microbial aetiology, antibiotic susceptibility and pathogen-specific risk factors for udder pathogens from clinical mastitis in dairy cows. *Animals*, 11(7), 2113. DOI: 10.3390/ani11072113.
- Dyson, R., Charman, N., Hodge, A., Rowe, S. M., & Taylor, L. F. (2022). A survey of mastitis pathogens including antimicrobial susceptibility in southeastern Australian dairy herds. *Journal of dairy science*, 105(2), 1504–1518. DOI: 10.3168/jds.2021-20955.
- Heikkilä, A. M., Liski, E., Pyörälä, S., & Taponen, S. (2018). Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. *Journal of dairy science*, 101(10), 9493–9504. DOI: 10.3168/jds.2018-14824.
- Horiuk, Y. V., Kukhtyn, M. D., Stravskyy, Y. S., Klymnyuk, S. I., Vergeles, K. M., & Horiuk, V. V. (2019). Influence of staphylococcal Phage SAvB14 on biofilms, formed by *Staphylococcus aureus* variant bovis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(3), 314–318. DOI: 10.15421/021948.

- Horiuk, Y., Kukhtyn, M., Perkiy, Y., & Horiuk, V. (2018). Distribution of main pathogens of mastitis in cows on dairy farms in the western region of Ukraine. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(83), 115–119. DOI: 10.15421/nvlvet8322.
- Jamali, H., Barkema, H. W., Jacques, M., Lavallée-Bourget, E. M., Malouin, F., Saini, V., ... & Dufour, S. (2018). Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(6), 4729–4746. DOI: 10.3168/jds.2017-13730.
- Jin, C., Upton, J., Bazargani, M. H. Z., & Mac Namee, B. (2024). Using Milk Flow Profiles for Subclinical Mastitis Detection. *Smart Agricultural Technology*, 100537. DOI: 10.1016/j.atech.2024.100537.
- Klaas, I. C., & Zadoks, R. N. (2018). An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and emerging diseases*, 65, 166–185. DOI: 10.1111/tbed.12704.
- Kovačević, Z., Radinović, M., Čabarkapa, I., Kladar, N., & Božin, B. (2021). Natural agents against bovine mastitis pathogens. *Antibiotics*, 10(2), 205. DOI: 10.3390/antibiotics10020205.
- Kukhtyn, M. D., & Kravchenyuk, H. Yu. (2023). Laboratory workshop on microbiology of milk and dairy products: study guide. Ternopil: Ternopil National Technical University named after Ivan Pulyu.
- Kukhtyn, M. D., Kovalenko, V. L., Horyuk, Y. V., Horyuk, V. V., & Stravskyy, Y. S. (2016). Bacterial biofilms formation of Cattle mastitis pathogens. *Journal for veterinary medicine, biotechnology and biosafety*, 2(4), 30–32. URL: https://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2016/volume2/issue4/pJVMBBS_2016024_030-032.pdf.
- Kukhtyn, M. D., Kovalenko, V. L., Pokotylo, O. S., Horyuk, Y. V., Horyuk, V. V., & Pokotylo, O. O. (2017). Staphylococcal contamination of raw milk and handmade dairy products, which are realized at the markets of Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 3(1), 12–16. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/jvmbb_2017_3_1_4.
- Kukhtyn, M., Horiuk, Y., Salata, V., Klymyk, V., Vorozhbit, N., & Rushchinskaya, T. (2021). Staphylococcus aureus of raw cow's milk. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(102), 53–59. DOI: 10.32718/nvlvet10208.
- Neculai-Valeanu, A. S., & Arton, A. M. (2022). Udder health monitoring for prevention of bovine mastitis and improvement of milk quality. *Bioengineering*, 9(11), 608. DOI: 10.3390/bioengineering9110608.
- Pascu, C., Herman, V., Iancu, I., & Costinar, L. (2022). Etiology of mastitis and antimicrobial resistance in dairy cattle farms in the western part of Romania. *Antibiotics*, 11(1), 57. DOI: 10.3390/antibiotics11010057.
- Perkii, Yu., Kukhtyn, M., Boltyk, N., & Klymyk, V. (2023). The effectiveness of the use of the drug “Protimast DS” for the treatment of mastitis in heifers. *Bulletin of Agrarian Science*, 101(6), 32–37. DOI: 10.31073/agrovisnyk202306-04.
- Saidani, M., Messadi, L., Soudani, A., Daaloul-Jedidi, M., Châtre, P., Ben Chehida, F., ... & Haenni, M. (2018). Epidemiology, antimicrobial resistance, and extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in clinical bovine mastitis in Tunisia. *Microbial Drug Resistance*, 24(8), 1242–1248. DOI: 10.1089/mdr.2018.0049.
- Stevens, M., Piepers, S., & De Vliegher, S. (2016). Mastitis prevention and control practices and mastitis treatment strategies associated with the consumption of (critically important) antimicrobials on dairy herds in Flanders, Belgium. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 2896–2903. DOI: 10.3168/jds.2015-10496.
- Vakkamäki, J., Taponen, S., Heikkilä, A. M., & Pyörälä, S. (2017). Bacteriological etiology and treatment of mastitis in Finnish dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59, 1–9. DOI: 10.1186/s13028-017-0301-4.
- Wellnitz, O., & Bruckmaier, R. M. (2012). The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *The veterinary journal*, 192(2), 148–152. DOI: 10.1016/j.tvjl.2011.09.013.
- Zhang, Z., Chen, Y., Li, X., Wang, X., & Li, H. (2022). Detection of antibiotic resistance, virulence gene, and drug resistance gene of Staphylococcus aureus isolates from bovine mastitis. *Microbiology Spectrum*, 10(4), e00471-22. DOI: 10.1128/spectrum.00471-22.
- Zhou, G., Zhang, W., Wen, H., Su, Q., Hao, Z., Liu, J., ... & Wang, X. (2023). Esculetin improves murine mastitis induced by Streptococcus isolated from bovine mammary glands by inhibiting NF-κB and MAPK signaling pathways. *Microbial Pathogenesis*, 185, 106393. DOI: 10.1016/j.micpath.2023.106393.



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/nvlvet11508
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:619.661

The influence of milk thistle, metiphen, and sylimevit on the protein synthesis function of the liver of laying hens under cadmium load

A. O. Ostapyuk, B. V. Gutyj[✉], O. V. Kozenko, I. V. Dvyluk, A. R. Shcherbatyi, T. V. Martyshuk, N. V. Magrelo, H. V. Klym, N. Yu. Krempa, U. M. Vus, A. O. Vysotskyi

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

Article info

Received 29.05.2024
Received in revised form
01.07.2024
Accepted 02.07.2024

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary
Medicine and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010,
Ukraine.
Tel.: +38-068-136-20-54
E-mail: bvh@ukr.net

Ostapyuk, A. O., Gutyj, B. V., Kozenko, O. V., Dvyluk, I. V., Shcherbatyi, A. R., Martyshuk, T. V., Magrelo, N. V., Klym, H. V., Krempa, N. Yu., Vus, U. M., & Vysotskyi, A. O. (2024). The influence of milk thistle, metiphen, and sylimevit on the protein synthesis function of the liver of laying hens under cadmium load. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 57–63. doi: 10.32718/nvlvet11508

Cadmium compounds deserve special attention from researchers, as this element belongs to the first class of environmental hazards. Cadmium is classified as a dangerous pollutant in the environment because it, due to toxic stress, causes various disorders of the functional state of the organisms of animals and birds. The work aimed to study the effect of milk thistle, metiphen, and sylimevit on the protein synthesizing function of the liver of laying hens under experimental chronic cadmium toxicosis. 32 laying hens aged 78 weeks were selected for the research. Four experimental groups were formed: a control group and three experimental groups. Chickens of the control group (K) and three experimental groups were given cadmium sulfate with water at 4 mg/kg of body weight. The chickens of experimental group D1 were fed milk thistle fruits at a dose of 2.0 g/kg of feed once a day for 30 days. Chickens of experimental group D2 were fed metiphen at a dose of 0.28 g/kg of feed once daily for 30 days. The chickens of experimental group D3 were fed sylimevit at a dose of 0.36 g/kg of feed once daily for 30 days. The research results showed that the content of total protein and its fractions in the blood plasma of laying hens changes throughout the experiment in birds of the control and experimental groups. Thus, in the blood of laying hens subjected to cadmium loading, a decrease in total protein and albumin fraction was found in their blood. Under the cadmium load of laying hens, milk thistle, metiphen, and sylimevit have a positive effect on the protein synthesis function of the liver, as indicated by an increase in the level of total protein and albumins. Analyzing the indicators of the content of total protein and protein fractions in the blood plasma of laying hens under cadmium load and the use of experimental drugs, it is worth noting that a probable difference between the birds of the control and experimental groups was observed from the 14th day of the experiment. Feeding with the fodder of the spotted thistle and sylimevit contributed to a better normalizing effect on the protein synthesis function of the liver than the use of metiphen.

Key words: toxicology, welfare, cadmium, poultry, blood, sylimevit, metiphen, milk thistle, total protein, albumins, proteins.

Вплив розторопші плямистої, метіфену та силімевіту на протеїносинтезувальну функцію печінки курей-несучок за кадмієвого навантаження

А. О. Остап'юк, Б. В. Гутий[✉], О. В. Козенко, І. В. Двильюк, А. Р. Щербатий, Т. В. Мартишук, Н. В. Магрело, Г. В. Клим, Н. Ю. Кремпа, У. М. Вус, А. О. Висоцький

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

Особливої уваги дослідників заслуговують сполуки Кадмію, оскільки цей елемент належить до першого класу екологічної небезпеки. Кадмій зараховують до небезпечних забруднювачів довкілля, оскільки він, через токсичний стрес, спричиняє різноманітні

порушення функціонального стану організму тварин і птиці. Метою роботи було вивчити вплив розторопші плямистої, метіфену та силімевіту на протеїнсинтезувальну функцію печінки курей-несучок за експериментального хронічного кадмієвого токсикозу. Для проведення досліджень було відібрано 32 курки-несучки, віком 78 тижнів. Було сформовано чотири піддослідні групи: контрольну і три дослідні. Куркам контрольної групи (К) та трьох дослідних груп випоювали з водою сульфат кадмію у дозі 4 мг/кг маси тіла. Куркам дослідної групи Д₁ з кормом згодовували плоди розторопші плямистої у дозі 2,0 г/кг корму один раз на добу протягом 30 діб. Куркам дослідної групи Д₂ з кормом згодовували метіфен у дозі 0,28 г/кг корму один раз на добу протягом 30 діб. Куркам дослідної групи Д₃ з кормом згодовували силімевіт у дозі 0,36 г/кг корму один раз на добу протягом 30 діб. Результати досліджень показали, що вміст загального протеїну та його фракцій плазми крові курей-несучок змінюється протягом усього експерименту в птиці контрольної та дослідних груп. Так, у крові курей-несучок, яким здійснювали кадмієве навантаження, встановлено зниження у їх крові загального протеїну та альбумінової фракції. За кадмієвого навантаження курей-несучок розторопша плямиста, метіфен та силімевіт позитивно впливають на протеїнсинтезувальну функцію печінки, на що вказує збільшення рівня загального протеїну та альбумінів. Аналізуючи показники вмісту загального протеїну і білкових фракцій у плазмі крові курей-несучок за кадмієвого навантаження та застосування дослідних препаратів, варто зазначити, що вірогідна різниця між птицею контрольної і дослідних груп спостерігалась з 14 доби досліді. Згодовування з кормом розторопші плямистої та силімевіту сприяло кращій нормалізуючій дії на протеїнсинтезувальну функцію печінки, ніж застосування метіфену.

Ключові слова: токсикологія, добробут, кадмій, птиця, кров, силімевіт, метіфен, розторопша плямиста, загальний протеїн, альбуміни, протеїни.

Вступ

Проблема забруднення навколишнього середовища Кадмієм, що є одним із наслідків інтенсифікації промислового й аграрного виробництва, нині набула особливої актуальності (Antoniak et al., 2010; Vorozhenko & Skalskyi, 2011; Lavryshyn et al., 2018; 2019). Зростання вмісту цього металу в ґрунтах України та інших країн упродовж останніх десятиріч супроводжується нагромадженням Cd²⁺ у сільськогосподарській продукції та кормах, збільшенням загрози здоров'ю людини, тварин і птиці (Melnychuk et al., 2004; El-Shahat et al., 2009; Lavryshyn & Guttyj, 2019).

Відомо, що надходження Кадмію пов'язане з екологічним ризиком для організму через кумулятивну його токсичність щодо органів і систем, призводить до зниження інтенсивності росту і продуктивності птиці. Це негативно впливає на ефективність галузі птахівництва. Властиво тому необхідне поглиблене дослідження фармако-токсикологічних і біохімічних процесів, що лежать в основі зумовлених Кадмієм метаболічних розладів і порушень життєвих функцій організму птиці (Fregoneze et al., 1997; Ostapyuk & Guttyj, 2018; Shcherbatyy & Slivinska, 2021; 2022).

Отруєння тварин Кадмієм відбувається при потраплянні його в шлунок або при інгаляції в дихальні шляхи. При потраплянні в організм тварин Кадмій пригнічує діяльність мітохондрій, підвищуючи при цьому чутливість клітин до вільнорадикального окиснення (Al-Azemi et al., 2010; Guttyj et al., 2022; 2023). Кадмій володіє високою міграційною швидкістю, біохімічною активністю, характеризується політропною токсичною дією і здатністю накопичуватися в органах і тканинах (Ali et al., 1986; Kraikivska et al., 2023). Варто зазначити, що близько 50 % абсорбованого Кадмію накопичується в печінці та нирках. Інтенсивне включення Кадмію саме в тканини печінки і нирок пов'язане насамперед із високою активністю біохімічних процесів, що протікають в цих органах (Uetani et al., 2005; Guttyj et al., 2016).

Негативна дія Кадмію охоплює різні типи клітин, проте їхня чутливість до дії даного елемента неоднакова. Глибина ураження клітин значною мірою визначається акумульованою дозою Кадмію та рівнем експресії в них генів металотіонеїнів, на яку впливає

токсичний елемент. Таким чином, ефекти Кадмію по-різному проявляються за умов тривалого й одноразового надходження в організм тварин (Rodríguez et al., 2001; Peng et al., 2015; Smychok et al., 2023).

Після пероральної абсорбції Кадмій спочатку транспортується через порталну вену в печінку, накопичується в гепатоцитах, де індукуює синтез металотіонеїнів (Liu et al., 2008). Вони своєю чергою знижують токсичну дію Кадмію у нирках і печінці (Nazaruk et al., 2015). Інтенсивність синтезу металотіонеїнів в гепатоцитах у відповідь на надходження іонів Кадмію вища, ніж в інших клітинах. Гістологічні зміни у печінці за кадмієвого токсикозу представлені проявами дистрофії, апоптозу та запальної реакції. Дистрофічні процеси проявлялись гідропічною дистрофією з вакуолізацією цитоплазми гепатоцитів, місцями до фокального коліквацийного некрозу (Salvatori et al., 2004; Ostapyuk et al., 2023).

Опосередкований гепатотоксичний ефект Кадмію зумовлений активацією ним клітин Купфера, внаслідок чого запускається каскад біохімічних процесів, в яких беруть участь низка цитокінів і медіаторів запалення (Lu et al., 2005; Hutyi, 2013; Guttyj et al., 2019).

Мета дослідження

Метою роботи було вивчити вплив розторопші плямистої, метіфену та силімевіту на протеїнсинтезувальну функцію печінки курей-несучок за експериментального хронічного кадмієвого токсикозу.

Матеріал і методи досліджень

Для проведення досліджень було відібрано 32 курки-несучки віком 78 тижнів. Було сформовано чотири піддослідні групи: контрольну і три дослідні. Куркам контрольної групи (К) та трьох дослідних груп випоювали з водою сульфат кадмію у дозі 4 мг/кг маси тіла. Куркам дослідної групи Д₁ з кормом згодовували плоди розторопші плямистої у дозі 2,0 г/кг корму один раз на добу протягом 30 діб. Куркам дослідної групи Д₂ з кормом згодовували метіфен у дозі 0,28 г/кг корму один раз на добу протягом 30 діб. Куркам дослідної групи Д₃ з кормом згодовували силімевіт у дозі 0,36 г/кг корму один раз на добу протягом 30 діб.

Умови утримання курей та параметри мікроклімату в приміщенні для всіх груп були аналогічними. Впродовж дослідів обліковували кількість споживаного корму і води.

Усі експериментальні втручання та забій тварин проводили з дотриманням вимог “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1985) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001).

Кров у курей-несучок відбирали із підкрильцевої вени у періоди: до початку задавання препаратів та сульфату кадмію, на першу, сьому, чотирнадцяту, двадцять першу та тридцять добу дослідів. Досліджували концентрацію протеїну, його фракцій за методикою (Vlizo, 2012; Slivinska et al., 2022).

У дослідях використовували такі препарати:

Сульфат кадмію – Cadmium sulfate, неорганічна сполука з хімічною формулою CdSO_4 . Сульфат кадмію є добре розчинним у воді, тому добре всмоктується в травному каналі, в кров та відомий своїми токсичними впливами на живі організми.

Розторопша плямиста (РП) – *Silybum marianum* родина складноквіткові, у дикому вигляді росте на пустирях, уздовж доріг, на покинутих полях та культивується на лікарських городах. Для лікування застосовують плоди розторопші плямистої. Вони містять протеїн 17–18 %, жири 10–11 %, флавоїдні 2–3 %, ефірну олію 0,08 %, вітаміни А, Е, К, біогенні аміни, кварцетин.

Метіфен (М) – білий кристалічний порошок, солодкий на смак, із запахом сірки. Погано розчиняється у холодній воді, краще – у гарячій воді (1:20). Термостабільний. Препарат містить фенарон та метіонін.

Силімевіт (С) – кормова добавка, до складу якої входять плоди розторопші плямистої, селен, метіфен, вітаміни А, Е і С.

Аналіз результатів досліджень проводили за допомогою пакету програм Statistica 6.0. Вірогідність різниць оцінювали за t-критерієм Стюдента. Результати середніх значень вважали статистично вірогідними при * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$ (ANOVA).

Результати та їх обговорення

Для вивчення механізму дії розторопші плямистої, метіфену та силімевіту на організм курей-несучок важливе значення має вивчення стану обмінних процесів. Отримані результати біохімічних досліджень крові курей-несучок за кадмієвого навантаження, вказують про порушення протеїносинтезуальної функції печінки. Результати наших досліджень показали, що вміст загального протеїну та його фракцій плазми крові курей-несучок змінюється протягом усього експерименту в птиці контрольної та дослідних груп. Так, у крові курей-несучок, яким здійснювали кадмієве навантаження, встановлено зниження у їхній крові загального протеїну до $39,04 \pm 1,23$ г/л (рис. 1).

У курей дослідної групи Д₁ рівень загального протеїну на 7 добу дослідів становив $46,28 \pm 1,14$ г/л. Дещо вищим рівень показника був у дослідних груп курей, яким згодовували метіфен і силімевіт. На 14 добу дослідів рівень загального протеїну порівняно з контрольною групою курей зріс у дослідної групи Д₁ на 6,2 %, у дослідної групи Д₂ – на 5,8 % і у дослідної групи Д₃ – на 8,2 % відповідно. На 1 добу дослідів рівень загального протеїну у дослідних групах курей, яким згодовували розторопшу плямисту та метіфен, перебував у межах $45,55 \pm 1,06$ – $45,34 \pm 1,18$ г/л. Найвищим рівень досліджуваного показника був у дослідній групі курей, яким згодовували силімевіт, де порівняно з контрольною групою птиці він зріс на 19 %. На 30 добу дослідів рівень загального протеїну у всіх дослідних групах перебував у межах фізіологічних величин.

Аналогічні зміни спостерігали при дослідженні вмісту альбуміну (рис. 2). У курей-несучок контрольної групи показник на 14 добу дослідів був нижчим порівняно з початковим показником на 4,16 %, на 21 добу на 5,62 %, а на 30 добу – на 3,58 %.

Рівень альбумінів у крові курей дослідних груп на початку дослідів коливався у межах $33,92 \pm 0,90$ – $33,74 \pm 0,70$ %. На першу добу дослідів рівень альбумінів у всіх дослідних групах дещо знизився. У подальшому на 7 і 14 добу дослідів рівень альбумінів у крові дослідних груп Д₁ і Д₂ порівняно з початком дослідів знизився, однак з контрольною групою курей виявляли зростання на 0,69 і 1,64 % у дослідної групи Д₁ та на 0,52 і 1,49 % у дослідної групи Д₂.

При кадмієвому навантаженні курей-несучок з одностороннім згодовуванням силімевіту встановлено нормалізуючу дію препарату на рівень альбумінів у крові курей дослідної групи Д₃, який протягом усього дослідів коливався у межах $32,83 \pm 0,75$ – $33,80 \pm 0,84$ %.

Аналізуючи показники вмісту загального протеїну і білкових фракцій у плазмі крові курей-несучок за кадмієвого навантаження та застосування дослідних препаратів, варто зазначити, що вірогідна різниця між птицею контрольної і дослідних груп спостерігалась з 14 доби дослідів.

При дослідженні глобулінової фракції у крові курей-несучок встановлено її підвищення лише у контрольній групі курей, яким здійснювали кадмієве навантаження (рис. 3). На 14 і 21 доби дослідів рівень глобулінів у крові контрольної групи курей зріс на 4,16 і 5,62 %. При згодовуванні курям-несучкам дослідних груп розторопші плямистої, метіфену та силімевіту встановлено незначне підвищення глобулінової фракції на першу і сьому добу дослідів. На 14 добу дослідів рівень глобулінів у крові дослідних груп Д₁ і Д₂ становив $68,74 \pm 1,84$ і $68,89 \pm 2,06$ %, тимчасом як у контрольній групі даний показник був значно більшим і відповідно становив $70,38 \pm 1,85$ %. У крові курей-несучок, яким з сульфатом кадмію згодовували силімевіт, встановлено у вказаний період дослідів менший рівень глобулінів, а саме $67,09 \pm 1,96$ %.

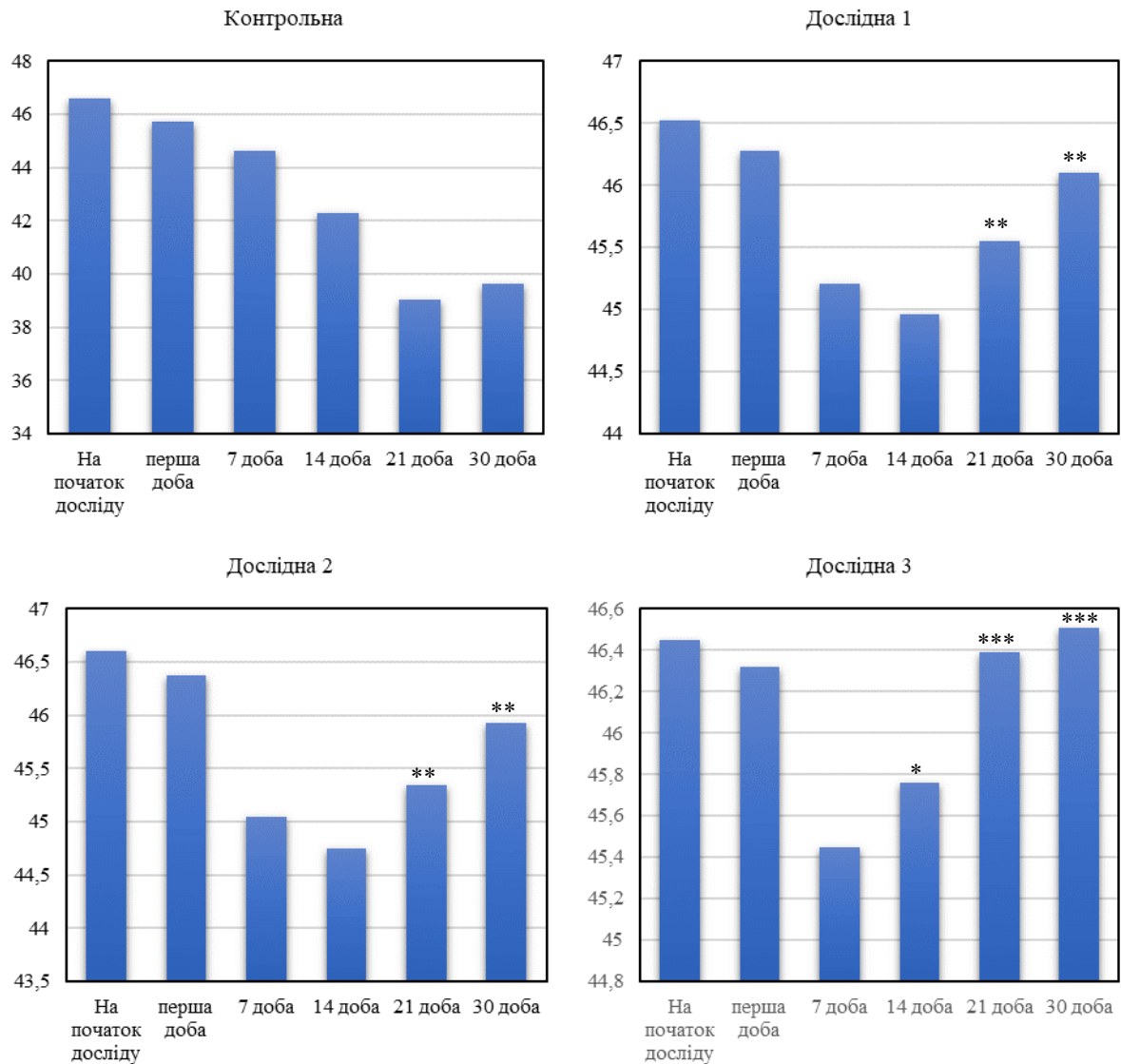
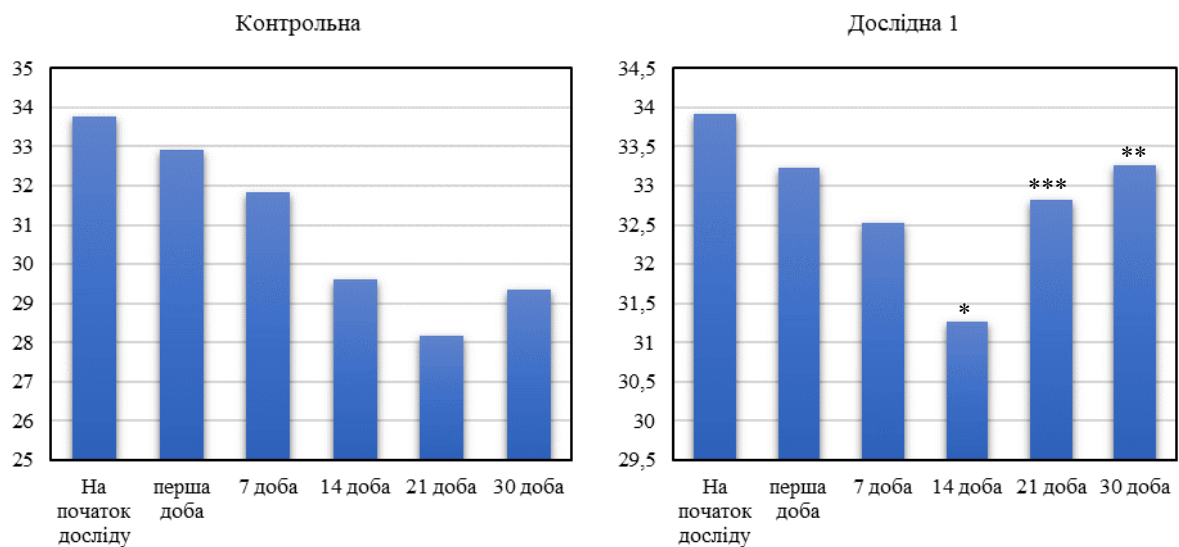


Рис. 1. Рівень загального протеїну у крові курей-несучок після задавання розторопші плямистої, метіфену та силімевіту за хронічного кадмієвого токсикозу, г ($M \pm m$, $n = 8$)

Примітка: статистично вірогідні різниці враховували порівняно з контрольною групою: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$



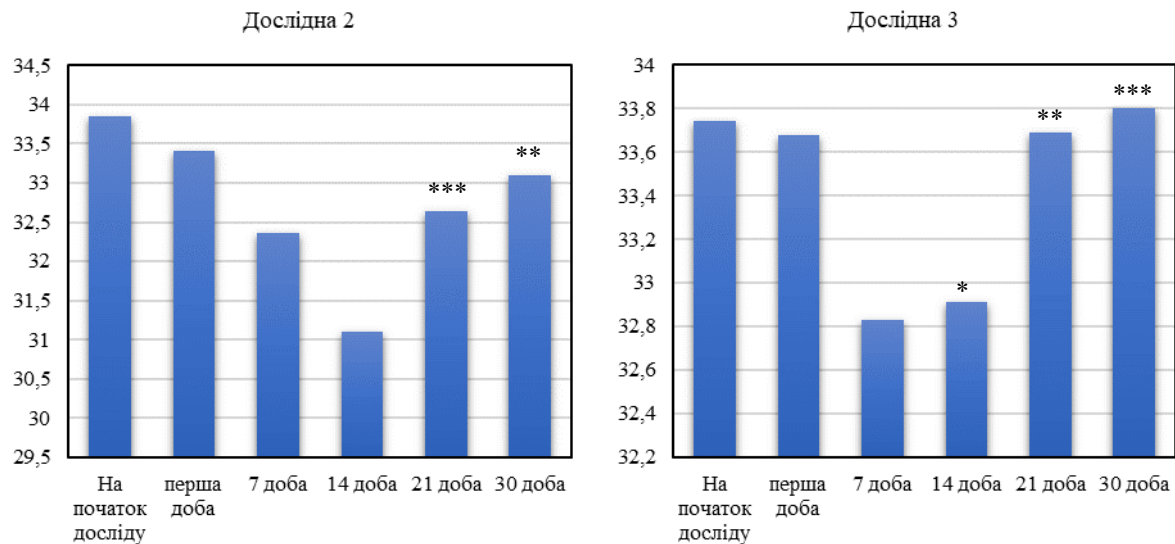


Рис. 2. Рівень альбумінів у крові курей-несучок після задавання розторопші плямистої, метіфену та силімевіту за хронічного кадмієвого токсикозу, % ($M \pm m$, $n = 8$)

Примітка: статистично вірогідні різниці враховували порівняно з контрольною групою: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

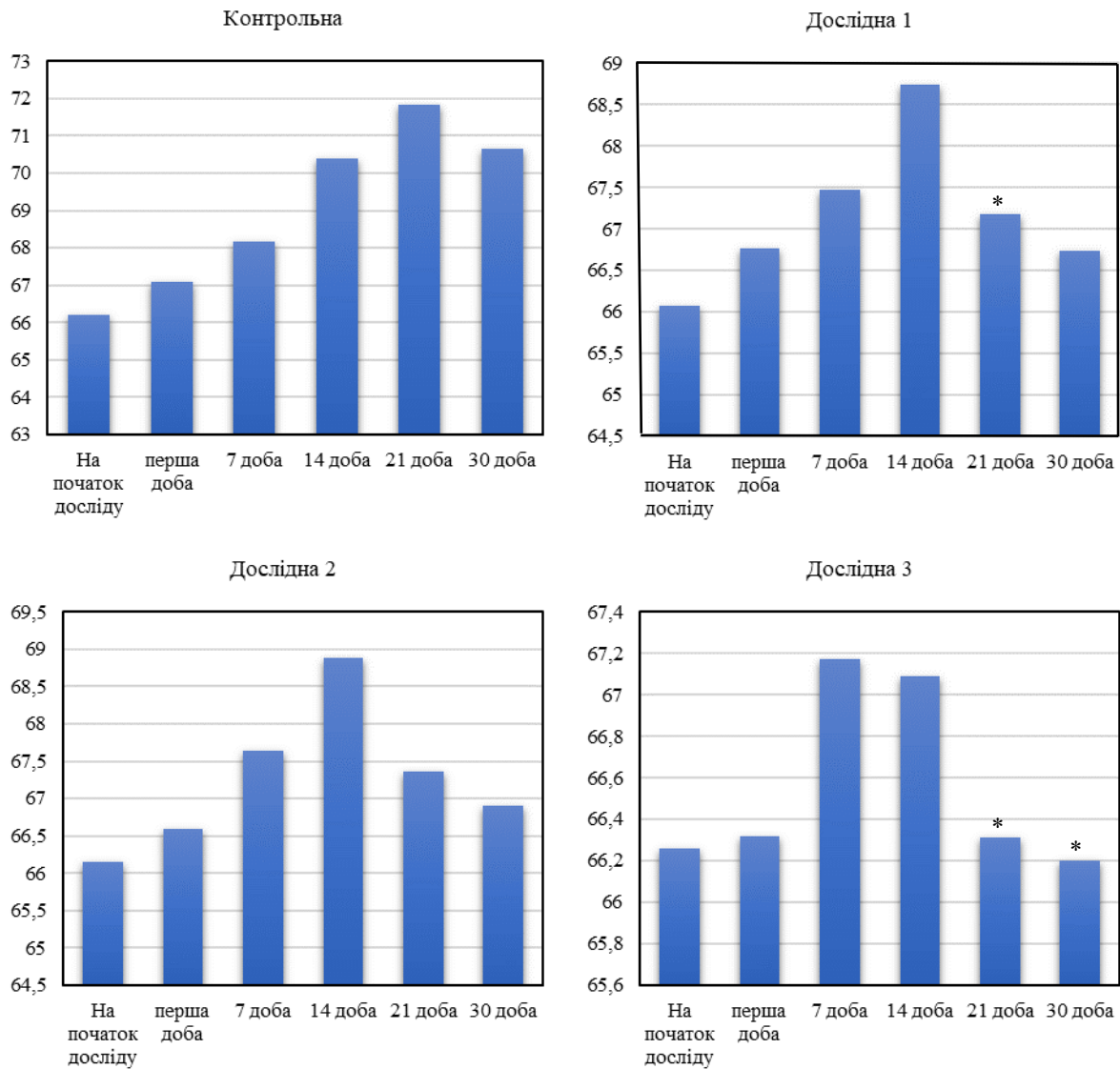


Рис. 3. Рівень глобулінів у крові курей-несучок після задавання розторопші плямистої, метіфену та силімевіту за хронічного кадмієвого токсикозу, % ($M \pm m$, $n = 8$)

Примітка: статистично вірогідні різниці враховували порівняно з контрольною групою: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

На 21 і 30 добу дослідів рівень глобулінів у крові перших двох дослідних групах, яким згодовували розторопшу плямисту та метіфен, знижувався, однак не доходив до початкових величин. Лише у курей дослідної групи Дз, якій згодовували з кормом силімевіт, встановлено зниження рівня глобулінової фракції до рівня початкових величин.

Зменшення вмісту альбумінів за одночасного зростання рівня глобулінової фракції оцінюють як диспротеїнемію, що настає внаслідок порушення протеїносинтезальної функції печінки з одного боку, а з іншого – як результат порушення всмоктування продуктів розщеплення білка з тонкої кишки, що настає внаслідок ураження слизової оболонки токсинами.

Висновки

За кадмієвого навантаження курей-несучок розторопша плямиста, метіфен та силімевіт позитивно впливають на протеїносинтезальну функцію печінки, на що вказує збільшення рівня загального протеїну та альбумінів.

Згодовування з кормом розторопші плямистої та силімевіту сприяло кращій нормалізуючій дії на протеїносинтезальну функцію печінки, ніж застосування метіфену.

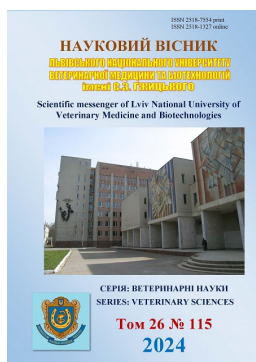
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Al-Azemi, M., Omu, F.E., Kehinde, E.O., Anim, J.T., Oriowo, M. A., & Omu, A. E. (2010). Lithium protects against toxic effects of cadmium in the rat testes. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 27 (8), 469–476. DOI: 10.1007/s10815-010-9426-3.
- Ali, M. M., Murthy, R. C., & Chandra, S. V. (1986). Developmental and longterm neurobehavioral toxicity of low-level in utero Cd exposure in rats. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 8(5), 463–468. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3785508>.
- Antoniak, H. L., Biletska, L. P., & Babych, N. A. (2010). Kadmii v orhanizmi liudyny i tvaryn. Nadkhodzhennia do klityn i yikh akumulatsiia. *Biologichni Studii. Studia Biologica*, 4(2), 127–140 (in Ukrainian).
- El-Shahat, A. E., Gabr, A., Meki, A. R., & Mehana, E. S. (2009). Altered testicular morphology and oxidative stress induced by cadmium in experimental rats and protective effect of simultaneous green tea extract. *Int. J. Morphol.*, 27 (3), 757–764. DOI: 10.4067/S0717-95022009000300020.
- Fregoneze, J. B., Marinho, C. A., Soares, T., Castro, L., Sarmento, C., Cunha, M., Gonzalez, V., Oliveira, P., Nascimento, T., Luz, C. P., Santana, Jr. P., De-Oliveira, I.R., & e-Castro-e-Silva, E. (1997). Lead (Pb²⁺) and cadmium (Cd²⁺) inhibit the dipsogenic action of central beta-adrenergic stimulation by isoproterenol. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30(3), 419–423. DOI: 10.1590/S0100-879X1997000300018.
- Gutyj, B. V., Hariv, I. I., Guta, Z. A., Leskiv, K. Y., Todoriuk, V. B., Khymynets, P. S., & Martyshuk, T. V. (2023). The effect of cadmium on the immune status of young cattle and the effects of corrective factors. *Agrology*, 6(2), 45–48. DOI: 10.32819/021207.
- Gutyj, B. V., Martyshuk, T. V., Parchenko, V. V., Kaplaushenko, A. H., Bushueva, I. V., Hariv, I. I., Bilash, Y. P., Brygadyrenko, V. V., Turko, Y. I., & Radzykhovskiy, M. L. (2022). Effect of liposomal drug based on interferon and extract from *Silybum marianum* on antioxidative status of bulls against the background of contamination of fodders by cadmium and plumbum. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(4), 419–425. DOI:10.15421/022255.
- Gutyj, B. V., Murs'ka, S. D., Gufrij, D. F., Hariv, I. I., Levkivs'ka, N. D., Nazaruk, N. V., Gajdjuk, M.B., Pryjma, O.B., Bilyk, O. Ja., & Guta, Z. A. (2016). Influence of cadmium loading on the state of the antioxidant system in the organism of bulls. *Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology*, 24(1), 96–102. DOI: 10.15421/011611.
- Gutyj, B., Ostapiuk, A., Kachmar, N., Stadnytska, O., Sobolev, O., Binksevyeh, V., Petryshak, R., Petryshak, O., Kulyaba, O., Naumyuk, A., Nedashkivsky, V., Nedashkivska, N., Magrelo, N., Golodyuk, I., Nazaruk, N., Binkevych, O. (2019). The effect of cadmium loading on protein synthesis function and functional state of laying hens' liver. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9(3), 222–226. URL: <https://www.ujecology.com/articles/the-effect-of-cadmium-loading-on-protein-synthesis-function-and-functional-state-of-laying-hens-liver.pdf>.
- Hutyi, B. V. (2013). Vmist vitaminiv A i E u krvi bychkiv za umov kadmiiivoi intoksykatsii. *Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Serii: Vetrynarna medytsyna*, 2, 31–33. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_vet_2013_2_10 (in Ukrainian).
- Hutyi, B. V. (2013). Vplyv E-selenu na vmist vitaminiv A i E u krvi bychkiv za umov kadmiiivoi intoksykatsii. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu vetrynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. Gzhytskoho*, 15(3(3)), 311–314. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2013_15_3\(3\)_55](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2013_15_3(3)_55) (in Ukrainian).
- Hutyi, B. V. (2013). Vplyv khlorydu kadmiiu u riznykh dozakh na aktyvnist aminotransferaz syrovatky krvi buhaitiv. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu vetrynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. Gzhytskoho*, 15(1(1)), 49–52. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2013_15_1\(1\)_11](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2013_15_1(1)_11) (in Ukrainian).
- Kraikivska, H., Gutyj, B., Hunchak, A., Hunchak, V., Horalskyi, L., Sokulskyi, I., Martyshuk, T., Khariv, I., Slobodiuk, N., Demus, N., & Vus, U. (2023). Functional state and protein-synthesizing function of the liver of laying hens under conditions of cadmium loading. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural*

- Sciences, 25(99), 171–175. DOI: 10.32718/nvlvet-a9928
- Lavryshyn, Y., & Gutyj, B. (2019). Protein synthesis function of bulls liver at experimental chronic cadmium toxicity. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(94), 92–96. DOI: 10.32718/nvlvet9417.
- Lavryshyn, Y., Gutyj, B., Palyadichuk, O., & Vishchur, V. (2018). Morphological blood indices of bulls in experimental chronic cadmium toxicosis. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(88), 108–114. DOI: 10.32718/nvlvet8820.
- Lavryshyn, Y., Gutyj, B., Paziuk, I., Levkivska, N., Romanovych, M., Drach, M., & Lisnyak, O. (2019). The effect of cadmium loading on the activity of the enzyme link of the glutathione system of bull organism. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(95), 107–111. DOI: 10.32718/nvlvet9520.
- Liu, J., Qian, S.Y., Guo, Q., Jiang, J., Waalkes, M.P., Mason, R.P., & Kadiiska, M.B. (2008). Cadmium generates reactive oxygen- and carbon-centered radical species in rats: Insights from in vivo spin-trapping studies. *Free Radic Biol Med.*, 45(4), 475–481. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.041.
- Lu, J., Jin, T., Nordberg, G., & Nordberg, M. (2005). Metallothionein gene expression in peripheral lymphocytes and renal dysfunction in a population environmentally exposed to cadmium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 206(2), 150–156. DOI: 10.1016/j.taap.2004.12.015.
- Melnychuk, D. O., Melnykova, N. M., & Derkach, Ye. A. (2004). Vikovi osoblyvosti kumuliatsii kadmiu v orhanakh otruienykh shchuriv i zminy pokaznykiv kyslotnoluzhnoho stanu krovi za riznykh umov antyoksydantnoho zakhystu orhanizmu. *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal*, 95–99 (in Ukrainian).
- Nazaruk, N., Gutyj, B. V., & Hufriy, D. (2015). Influence of metifen and vitamix se on the activity of aminotransferases of bulls blood serum at cadmium nitrate loading. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 17(1), 121–126. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/231>.
- Ostapjuk, A. Y., & Gutyj, B. V. (2018). Influence of cadmium loading on morphological parameters of blood of the laying hens. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(88), 48–52. DOI: 10.32718/nvlvet8808.
- Ostapjuk, A. Y., Gutyj, B. V., Horalskyi, L. P., Mylostyvyi, R. V., Sokulskyi, I. M., Butsyak, A. A., Popadiuk, S. S., & Leskiv, Kh. Ya. (2023). Effect of milk thistle and silimevit on the functional state and protein synthesizing-function of the liver of laying hens under conditions of cadmium load. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 25(112), 145–150. DOI: 10.32718/nvlvet11224.
- Ostapjuk, A. Yu., Gutyj, B. V., Leskiv, Kh. Ya., & Shcherbatyi, A. R. (2023). The toxic effect of cadmium on the animal body and its prevention. Achievements and research prospects in animal husbandry and veterinary medicine : Scientific monograph. Riga, Latvia : «Baltija Publishing», 93-124. DOI: 10.30525/978-9934-26-316-3-6.
- Peng, L., Wang, X., Huo, X., Xu, X., Lin, K., Zhang, J., Huang, Y., & Wu, K. (2015). Blood cadmium burden and the risk of nasopharyngeal carcinoma: a case-control study in Chinese Chaoshan population. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(16), 12323–12331. DOI: 10.1007/s11356-015-4533-4.
- Rodriguez, E. M., Bigi, R., Medesani, D. A., Stella, V. S., Greco, L. S. L., Moreno, P. A. R., Monserrat, J. M., Pellerano, G. N., & Ansaldo, M. (2001). Acute and chronic effects of cadmium on blood homeostasis of an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata*, and the modifying effect of salinity. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34(4), 509–518. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11285463>.
- Salvatori, F., Talassi, C. B., Salzgeber, S. A., Sipinosa, H. S., & Bernardi, M. M. (2004). Embryotoxic and long-term effects of cadmium exposure during embryogenesis in rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 26(5), 673–680. DOI: 10.1016/j.ntt.2004.05.001.
- Shcherbatyi, A. R., & Slivinska, L. G. (2022). Prevalence and structure of metabolic diseases of laying hens. Topical issues of the development of veterinary medicine and breeding technologies. Scientific monograph. Riga, Latvia : “Baltija Publishing”, 294–310. DOI: 10.30525/978-9934-26-258-6-8.
- Shcherbatyy, A. R., & Slivinska, L. G. (2021). Overview: prevalence and structure of metabolic diseases of laying chickens, their influence on egg quality and condition of young chickens. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(104), 3–9. DOI: 10.32718/nvlvet10401.
- Slivinska, L. G., Yaremchuk, V. Y., Shcherbatyy, A. R., Gutyj, B. V., & Zinko, H. O. (2022). Efficacy of hepatoprotectors in prophylaxis of hepatosis of laying hens. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(3), 287–293. DOI:10.15421/022237.
- Smychok, L., Gutyj, B., Sachuk, R., Khalak, V., Ilchyshyn, M., Vus, U., Stadnytska, O., Todoriuk, V., Martyshuk, T., Sobolta, A., Vysotskyi, A., & Magrelo, V. (2023). System of antioxidant protection of young cattle under cadmium load. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences*, 25(99), 182–189. DOI: 10.32718/nvlvet-a9930.
- Uetani, M., Kobayashi, E., Suwazono, Y., Okubo, Y., Honda, R., Kido, T., & Nogawa, K. (2005). Selenium, Cadmium, Zinc, Copper, and Iron Concentrations in Heart and Aorta of Patients Exposed to Environmental Cadmium. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75(2), 246–250. DOI: 10.1007/s00128-005-0744-6.
- Vlizlo, V. V. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biolohiyi, tvarynnytstvi ta veterynarniy medytsyni. Spolom, Lviv (in Ukrainian).
- Vorozhenko, V. V., & Skalskyi, Yu. M. (2011). Hiihienichna otsinka ryzykiv vplyvu neradiatsiinykh antropohennykh chynnykiv na stan zdorovia naselennia Ukrainy. *Odeskyi medychnyi zhurnal*, 5(127), 4–8 (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/nvlvet11509
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:612.818:616.126.42:636.7

Intensity of lipid peroxidation processes in the blood of dogs infected with the causative agent of toxocariasis

I. V. Tokar¹✉, V. V. Stybel^{1,2}, B. V. Gutyj¹

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

²State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

Article info

Received 29.05.2024

Received in revised form

01.07.2024

Accepted 02.07.2024

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary
Medicine and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010,
Ukraine.
Tel.: +38-093-610-20-03
E-mail: vet.tim.lviv@gmail.com

State Scientific-Research Control
Institute of Veterinary Medicinal
Products and Feed Additives,
Donetska Str., 11, Lviv, 79019,
Ukraine.

Tokar, I. V., Stybel, V. V., & Gutyj, B. V. (2024). Intensity of lipid peroxidation processes in the blood of dogs infected with the causative agent of toxocariasis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 64–69. doi: 10.32718/nvlvet11509

Gastrointestinal helminthiasis, particularly toxocarosis, is the most common invasive disease of dogs in our country and abroad. It is important to note that toxocarosis is a zoonosis that poses a threat not only to animals but also to humans. It is known that one of the manifestations of the toxic effect of toxocar byproducts is the activation of the processes of peroxide oxidation of cell membrane lipids. Lipid peroxidation is one of the most essential oxidation processes in the body of dogs. Currently, this process is considered one of the leading causes of cell damage and death due to the negative effect of reactive oxygen species. Any sufficiently powerful impact on the animal body, including the development of toxocarosis, can initiate lipid peroxidation processes. That is why the work aimed to determine the effect of toxocarosis infestation on the level of intermediate and final products of lipid peroxide oxidation in the body of dogs. 12 dogs aged two to four months were used for experimental research, and two groups of six animals each were formed: control and experimental. Puppies of the control group were clinically healthy. Puppies of the research group were experimentally infected with the causative agent of toxocarosis at a dose of 5,000 invasive *T. canis* eggs per kg of body weight. The development of toxocarosis in dogs leads to a significant and probable ($P < 0.001$) accumulation in the blood of dogs in all periods of the study of the content of intermediate (diene conjugates) and final (TBC-active products) products of lipid peroxidation. In dogs with experimental toxocarosis, an increase in these LPO products was established, especially on the 28th and 35th days of the experiment, where, accordingly, the level of diene conjugates ranged from 0.750 ± 0.004 to 0.675 ± 0.003 odA/ml ($P < 0.001$), and the level of TBC-active products - in the range of 38.38 ± 0.174 – 38.18 ± 0.137 $\mu\text{mol/l}$ ($P < 0.001$). These changes may be because, in the pathogenesis of toxocariasis in dogs, an important role is played by the increased formation of reactive oxygen species, which subsequently cause a disturbance in the balance between the content of oxidants and antioxidants in the body of dogs. It is also worth paying attention to more significant changes in the level of intermediate POL products in dogs' blood during experimental toxocarosis compared to the final products.

Key words: parasitology, toxocariasis, dogs, diene conjugates, TBC-active products.

Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів у крові собак, інвазованих збудником токсокарозу

І. В. Токар¹✉, В. В. Стибель^{1,2}, Б. В. Гутий¹

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

Шлунково-кишкові гельмінтози, зокрема токсокароз, є найпоширенішими інвазійними хворобами собак у нашій країні та за її межами. Важливо зазначити, що токсокароз є зоонозом, що становить загрозу не лише тваринам, а також і для людей. Відомо, що одним з проявів токсичного впливу продуктів життєдіяльності токсокар є активація процесів пероксидного окиснення ліпідів клітинних мембран. Пероксидне окиснення ліпідів є одним із найважливіших окиснювальних процесів в організмі собак. Нині даний процес вважається одним з основних причин пошкодження та загибелі клітини внаслідок негативної дії активних форм кисню. Будь-який достатньо потужний вплив на організм тварин, в тому числі розвиток токсокарозу, може ініціювати процеси пероксидного окиснення ліпідів. Саме тому метою роботи було з'ясувати вплив токсокарозої інвазії на рівень проміжних та кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів організму собак. Для проведення експериментальних досліджень було використано 12 собак дво-чотиримісячного віку та сформовано дві групи з шести тварин у кожній: контрольна та дослідна. Цуценята контрольної групи були клінічно здоровими. Цуценят дослідної групи експериментально заражали збудником токсокарозу у дозі 5000 інвазійних яєць *T. canis* на кг маси тіла. Розвиток токсокарозу у собак призводить до значного та вірогідного ($P < 0,001$) накопичення в крові собак у всі періоди дослідження вмісту проміжних (дієнових кон'югатів) та кінцевих (ТБК-активних продуктів) продуктів пероксидного окиснення ліпідів. У собак за експериментального токсокарозу встановлено підвищення даних продуктів ПОЛ, особливо на 28 і 35 доби досліді, де відповідно рівень дієнових кон'югатів коливався у межах $0,750 \pm 0,004 - 0,675 \pm 0,003$ одА/мл ($P < 0,001$), а рівень ТБК-активних продуктів – у межах $38,38 \pm 0,174 - 38,18 \pm 0,137$ мкмоль/л ($P < 0,001$). Дані зміни, можливо, зумовлені тим, що у патогенезі токсокарозу в собак важливу роль відіграє посилене утворення активних форм кисню, які у подальшому спричиняють порушення балансу між вмістом окисдантів та антиоксидантів в організмі собак. Також варто звернути увагу на суттєвіші зміни рівня проміжних продуктів ПОЛ у крові собак за експериментального токсокарозу порівняно з кінцевими продуктами.

Ключові слова: паразитологія, токсокароз, собаки, дієнові кон'югати, ТБК-активні продукти.

Вступ

Серед інвазійних хвороб собак, незалежно від регіону, сезону, віку та породи, найбільш часто реєструються гельмінтози травного каналу (Bodnia, 2016; Dralo et al., 2017; Sieng et al., 2023). Варто зазначити, що токсокароз у собак є важливим питанням ветеринарної медицини, яке потребує серйозної уваги з боку власників домашніх тварин (Svirzhevskaya, 2011; 2013; Dralova et al., 2017; Said et al., 2018; Yuan et al., 2024). Це захворювання викликане паразитичними червами роду *Toxocara*, зокрема *Toxocara canis*, які є одним з найбільш поширених гельмінтів, що заражають собак (Chidumayo, 2020; Jenkins, 2020; Ketzis & Lucio-Forster, 2020; Xu et al., 2022). Інвазія може мати серйозні наслідки для здоров'я тварини, а також становити небезпеку для людей, оскільки деякі з її форм можуть передаватися через фекалії заражених собак. Оскільки паразити можуть тривалий час перебувати в організмі без явних симптомів, регулярне профілактичне обстеження і дегельмінтизація є ключовими для підтримання здоров'я собак і запобігання поширенню інвазій (Rubinsky-Elefant et al., 2011; Zwickl et al., 2018; Zheng et al., 2019; 2021; Li et al., 2022; Mubarak et al., 2023).

Як відомо, статевозрілі токсокари викликають кишкову форму захворювання, а личинки – вісцеральну. В процесі міграції та життєдіяльності личинки здатні спричинювати тяжкі поліорганні ураження аж до летальних (Dantas-Torres, 2020; Ng-Nguyen & Nguyen, 2024).

Токсокароз характеризується різноманітними симптомами захворювання, що варіюються від легких симптомів, таких як розлад травлення, до серйозних ускладнень, включаючи затримку росту в цуценят і порушення функцій внутрішніх органів (Pryima, 2010; Nijse et al., 2015; Moisieva et al., 2017). У разі значної інтенсивності інвазії дорослі паразити спричинюють запалення слизової оболонки тонких кишок, шлунку, жовчних протоків печінки та підшлункової залози. Токсокари виділяють продукти життєдіяльності, які всмоктуючись в кров, спричинюють загальну інтоксикацію організму, що у подальшому сприяє утворенню великої кількості активних форм кисню та

посиленню процесів пероксидного окиснення ліпідів (Othman, 2011; Schnieder et al., 2011; Said et al., 2018).

Відомо, що одним з проявів токсичного впливу метаболітів токсокар є активація процесів ПОЛ клітинних мембран. Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) є одним із найважливіших окиснювальних процесів в організмі тварин (Grymak et al., 2020). Нині ПОЛ вважається однією з основних причин пошкодження та загибелі клітини внаслідок дії активних форм кисню та вільних радикалів (Gutyj et al., 2022). Відомо, що будь-який достатньо потужний вплив навколишнього середовища на організм тварин може ініціювати процеси ПОЛ (Martyshuk & Gutyj, 2019).

Пероксидне окиснення ліпідів є нормальним фізіологічним процесом, що постійно проходить в організмі тварин, і є процесом безпосереднього перенесення кисню на субстрат з утворенням перекисів, кетонів, альдегідів та інших сполук (Shcherbaty et al., 2019; Varkholiak & Gutyj, 2019; Verveha et al., 2023). Субстратом ПОЛ є поліненасичені жирні кислоти. Проміжними продуктами пероксидації є гідропероксиди ліпідів, для яких характерна висока реакційна активність, тому вони спричиняють пошкоджувальну дію на біомолекули (Slivinska et al., 2020; Slobodian et al., 2021). Проте пероксиди ліпідів є досить нестійкими і легко піддаються розпаду з утворенням більш стійких, вторинних (проміжних) продуктів ПОЛ (спирти, альдегіди, діальдегіди, ацетон). Кінцевим продуктом пероксидації є ТБК-активні продукти (Slobodian & Hutyj, 2020; Vasylyev et al., 2021; Vyslotska et al., 2024).

Переважаання процесів пероксидної оксидації ліпідів над активністю антиоксидантного захисту має місце при інвазійних хворобах собак. Стан ПОЛ при даній патології характеризується накопиченням його первинних (дієнові кон'югати) і вторинних (ТБК-активних продуктів) продуктів. Незважаючи на велику кількість досліджень, присвячених вивченню проблеми оксидативного стресу та стану систем протіоксидантного захисту у тварин, зокрема інвазійних захворювань, залишаються не до кінця з'ясованими механізми їх взаємозв'язку із проявами токсокарозої інвазії.

Мета дослідження

З'ясувати вплив токсокарозої інвазії на рівень проміжних та кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів організму собак.

Матеріал і методи досліджень

Роботу виконували на кафедрі паразитології та їхтіопатології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Для проведення експериментальних досліджень було використано 12 собак дво-чотиримісячного віку та сформовано дві групи з шести тварин у кожній: контрольна та дослідна. Цуценят дослідної групи експериментально заражали збудником токсокарозу у дозі 5000 інвазійних яєць *Toxocara canis* на кг маси тіла. Цуценята контрольної групи були клінічно здоровими.

Вміст ТБК-активних продуктів досліджували за методом Є. Н. Коробейникова (1989), рівень дієнових кон'югатів (ДК) – за методом І. Д. Стальної (1977) (Vlizlo et al., 2012).

Усі маніпуляції з тваринами проводили з урахуванням “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Україна, 2001), згідно з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин”, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Аналіз результатів досліджень проводили за допомогою пакету програм Statistica 6.0. Вірогідність різ-

ниць оцінювали за t-критерієм Стюдента. Результати середніх значень вважали статистично ймовірними при * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$ (ANOVA).

Результати та їх обговорення

Пероксидне окиснення ліпідів є одним з універсальних механізмів ушкодження клітин. При експериментальному інвазуванні собак збудником токсокарозу встановлено посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів. На дане посилення вказує рівень проміжних та кінцевих продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові інвазованих собак.

При дослідженні рівня дієнових кон'югатів у крові собак встановлено, що у крові контрольної групи тварин він коливався у межах $0,272 \pm 0,003 - 0,279 \pm 0,002$ ода/мл. У інвазованих собак дослідної групи встановлено вірогідне зростання рівня дієнових кон'югатів у їх крові. Так, на першу добу дослідів рівень проміжних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові собак дослідної групи зріс на 20,5 % порівняно з контрольною групою. На 7 і 14 добу дослідів встановлено зростання рівня дієнових кон'югатів у крові інвазованих собак відповідно на 59,9 і 89,4 % порівняно з контролем. На 21 добу дослідів рівень дієнових кон'югатів у крові собак дослідної групи становив $0,603 \pm 0,005$ ода/мл, тимчасом як у контролі – $0,273 \pm 0,003$ ода/мл (рис. 1).

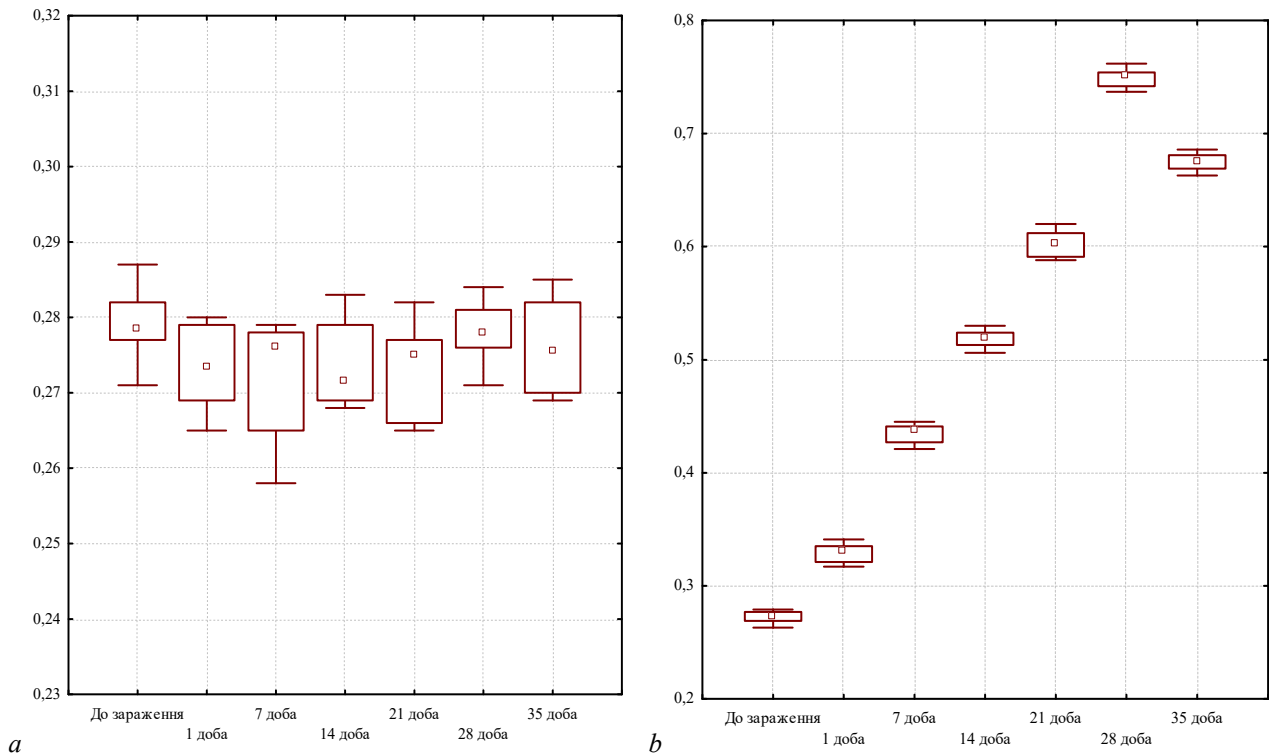


Рис. 1. Рівень дієнових кон'югатів у крові собак, інвазованих збудником токсокарозу, ода/мл ($M \pm m$, $n = 6$); а – контрольна група; б – дослідна група

На 28 добу досліджу рівень досліджуваного показника у крові собак дослідної групи вірогідно зріс у 2,70 раза ($P < 0,001$) порівняно з показниками контрольної групи. Дещо нижчого рівня даний показник досягав у крові інвазованих тварин на 35 добу досліджу, де відповідно він становив $0,750 \pm 0,004$ одА/мл, тимчасом як у контрольної групи показник був значно нижчим – $0,276 \pm 0,003$ одА/мл.

При дослідженні кінцевих продуктів перексидного окиснення ліпідів встановлено, що у крові собак контрольної групи він коливався у межах $24,83 \pm 0,041$ – $24,92 \pm 0,035$ одА/мл. У крові інвазованих собак дослідної групи встановлено зростання рівня ТБК-активних продуктів на 7 добу досліджу відповідно на 22,2 % порівняно з контрольною групою (рис. 2).

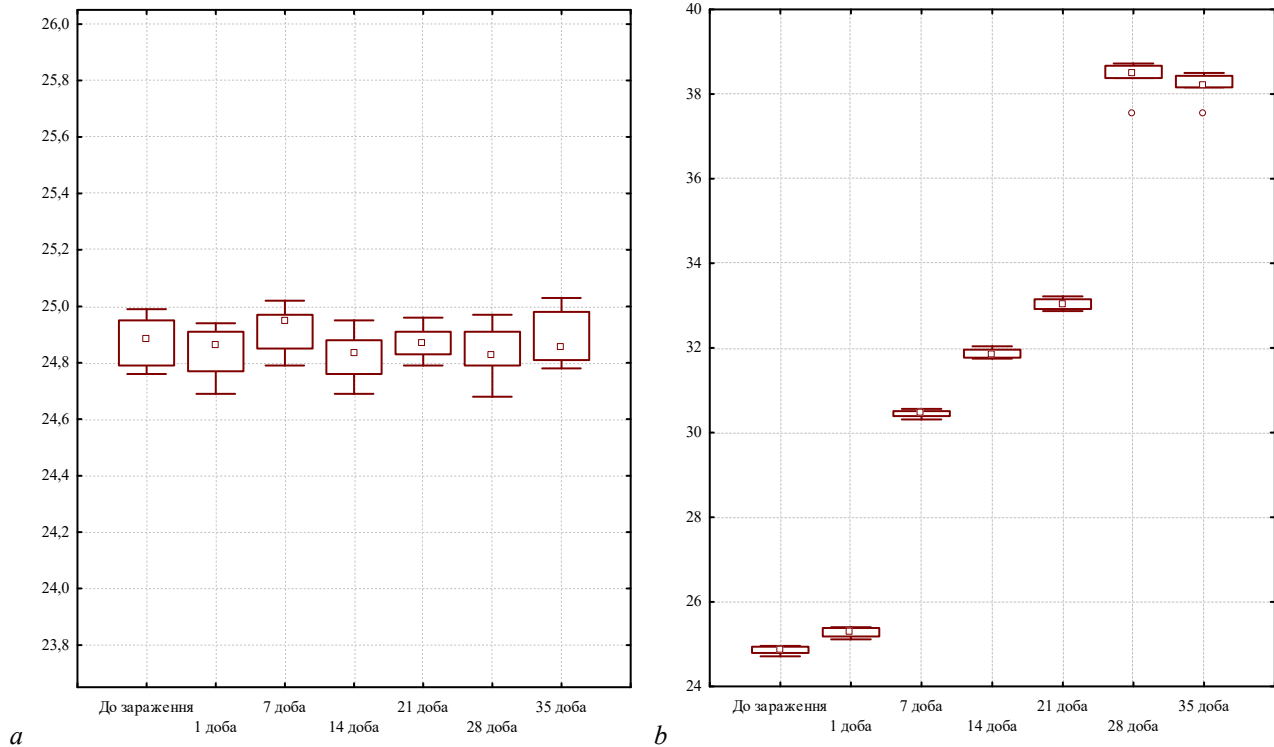


Рис. 2. Рівень ТБК-активних продуктів у крові собак, інвазованих збудником токсокарозу, мкмоль/л ($M \pm m$, $n = 6$); *a* – контрольна група; *b* – дослідна група

На 14 і 21 доби досліджу рівень ТБК-активних продуктів у крові собак, інвазованих збудником токсокарозу, становив $31,87 \pm 0,047$ і $33,04 \pm 0,056$ мкмоль/л. Найвищого рівня даний показник досягав на 35 добу досліджу у крові собак дослідної групи, де відповідно становив $38,38 \pm 0,174$ мкмоль/л, тимчасом як у контрольній групі становив $24,83 \pm 0,041$ мкмоль/л. На 35 добу досліджу рівень ТБК-активних продуктів у крові собак дослідної групи вірогідно зріс на 53,4 % ($P < 0,001$) порівняно з контролем.

Висновки

Розвиток токсокарозу в собак призводить до значного та вірогідного ($P < 0,001$) прискорення утворення і накопичення в крові собак у всі періоди дослідження вмісту проміжних (дієнових кон'югатів) та кінцевих (ТБК-активних продуктів) продуктів перексидного окиснення ліпідів. У собак за експериментального токсокарозу встановлено підвищення даних продуктів ПОЛ, особливо на 28 і 35 доби досліджу, де відповідно рівень дієнових кон'югатів коливався у межах $0,750 \pm 0,004$ – $0,675 \pm 0,003$ одА/мл, а рівень ТБК-активних продуктів – у межах $38,38 \pm 0,174$ – $38,18 \pm 0,137$ мкмоль/л.

Відомості про конфлікт інтересів

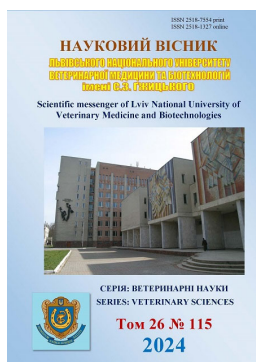
Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Bodnia, I. P. (2016). Stan adaptivno-kompensatornykh mozhlyvosti orhanizmu liudyny pry toksokarozi. *Hepatolohiia*, 4, 19–33. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/gepat_2016_4_4 (in Ukrainian).
- Chidumayo, N. N. (2020). Prevalence of Toxocara in dogs and cats in Africa. *Advances in parasitology*, 109, 861–871. DOI: 10.1016/bs.apar.2020.01.032.
- Dantas-Torres, F. (2020). Toxocara prevalence in dogs and cats in Brazil. *Advances in parasitology*, 109, 715–741. DOI: 10.1016/bs.apar.2020.01.028.
- Dralo, O. A., Usachova, O. V., & Konakova, O. V. (2017). Koreliatsiini vzaiemovviazky imunolohichnykh ta kliniko-laboratornykh pokaznykiv patsiientiv iz toksokaroznoi invaziiu. *Aktualnaia infektolohiia*, 5(5), 235–238. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/akinf_2017_5_5_12 (in Ukrainian).
- Dralova, O. A., Usachova, O. V., Silina, Ye. A., & Konakova, O. V. (2017). Suchasnyi pohliad na problemu toksokaroznoi invazii u ditei (ohliad literatury). *Sov-*

- remennaja pediatrija, 3, 53–61. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Sped_2017_3_10 (in Ukrainian).
- Grymak, Y., Skoromna, O., Stadnytska, O., Sobolev, O., Gutyj, B., Shalovylo, S., Hachak, Y., Grabovska, O., Bushueva, I., Denys, G., Hudyma, V., Pakholkiv, N., Jarochohovich, 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.
- Gutyj, B. V., Martyshuk, T. V., Parchenko, V. V., Kaplaushenko, A. H., Bushueva, I. V., Hariv, I. I., Bilash, Y. P., Brygadyrenko, V. V., Turko, Y. I., & Radzykhovskiy, M. L. (2022). Effect of liposomal drug based on interferon and extract from *Silybum marianum* on antioxidative status of bulls against the background of contamination of fodders by cadmium and plumbum. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(4), 419–425. DOI: 10.15421/022255.
- Jenkins, D. J. (2020). *Toxocara canis* in Australia. *Advances in parasitology*, 109, 873–878. DOI: 10.1016/bs.apar.2020.01.033.
- Jenkins, E. J. (2020). *Toxocara* spp. in dogs and cats in Canada. *Advances in parasitology*, 109, 641–653. DOI: 10.1016/bs.apar.2020.01.026.
- Ketzi, J. K., & Lucio-Forster, A. (2020). *Toxocara canis* and *Toxocara cati* in domestic dogs and cats in the United States, Mexico, Central America and the Caribbean: A review. *Advances in parasitology*, 109, 655–714. DOI: 10.1016/bs.apar.2020.01.027.
- Li, H. Y., Zou, Y., Elsheikha, H. M., Xu, Y., Cai, L., Xie, S. C., Zhu, X. Q., & Zheng, W. B. (2022). Lipidomic changes in the liver of beagle dogs associated with *Toxocara canis* infection. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 890589. DOI: 10.3389/fcimb.2022.890589.
- Martyschuk, T. V., & Gutyj, B. V. (2019). Influence of feed additive “Butaselmavit-Plus” on antioxidant status of rats in conditions of oxidative stress. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural sciences*, 21(90), 76–81. DOI: 10.32718/nvlvet-a9013.
- Moisieieva, N. V., Kapustianska, A. A., Vakhnenko, A. V., Rumiantseva, M. O., & Kulyk, L. H. (2017). Toksokaroz – suchasni aspekty problemy. Aktualni problemy suchasnoi medytsyny, 17, 4(1), 272–277. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/apsm_2017_17_4\(1\)_63](http://nbuv.gov.ua/UJRN/apsm_2017_17_4(1)_63) (in Ukrainian).
- Mubarak, A. G., Mohammed, E. S., Elaadli, H., Alzaylaee, H., Hamad, R. S., Elkholy, W. A., & Youseef, A. G. (2023). Prevalence and risk factors associated with *Toxocara canis* in dogs and humans in Egypt: A comparative approach. *Veterinary medicine and science*, 9(6), 2475–2484. DOI: 10.1002/vms3.1228.
- Ng-Nguyen, D., & Nguyen, V. A. T. (2024). A cross-sectional study to quantify the prevalence of *Toxocara canis* in dogs in the Central Highlands of Vietnam. *Parasitology research*, 123(2), 133. DOI: 10.1007/s00436-024-08157-6.
- Nijsse, R., Ploeger, H. W., Wagenaar, J. A., & Mughini-Gras, L. (2015). *Toxocara canis* in household dogs: prevalence, risk factors and owners' attitude towards deworming. *Parasitology research*, 114(2), 561–569. DOI: 10.1007/s00436-014-4218-9.
- Othman, R. A. (2011). Prevalence of *Toxocara canis* in dogs, North West Bank of Palestine. *The Korean journal of parasitology*, 49(2), 181–182. DOI: 10.3347/kjp.2011.49.2.181.
- Pryima, O. B. (2010). Osoblyvosti poshyrennia toksokarozu sobak za yikh vikovoioi dynamikoiu. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu vetrynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Gzhytskoho*, 12(2), 254–257. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2010_12_2\(1\)_53](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2010_12_2(1)_53) (in Ukrainian).
- Rubinsky-Elefant, G., Hoshino-Shimizu, S., Jacob, C. M. A., Sanchez, M. C. A., & Ferreira, A. W. (2011). Potential immunological markers for diagnosis and therapeutic assessment of toxocarasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 53(2), 61–65. DOI: 10.1590/S0036-46652011000200001.
- Said, W., Stybel, V. V., Gutyj, B. V., & Prijma, O. B. (2018). A modern look at the problem of toxocarosis in dogs. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 20(83), 411–416. DOI: 10.15421/nvlvet8380.
- Schnieder, T., Laabs, E. M., & Welz, C. (2011). Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Veterinary parasitology*, 175(3–4), 193–206. DOI: 10.1016/j.vetpar.2010.10.027.
- Shcherbatyy, A. R., Slivinska, L. G., Gutyj, B. V., Fedorovich, V. L., & Lukashchuk, B. O. (2019). Influence of Marmix premix on the state of lipid peroxidation and indices of non-specific resistance of the organism of pregnant mares with microelementosis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(1), 87–91. DOI: 10.15421/021914.
- Sieng, S., Chen, P., Wang, N., Xu, J. Y., & Han, Q. (2023). *Toxocara canis*-induced changes in host intestinal microbial communities. *Parasites & vectors*, 16(1), 462. DOI: 10.1186/s13071-023-06072-w.
- Slivinska, L. G., Shcherbatyy, A. R., Lukashchuk, B. O., & Gutyj, B. V. (2020). The state of antioxidant protection system in cows under the influence of heavy metals. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11(2), 237–242. DOI: 10.15421/022035.
- Slobodian, S. O., & Hutyi, B. V. (2020). Stan antyoksydantnoi systemy orhanizmu shchuriv v umovakh tryvaloho kadmiievoho i svyntsevooho navantazhennia. *Visnyk PDAA*, 1, 196–201. DOI: 10.31210/visnyk2020.01.25 (in Ukrainian).
- Slobodian, S. O., Gutyj, B. V., Darmohray, L. M., & Povochnikov, M. G. (2021). Antioxidant status of the organisms of young bulls in the conditions of lead-cadmium load and effect of correcting factors. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(2), 315–320. DOI: 10.15421/022142.
- Svirzhevskaya, Ye. L. (2011). Etiotropna ta patohenetichna terapiia myslyvskykh sobak za larvalnoho toksokarozu. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu vetrynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. Gzhytskoho*, 13(4), 375–381. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2011_13_4\(1\)_71](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2011_13_4(1)_71) (in Ukrainian).
- Svirzhevskaya, Ye. L. (2013). Patohenez i likuvannia tsutseniat za toksokaroznoi invazii. *Vetrynarna*

- medytsyna Ukrainy. 1, 24–27. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vetm_2013_1_9 (in Ukrainian).
- Varkholiak, I. S., & Gutyj, B. V. (2019). Influence of the preparation “Bendamin” on the indicators of antioxidant protection of rat myocardium in experimental modeling of heart failure. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 21(95), 98–101. DOI: 10.32718/nvlvet9518.
- Vasylyev, D., Priimenko, B., Aleksandrova, K., Mykhalchenko, Y., Gutyj, B., Mazur, I., Magrelo, N., Sus, H., Dashkovskyy, O., Vus, U., & Kamratska, O. (2021). Investigation of the acute toxicity of new xanthine xenobiotics with noticeable antioxidant activity. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11(1), 315–318. URL: <https://www.ujecology.com/abstract/investigation-of-the-acute-toxicity-of-new-xanthine-xenobiotics-with-noticeable-antioxidant-activity-64063.html>.
- Verveha, B. M., Gutyj, B. V., Lishchuk, S. H., Holubiev, M. I., & Mylostyvyi, R. V. (2023). Oxidative modification of proteins and antioxidant status in blood of the rats with experimental acute generalized peritonitis against the background of streptozotocin-induced diabetes. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(2), 260–265. DOI: 10.15421/022338.
- Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., & Ratych, I. B. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnystvi ta veterynarii medytsyni. Dovidnyk. za red. Vlizla, V.V. Lviv. SPOLOM (in Ukrainian).
- Vyslotska, L., Gutyj, B., Goralskyi, L., Sachuk, R., Kolesnik, N., Ihlitska, S., Martyshuk, T., Khariv, I., Leskiv, K., Pavliv, O., & Vavrysevych, J. (2024). The influence of “Butaintersyl” on the antioxidant status of rats under conditions of toxic damage caused by tetrachloromethane. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 26(114), 227–236. DOI: 10.32718/nvlvet11433.
- Xu, Y., Zheng, W. B., Li, H. Y., Cai, L., Zou, Y., Xie, S. C., Zhu, X. Q., & Elsheikha, H. M. (2022). RNA sequencing reveals dynamic expression of spleen lncRNAs and mRNAs in Beagle dogs infected by *Toxocara canis*. *Parasites & vectors*, 15(1), 279. DOI: 10.1186/s13071-022-05380-x.
- Yuan, Y., Zhao, Q., Suo, X., Liu, X., & Hao, Z. (2024). Anthelmintic efficacy of nitazoxanide in dogs naturally infected with *Toxocara canis*. *Parasitology research*, 123(3), 162. DOI: 10.1007/s00436-024-08168-3.
- Zheng, W. B., Zou, Y., Elsheikha, H. M., Liu, G. H., Hu, M. H., Wang, S. L., & Zhu, X. Q. (2019). Serum metabolomic alterations in Beagle dogs experimentally infected with *Toxocara canis*. *Parasites & vectors*, 12(1), 447. DOI: 10.1186/s13071-019-3703-5.
- Zheng, W. B., Zou, Y., He, J. J., Liu, G. H., Hu, M. H., & Zhu, X. Q. (2021). Proteomic alterations in the plasma of Beagle dogs induced by *Toxocara canis* infection. *Journal of proteomics*, 232, 104049. DOI: 10.1016/j.jprot.2020.104049.
- Zwickl, L. L. M. N., Joekel, D. E., Fischer, N. M., Rosstaher, A., Thamsborg, K., Deplazes, P., & Favrot, C. (2018). Total and *Toxocara canis* larval excretory/secretory antigen- and allergen-specific IgE in atopic and non-atopic dogs. *Veterinary dermatology*, 29(3), 222–e80. DOI: 10.1111/vde.12527.



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/nvlvet11510
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.2:612.56:636.2.347

The spectrum of lactate dehydrogenase isozymes in ovarian tissue of cows under different physiological states and pathologies

M. M. Akymyshyn^{1✉}, N. V. Kuzmina², D. D. Ostapiv²

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

²Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

Article info

Received 29.05.2024

Received in revised form

01.07.2024

Accepted 02.07.2024

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary
Medicine and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-050-983-35-93
E-mail: marjasha_ua@ukr.net

Institute of Animal Biology NAAS,
V. Stusa Str., 38, Lviv,
79034, Ukraine.

Akymyshyn, M. M., Kuzmina, N. V., & Ostapiv, D. D. (2024). The spectrum of lactate dehydrogenase isozymes in ovarian tissue of cows under different physiological states and pathologies. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 70–74. doi: 10.32718/nvlvet11510

The article presents the results of studies on the lactate dehydrogenase (LDH) activity and content of its isozymes in ovarian tissue under various physiological and pathological states of cow gonads. Cow ovaries of the Ukrainian dairy black-spotted breed (age 5–8 years, live weight 450–500 kg) of different physiological states were used for research: with “early yellow body”, diameter 10–20 mm, red or brown color (EYB; $n = 41$); with “late yellow body”, diameter 5–15 mm, color yellow (LYB; $n = 32$); “follicular growth”, without corpus luteum (FG; $n = 84$) and with hypofunction ($n = 21$). The activity and content of lactate dehydrogenase (LDH) isozymes were determined in the supernatant after centrifugation of gonadal tissue homogenates prepared according to standard methods. The content of LDH isozymes (%) was determined after vertical protein electrophoresis of tissue samples in plates of 7.5 % polyacrylamide gel (PAAG) and specific staining according to J. Garbus in our modification and calculated with TotalLab TL120 software. LDH activity was determined by the rate of NADH oxidation and was calculated in $\mu\text{catal}/\text{mg}$ of protein. In all samples, 5 catalytically active enzyme bands were detected: LDH₁ – LDH₅. It was established that the activity and content of LDH isozymes depends on the physiological state of the gonad. Thus, in the ovarian tissue of cows, LDH activity was the same (2.8–3.0 $\mu\text{catal}/\text{mg}$ protein) under the physiological state of “follicular growth” and pathology – “hypofunction” and is lower by 0.6 and 1.0 $\mu\text{catal}/\text{mg}$ protein under conditions of “early” and “late” corpus luteum (2.0 and 2.2 $\mu\text{catal}/\text{mg}$ protein). The biggest content of LDH₁ was (49.3 ± 1.64 %) in the tissue in the physiological state of “late yellow body”. The greatest amount of LDH₃, LDH₄ and LDH₅ (16.4 ± 1.70 , 11.2 ± 2.42 and 13.2 ± 3.06 %) – at state “early yellow body”. The content of LDH₂ was high (27.5 ± 4.26 %) in the case of ovarian “hypofunction”, and in the other physiological states, the value was lower and almost had no difference (19.8 and 22.1 %). The analysis of correlations shows the moderate dependence of LDH activity and the content of isozymes on the physiological state and hypofunction of the gonad (LDH total activity – $\eta = 0.387$, LDH 1 – $\eta = 0.465$; LDH3 – $\eta = 0.551$; LDH4 – $\eta = 0.336$; LDH5 – $\eta = 0.347$).

Key words: enzyme isozymes, lactate dehydrogenase, metabolism, electrophoresis, ovaries, cows.

Спектр ізозимів лактатдегідрогенази в тканині яєчників корів за різних фізіологічних станів та патологій

М. М. Акимішин^{1✉}, Н. В. Кузьміна², Д. Д. Остапів²

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна

У статті наведено результати досліджень активності та вмісту ізозимів лактатдегідрогенази (ЛДГ) в тканині яєчника за різних фізіологічних і патологічних станів статеві залози корів. Для досліджень використані яєчники корів української молочної чорно-рябої породи (вік 5–8 років, жива маса 450–500 кг) різного фізіологічного стану: з “раннім жовтим тілом”, діаметр 10–20 мм, колір червоний або брунатний (РЖТ; $n = 41$); з “пізнім жовтим тілом”, діаметр 5–15 мм, колір жовтий (ПЖТ; $n = 32$); “фолікулярного росту”, без жовтого тіла (ФР; $n = 84$) та за гіпофункції ($n = 21$). Активність та вміст ізозимів лактатдегідрогенази (ЛДГ) визначали в супернатанті після центрифугування гомогенатів тканини статеві залози, приготовлених за стандартною методикою. Вміст ізозимів ЛДГ (%) визначали після вертикального електрофорезу протеїнів зразків тканин у пластинах 7,5 % поліакриламідного гелю (ПААГ) та специфічного фарбування за J. Garbus в нашій модифікації і вираховували програмним забезпеченням TotalLab TL120. Активність ЛДГ визначали за швидкістю окиснення НАДН та розраховували в мккатал/мг протеїну. В усіх зразках виявлено 5 каталітично активних смуг ензиму: ЛДГ1 – ЛДГ5. Встановлено, що активність та вміст ізозимів ЛДГ залежить від фізіологічного стану статеві залози. Так, в тканині яєчника корів активність ЛДГ однакова (2,8–3,0 мккатал/мг протеїну) за фізіологічного стану “фолікулярного росту” і патології – “гіпофункції” і нижча на 0,6 та 1,0 мккатал/мг протеїну за “раннього” і “пізнього” жовтого тіла (2,0 та 2,2 мккатал/мг протеїну). Однак найбільше ЛДГ₁ ($49,3 \pm 1,64$ %) у тканині за фізіологічного стану статеві залози “пізнього жовтого тіла”, а ЛДГ₃, ЛДГ₄ і ЛДГ₅ ($16,4 \pm 1,70$, $11,2 \pm 2,42$ і $13,2 \pm 3,06$ %) – за “раннього жовтого тіла”. Вміст ЛДГ₂ високий ($27,5 \pm 4,26$ %) за порушення функції яєчника – “гіпофункції”, а за фізіологічних станів органу величина значення нижча і майже не відрізняється ($19,8$ та $22,1$ %). Аналіз кореляцій свідчить про середньої сили залежність активності ЛДГ та вмісту ізозимів ензиму від фізіологічного стану та гіпофункції статеві залози (ЛДГ – $\eta = 0,387$, ЛДГ1 – $\eta = 0,465$; ЛДГ3 – $\eta = 0,551$; ЛДГ4 – $\eta = 0,336$; ЛДГ5 – $\eta = 0,347$).

Ключові слова: ізозими ензимів, лактатдегідрогеназа, енергетичний обмін, електрофорез, яєчники, корови.

Вступ

Перебіг та регулювання відтворного циклу корів забезпечується складними фізіологічними і біохімічними процесами, які включають виділення гонадотропних гормонів, їх транспорт кров'яним руслом, впливом на гормоночутливі тканини і клітини та реакцією-відповіддю їх на дію гормональних чинників (Pawliński et al., 2023). ФГС і ЛГ через власні рецептори впливають на енергетичний обмін та стероїдогенез клітин теки та гранульози фолікулів, тканин репродуктивної системи: яєчників, яйцепроводів і матки (da Silva et al., 2017; Demissie et al., 2022).

При цьому відтворна здатність, дозрівання ооцитів, їх запліднення й розвиток плоду регулюється інтенсивністю нагромадження та перетворення субстратів для ресинтезу АТФ в репродуктивних органах і організмі самки (Harris et al., 2007; Zheng et al., 2022). Вказані процеси забезпечуються і характеризуються активністю окремих ензимів, до яких належать лактатдегідрогеназа (ЛДГ) (Cetica et al., 1999; Ying et al., 2011; Jiang et al., 2020). ЛДГ – ключовий ензим енергетичного метаболізму, гетеротетрамерний білок, що складається з субодиниць двох типів Н (серцевої) і М (м'язової) та відповідно до композиційного співвідношення їх існує в п'яти ізоформах: ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЛДГ₃, ЛДГ₄ та ЛДГ₅ (Boldura & Baltă, 2018; Takehana et al., 2023). Кожна з ізоформ характеризується різними фізико-хімічними та каталітичними властивостями і міститься в більшості клітин тканин, в тому числі й у яєчниках (Schurr, 2006; Szrejder et al., 2023). Вміст ізозимів ЛДГ не постійний і залежить як від інтенсивності окисного метаболізму в клітинах тканин, так і впливу на організм різноманітних чинників (Khan et al., 2020). Тому для виявлення особливостей обмінних процесів в тканинах яєчника корів за статеві циклу та гіпофункції досліджували активність і вміст ізозимів ЛДГ.

Мета дослідження

Мета роботи – вивчити активність та вміст ізозимів ЛДГ в тканині яєчника за різних фізіологічних станів і гіпофункції статеві залози корів.

Матеріал і методи досліджень

Для досліджень у корів української молочної чорно-рябої породи (вік 5–8 років, жива маса 450–500 кг) після забою відбирали яєчники, які оцінювали візуально і за фізіологічним станом ділили на групи: з “раннім жовтим тілом”, діаметр 10–20 мм, колір червоний або брунатний (РЖТ; $n = 41$); з “пізнім жовтим тілом”, діаметр 5–15 мм, колір жовтий (ПЖТ; $n = 32$); “фолікулярного росту”, без жовтого тіла (ФР; $n = 84$). Крім того, відбирали статеві залози у корів з порушеним статевим циклом – гіпофункцією яєчників ($n = 21$). Діагноз встановлювали на основі анамнезу: первинних записів техніка зі штучного осіменіння (не приходили в охоту 90 і більше днів після отелення, феномени стадії збудження статеві циклу не проявляються) та оцінюванням стану статеві залоз ректальними дослідженнями (на поверхні статеві залози фолікули не пальпуються, тканина пружна).

Тканину яєчників після аспірації антральної рідини промивали фізіологічним розчином за температури 2–4 °С. З тканини яєчника готували гомогенат: подрібнені тканини промивали 0,9 % розчином натрію хлориду і додавали 1:1 (вага : об'єм) охолоджений до 4 °С 0,25 М розчин сахарози і гомогенізували в гомогенізаторі Поттера. Отриманий гомогенат центрифугували за 8000 об/хв. Відбирали надосадову рідину для досліджень активності та вмісту ізозимів лактатдегідрогенази.

Вміст ізоензимів ЛДГ визначали після вертикального електрофорезу протеїнів у пластинах 7,5 % поліакриламідного гелю (ПААГ). Для електрофорезу готували зразки: гомогенати тканин розбавляли 1:1 Трис-гліциновим буфером (рН 8,5) і додавали 0,05 мл 40 % сахарози. У лунки концентруючого гелю вносили 0,02 мл проби (концентрація протеїну ~ 100 мкг). Проводили електрофорез за 200V, 30 mA. Після електрофорезу фарбували ПААГ за J. Garbus (Garbus, 1971) в нашій модифікації (Kuzmina et al., 2020): інкубували 60 хв в темноті за температури 37 °С в інкубаційному середовищі: 0,1 мг/мл ФМС (феназинметасульфат), 0,2 М лактату, 0,5 мг/мл НАД⁺ та 0,5 мг/мл НСТ (нітросиній тетразолій) в 0,1 М Трис / HCl буфе-

рі (рН 8,5). В місцях локалізації протеїнів ензиму гель набував фіолетового забарвлення внаслідок відновлення НСТ до формазану. Як маркер ізоензимного складу ЛДГ використовували гемолізати еритроцитів крові корів.

Для визначення вмісту ізоензимів (%) в загальному спектрі їх пластини ПААГ сканували і вираховували вміст програмним забезпеченням TotalLab TL120. Активність ЛДГ визначали за швидкістю окиснення НАДН та розраховували в мккатал/мг протеїну (Vlizlo et al., 2012).

Статистичний аналіз отриманих результатів проведено методом варіаційної статистики з використан-

ням t-критерію Стюдента та кореляційного відношення (η).

Результати та їх обговорення

Електрофорезом в 7,5 % ПААГ виявлено п'ять каталітично активних ізоензимів ЛДГ (ЛДГ₁ – ЛДГ₅), які відрізняються електрофоретичною рухливістю, інтенсивністю та площею зафарбування. При цьому встановлено, що залежно від фізіологічного стану яєчників активність та вміст окремих ізоензимів ензиму в тканині статевої залози динамічно змінюється (рис. 1, табл. 1).

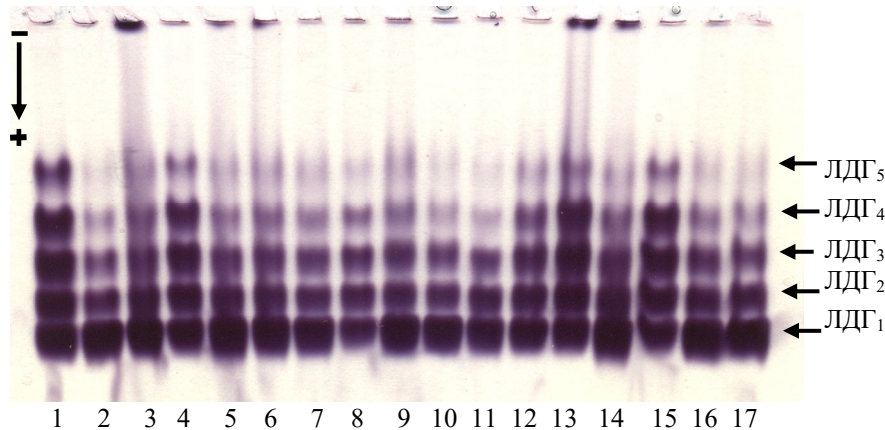


Рис. 1. Ізозими ЛДГ в тканин яєчника за: гіпофункції – 1-5; “раннього жовтого тіла” – 6-9; “пізнього жовтого тіла” – 9-13; “фолікулярного росту” – 14-17.

Так, найнижча активність ЛДГ характерна для тканин яєчника за “раннього жовтого тіла” ($2,0 \pm 0,33$ мккатал/мг протеїну), вища на 7,2 % величина значення за “пізнього жовтого тіла” і на 30,6–35,2 % за “фолікулярного росту” і гіпофункції. Різниця між мінімальними і максимальними величинами значень

встановленими за “раннього жовтого тіла” і “фолікулярного росту” у тканинах репродуктивних органів статистично вірогідна ($P < 0,05$). Аналіз активності ензиму залежить від зміни фізіологічного стану і гіпофункції в тканині яєчника середньої сили ($\eta = 0,387$).

Таблиця 1

Активність та вміст ізоензимів ЛДГ в тканині яєчника ($M \pm m$)

Активність/ Ізозими/	Фізіологічний стан яєчника				η
	жовтого тіла		фолікулярного росту	гіпофункції	
	раннього	пізнього			
Активність, мккатал/мг протеїну	2,0 ± 0,33	2,2 ± 0,55	3,0 ± 0,21	2,8 ± 0,52	0,387
	Вміст ізозимів,%				
ЛДГ ₅	13,2 ± 3,06*	6,8 ± 0,77	10,8 ± 2,53*	8,6 ± 2,53	0,347
ЛДГ ₄	11,2 ± 2,42*	10,1 ± 1,00*	6,8 ± 1,36	11,0 ± 3,91	0,336
ЛДГ ₃	16,4 ± 1,70*	14,0 ± 0,36*	11,1 ± 1,27	16,2 ± 1,64	0,551
ЛДГ ₂	22,1 ± 3,55	19,8 ± 0,34	21,9 ± 2,63	27,5 ± 4,26*	0,298
ЛДГ ₁	36,7 ± 4,81	49,3 ± 1,64*	46,9 ± 2,54*	36,6 ± 7,93	0,465

Примітка: різниця статистично вірогідно порівняно до найменшої величини значення показника * – $P < 0,05$

Для тканини яєчника характерний високий вміст ЛДГ₁ ($36,6$ – $49,3$ %), менший ЛДГ₂ і ЛДГ₃ ($11,1$ – $27,5$ %), а найнижчий ЛДГ₄ та ЛДГ₅ ($6,8$ – $13,2$ %; табл.). Встановлені величини значень ізоензимів ЛДГ вказують на переважання в тканині яєчника аеробного шляху гліколізу.

При цьому низька величина ЛДГ₁ виявлена за “раннього жовтого тіла” ($36,7 \pm 4,81$ %) і на $10,2$ –

$12,6$ % ($P < 0,05$) вища за “пізнього жовтого тіла” і “фолікулярного росту”. Одночасно вміст ЛДГ₂ майже не залежав від фізіологічного стану яєчника, величина значення в межах $19,8$ – $22,1$ %. На противагу, вміст ЛДГ₃ високий ($16,4 \pm 1,70$ %) за “раннього жовтого тіла”, нижчий на $2,4$ % за “пізнього жовтого тіла” і найнижчий за “фолікулярного росту” на $5,1$ % ($11,1 \pm 1,27$ %, $P < 0,05$)

Подібний результат отриманий при аналізі ЛДГ₄: висока величина значення показника за “раннього жовтого тіла” ($11,2 \pm 2,42\%$) і на $4,4\%$ ($P > 0,05$) нижча за “фолікулярного росту”. Тенденційно нижче значення ЛДГ₅ встановлено в тканині яєчника за “пізнього жовтого тіла” ($6,8 \pm 0,77\%$), а за інших фізіологічних станів – вище на $4,0$ та $6,4\%$ ($P < 0,05$). За патологічного стану (гіпофункції) яєчника в тканині проявлявся високий вміст ЛДГ₂ ($27,5 \pm 4,26\%$), величина значення показника на $5,4$ та $7,7\%$ вища, ніж за фізіологічних станів.

Аналіз кореляцій свідчить про середньої сили залежність вмісту ізоимів ензиму від фізіологічного стану та гіпофункції статевої залози (ЛДГ₁ – $\eta = 0,465$; ЛДГ₃ – $\eta = 0,551$; ЛДГ₄ – $\eta = 0,336$; ЛДГ₅ – $\eta = 0,347$).

Висновки

Фізіологічний стан яєчників корів характеризується особливостями енергетичного метаболізму, які проявляються в динамічній зміні активності і вмісту окремих ізоимів ЛДГ. Високий вміст ЛДГ₁ ($36,7$ – $46,9\%$) в ізоимному спектрі ензиму свідчить про переважання аеробного шляху окислення субстратів для ресинтезу АТФ. При цьому за гіпофункції яєчника, порівняно з фізіологічними станами, вірогідно зростає вміст ЛДГ₂ ($P < 0,05$). Аналіз кореляцій свідчить про середню за силою залежність активності та вмісту ізоимів від фізіологічних станів статевої залози ($\eta = 0,336$ – $0,551$).

Відомості про конфлікт інтересів

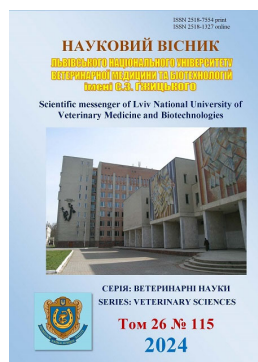
Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів в даній роботі.

References

- Boldura, O.-M., & Baltă, C. (Eds.). (2018). *Electrophoresis – Life Sciences Practical Applications*. InTech. DOI: 10.5772/intechopen.71646.
- Cetica, P. D., Pintos, L. N., Dalvit, G. C., & Beconi, M. T. (1999). Effect of lactate dehydrogenase activity and isoenzyme localization in bovine oocytes and utilization of oxidative substrates on in vitro maturation. *Theriogenology*, 51(3), 541–550. DOI: 10.1016/s0093-691x(99)00008-4.
- da Silva, J. C. B., Ferreira, R. M., Maturana Filho, M., Naves, J. R., Santin, T., Pugliesi, G., & Madureira, E. H. (2017). Use of FSH in two different regimens for ovarian superstimulation prior to ovum pick up and in vitro embryo production in Holstein cows. *Theriogenology*, 90, 65–73. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.11.016.
- Demissie, T., Yilma, T., Degefa, T., Wirtu, G., & Lemma, A. (2022). Effect of follicular ablation and gonadotropin priming on the recovery and quality of oocytes in Boran cows. *Tropical animal health and production*, 54(5), 280. DOI: 10.1007/s11250-022-03302-8.
- Garbus, J. (1971). Serum malate dehydrogenase isoenzymes as indicators of severe cellular injury. *Clin. Chim. Acta*, 35(2), 502–504. DOI: 10.1016/0009-8981(71)90229-4.
- Harris, S. E., Adriaens, I., Leese, H. J., Gosden, R. G., & Picton, H. M. (2007). *Carbohydrate metabolism by murine ovarian follicles and oocytes grown in vitro*. *Reproduction (Cambridge, England)*, 134(3), 415–424. DOI: 10.1530/REP-07-0061.
- Jiang, X., Pang, Y., Zhao, S., Hao, H., Zhao, X., Du, W., Wang, Y., & Zhu, H. (2020). Thioredoxin-interacting protein regulates glucose metabolism and improves the intracellular redox state in bovine oocytes during in vitro maturation. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 318(3), E405–E416. DOI: 10.1152/ajpendo.00057.2019.
- Khan, A. A., Allemailem, K. S., Alhumaydhi, F. A., Gowder, S. J., & Rahmani, A. H. (2020). The biochemical and clinical perspectives of lactate dehydrogenase: an enzyme of active metabolism. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 20(6), 855–868. DOI: 10.2174/1871530320666191230141110.
- Kuz'mina, N. V., Ostapiv, D. D., & Kosenko, Y. M. (Eds.). (2020). *Metodyky doslidzhen' spektru izozymiv enerhetychnoho obminu i antyoksydantnoho zakhystu*. L'viv (in Ukrainian).
- Mikuła, R., Pruszyńska-Oszmałek, E., Kołodziejski, P. A., & Nowak, W. (2020). Propylene Glycol and Maize Grain Supplementation Improve Fertility Parameters in Dairy Cows. *Animals*, 10(11), 2147. DOI: 10.3390/ani10112147.
- Pawliński, B., Petrajtis-Golobów, M., Trela, M., & Witkowska-Piłaszewicz, O. (2023). Acid-Base, Gas, Ions, and Glucose Analysis in Follicular Fluid in Holstein-Friesian Dairy Cows Is Associated with the Follicle Size in Poland. *Animals*, 13(10), 1636. DOI: 10.3390/ani13101636.
- Schurr, A. (2006). Lactate: The Ultimate Cerebral Oxidative Energy Substrate? *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 26(1), 142–152. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600174.
- Szrejder, M., Typiak, M., Pikul, P., Audzeyenka, I., Rachubik, P., Rogacka, D., Narajczyk, M., & Piwkowska, A. (2023). Role of L-lactate as an energy substrate in primary rat podocytes under physiological and glucose deprivation conditions. *European Journal of Cell Biology*, 102(2), 151298. DOI: 10.1016/j.ejcb.2023.151298.
- Takehana, K., Adachi, M., Ishikawa, S., & Yamagishi, N. (2023). Agarose gel electrophoresis pattern of serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzymes in zoo-managed Asian elephants (*Elephas maximus*). *The Journal of veterinary medical science*, 85(5), 578–583. DOI: 10.1292/jvms.22-0550.
- Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., & Ratych, I. B. (Eds.). (2012). *Laboratori metody doslidzhen' u biolohiyi, tvarynnystv ta veterynarniy medytsyni: dovidnyk*. L'viv (in Ukrainian).
- Ying, S., Wang, Z., Wang, C., Nie, H., He, D., Jia, R., Wu, Y., Wan, Y., Zhou, Z., Yan, Y., Zhang, Y., & Wang, F. (2011). Effect of different levels of short-term feed intake on folliculogenesis and follicular

fluid and plasma concentrations of lactate dehydrogenase, glucose, and hormones in Hu sheep during the luteal phase. *Reproduction* (Cambridge, England), 142(5), 699–710. DOI: 10.1530/REP-11-0229.

Zheng, X., Zheng, Y., Qin, D., Yao, Y., Zhang, X., Zhao, Y., & Zheng, C. (2022). Regulatory Role and Potential Importance of GDF-8 in Ovarian Reproductive Activity. *Frontiers in endocrinology*, 13, 878069. DOI: 10.3389/fendo.2022.878069.



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/nvlvet11511
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 614.91:636.52/.58

Effectiveness of the use of immune complex vaccine “Novamune” in the prevention of Gamboro's disease in egg poultry farming

V. V. Marchenko✉, A. V. Kolechko

Vinnitsia National Agrarian University, Vinnitsia, Ukraine

Article info

Received 29.05.2024
Received in revised form
01.07.2024
Accepted 02.07.2024

Vinnitsia National Agrarian
University, Sonyachna Str., 3,
Vinnitsia, 21000, Ukraine.
Tel.: +38-067-345-15-75
E-mail: volodymyr.marchenko.
vet.med@gmail.com

Marchenko, V. V., & Kolechko, A. V. (2024). Effectiveness of the use of immune complex vaccine “Novamune” in the prevention of Gamboro's disease in egg poultry farming. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 75–81. doi: 10.32718/nvlvet11511

In recent decades, the poultry industry has developed rapidly. Increased demand for higher volumes, better quality and competitive prices led to industrialization, intensification and concentration of production. All this has put significant pressure on animals with genetic potential to achieve higher profits and higher efficiency, which in turn increases the risk of infectious diseases. In addition to disease control, there is pressure on producers to reduce the use of antibiotics and other chemicals, on par with the elimination of pathogens, forcing producers to seek optimal disease control methods. In this context, the principles of biosecurity and vaccination have greatly improved efforts and become important tools for disease control. The vaccine market today is quite broad and includes many vaccines developed on the basis of the latest technologies, such as immune complex vaccines, as well as the largest range of recombinant vector vaccines for poultry. However, all of them have many disadvantages and negative points in practical application, namely: different possibilities of overcoming the level of maternal antibodies (MAT), the need to collect blood serum and conduct laboratory tests to determine the exact day of vaccination, some have a high degree of tissue depletion of the bursa of Fabricius (due to destruction of lymphocytes), low percentage of protection of the bird due to incorrect drinking of the vaccine, etc. Therefore, today specialists face key questions, such as effectiveness against variations of a specific microorganism distributed in different parts of the world; compatibility between vaccines; increasing the resistance or preventing (reducing) the isolation and spread of the pathogen in the environment, which are of crucial importance for reducing the risk of the persistence of the pathogen or preventing the spread of the disease; influence or intervention of passive immunity, advantages of using one category of vaccines over others, etc.

Key words: vaccine, immune complex, vaccination, bioprotection, poultry farming, antibodies.

Ефективність використання імунокомплексної вакцини “Новамун” при профілактиці хвороби Гамборо в птахівничому господарстві яєчного спрямування

В. В. Марченко✉, А. В. Колечко

Вінницький національний аграрний університет, м. Вінниця, Україна

Протягом останніх десятиліть галузь птахівництва набула стрімкого розвитку. Підвищений попит на більш високі обсяги, кращу якість та конкурентоспроможні ціни призвели до індустріалізації, інтенсифікації та концентрації виробництва. Все це спричинило значний тиск на тварин, що мають генетичний потенціал, для досягнення більшого прибутку та вищої ефективності, що своєю чергою підвищує ризик виникнення інфекційних захворювань. На додаток до контролю захворювань є тиск на виробників стосовно зменшення використання антибіотиків та інших хімічних речовин, на рівні з усуненням збудників різноманітних захворювань це змушує виробників шукати оптимальні методи контролю захворювань. У цьому контексті принципи біозахисту та вакцинації значно поліпили зусилля й стали важливими інструментами для контролю захворювань. Ринок вакцин на сьогодні є

досягти широким і включає в себе безліч вакцин, розроблених на основі новітніх технологій, таких як імуннокомплексні вакцини, а також найбільший діапазон рекомбінантних векторних вакцин для птиці. Однак всі вони мають багато негативних моментів у практичному застосуванні, а саме: різна можливість подолання рівня материнських антитіл (МАТ), необхідність відбирання сироватки крові та проведення лабораторних досліджень для визначення точного дня проведення вакцинації, деякі мають високий ступінь виснаження тканин фабрицієвої бурси (внаслідок руйнування лімфоцитів), низький відсоток захисту птиці через неправильне вживання вакцини тощо. Тому на сьогодні перед спеціалістами стоять ключові питання, такі як ефективність проти варіацій конкретного мікроорганізму, розповсюдженого в різних частинах світу; сумісність між вакцинами; підвищення стійкості або запобігання (зменшення) виділенню й поширенню збудника в середовищі, які мають вирішальне значення для зниження ризику персистенції збудника або недопущення поширення захворювання; вплив або втручання пасивного імунітету, переваги використання однієї категорії вакцин перед іншими, і т. д.

Ключові слова: вакцина, імунокомплекс, вакцинація, біозахист, птахівництво, антитіла.

Вступ

Вірус інфекційної бурсальної хвороби (ІБХ, хвороба Гамборо) є однією з основних причин економічних втрат у птахівництві (Hassanzadeh et al., 2006; Müller et al., 2012; Abou El-Fetouh et al., 2020). Захворювання призводить до імуносупресії, зниження виробничих показників, характеризується високою смертністю, часто без чітких клінічних ознак (Jenbreite et al., 2013). Вірус ІБХ викликає гостре, надзвичайно контагіозне захворювання молодих курчат. Його первинний орган-мішень – лімфатична тканина фабрицієвої бурси. Визнано два серотипи IBDV (Ferran et al., 1993); вони позначені серотипами 1 і 2. Клінічне захворювання асоціюється тільки з серотипом 1, і всі комерційні вакцини виробляються лише проти цього серотипу (Dormitorio et al., 2007). Зараз поширені дуже вірулентні штами класичного серотипу 1 викликають серйозні захворювання в багатьох країнах (Ingrao et al., 2013). Висока летальність (більше ніж 20 %), яку спричиняють деякі штами вірусу, та довготривала імуносупресія птиці, інфікованої у ранньому віці, призводять до значних економічних втрат на птахофабриках. Саме тому контроль хвороби Гамборо – одна з основних умов високої продуктивності птаківничого підприємства як яєчного, так і м'ясного напрямку. Останніми роками суттєво збільшилася кількість клінічних випадків, пов'язаних з інфекційною бурсальною хворобою, в результаті виникнення та постійної циркуляції надзвичайно небезпечних високовірулентних штамів (vvIBX). За ураження фабрицієвої бурси високовірулентними штамами зазвичай відбувається виснаження фолікулярної тканини без можливості подальшого відновлення, що призводить до імуносупресії всього організму і проявляється наявністю вторинних бактеріальних інфекцій, слабкою імунною відповіддю проти хвороби Ньюкасла та відставанням за основними виробничими показниками: вага птиці, тривалість життя тощо. Ось чому важливо здійснювати безперервний моніторинг цього захворювання для подальшого вивчення його генезу.

Нині на ринку птахівництва є велика кількість живих вакцин (м'які, інтермедіальні, інтермедіальні плюс та гарячі). Однак всі вони мають багато негативних моментів у практичному застосуванні, а саме: різна можливість подолання рівня материнських антитіл, необхідність відбору сироватки крові та проведення лабораторних досліджень для визначення точного дня проведення вакцинації, деякі мають високий ступінь виснаження тканин фабриціевої бурси (вна-

слідок руйнування лімфоцитів), низький відсоток захисту птиці через неправильне вypoювання вакцини тощо (Chansiripornchai & Sasipreeyajan, 2009).

Програми вакцинації для контролю інфекційної бурсальної хвороби (ІБХ) можуть бути ускладнені через високий рівень материнських антитіл у добового курчати. Тому наше дослідження було проведено на молодих курчатах-несучках з високим вмістом материнських антитіл, як це зазвичай спостерігається в нашій країні.

Мета дослідження

Мета цього дослідження полягала у визначенні захисної ефективності імунотоксичної вакцини “Новамун” проти польового вірусу інфекційної бурсальної хвороби у промислових курей-несучок.

Матеріал і методи досліджень

Для досліджу брали комерційну птицю кросу Lohmann LSL-Classic. П'ятдесят чотири тисячі голів курчат вакцинували вакциною “Новамун” у добовому віці на інкубаторії при підтримці С.Н.І.С.К. PROGRAM, наданою компанією Сева Санте Анімаль Україна, яка включає в себе комплексний підхід для підвищення якості вакцинації добових курчат і вакцинації. Препарат вводили шляхом підшкірної ін'єкції за допомогою сучасного автоматизованого обладнання Desvac Dovac®.

Ефективність визначалась за такими параметрами, як:

- клінічний стан птиці (проводився візуальний огляд птиці протягом кожних 7 днів вирощування, з метою фіксування видимих змін у поведінці);

- серологічні дослідження – методи вивчення взаємодії антигенів з антитілами в сироватці крові. Серологічна діагностика базується на визначенні специфічних антитіл, які утворюються в процесі імунної відповіді, викликаній проникненням антигену – збудника захворювання. ІФА аналіз щодо визначення титрів антитіл проти хвороби Гамборо проводився в тест-системі BioChek.

Графік відбирання крові (дні): 5, 18, 36, 43, 57, 70 та 115.

- молекулярна біологія, а саме ПЛР-тест (метод полімеразної ланцюгової реакції) – метод тестування, який виявляє наявність або відсутність вірусних РНК у біоматеріалі на ранніх стадіях. Цей метод вважається найбільш інформативним та достовірним.

Використовувався для підтвердження наявності вакцинного штаму SYZA 26;

- порівняння технологічних показників ваги, однорідності (табл. 1), смертності стада курей-несучок відповідно до нормативних показників даного кросу.

Результати та їх обговорення

Серологічні результати (рис. 1–7).

На титрограмах можна спостерігати формування титрів у різних вікових періодах відповідно до зниження рівня материнських антитіл та їх поступове групування (рис. 8). Відсоток CV (коефіцієнт варіації) свідчить про однорідність напрацьованого імунітету стада, якість проведеної вакцинації в добовому віці та відсутність циркуляції польової інфекції (рис. 9).

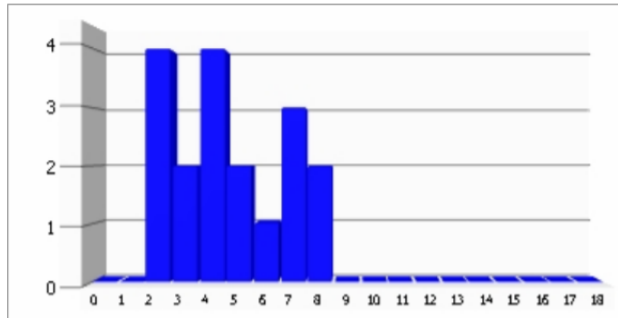


Рис. 1. Серологічні результати на 5-й день після вакцинації

Тест :	IBD	Lot no.:	FS6525
Дата взяття крові:	10.06.2020	Дата Тест:	14.10.2020
Середній титр	4417	Кількість проб	18
Мін. – Макс. Титр:	1427 - 9824	Нер/Сумн/По	0/0/18
G.M.T.:	3692		
% CV	60		
Очікуваний Титр:	2000	-	15000
Очікуваний %CV:	20	-	50
Interpretation Titer:	NORMAL		
Interpretation %CV	HIGH		

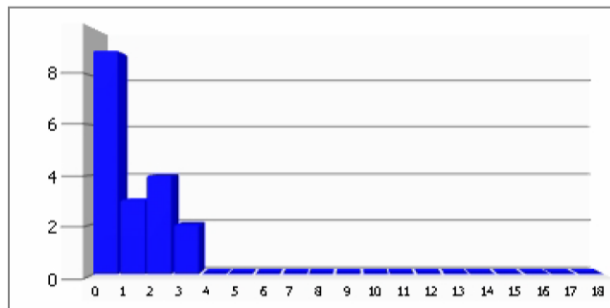


Рис. 2. Серологічні результати на 18-й день після вакцинації

Тест :	IBD	Lot no.:	FS6525
Дата взяття крові:	23.06.2020	Дата Тест:	18.08.2020
Середній титр	792	Кількість проб	18
Мін. – Макс. Титр:	1 - 2744	Нер/Сумн/По	9/0/9
G.M.T.:	169		
% CV	116		
Очікуваний Титр:	-		
Очікуваний %CV:	-		
Interpretation Titer:			
Interpretation %CV			

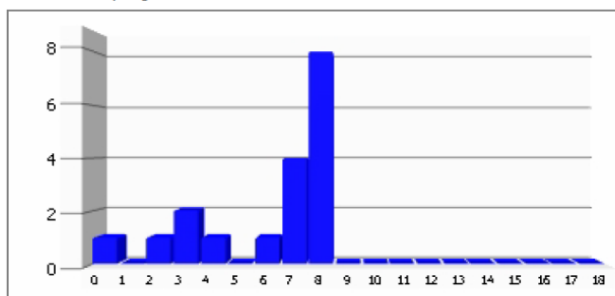


Рис. 3. Серологічні результати на 36-й день після вакцинації

Тест :	IBD	Lot no.:	FS6525
Дата взяття крові:	11.07.2020	Дата Тест:	18.08.2020
Середній титр	6259	Кількість проб	18
Мін. – Макс. Титр:	78 - 8749	Нер/Сумн/По	1/0/17
G.M.T.:	4709		
% CV	45		
Очікуваний Титр:	-		
Очікуваний %CV:	-		
Interpretation Titer:			
Interpretation %CV			

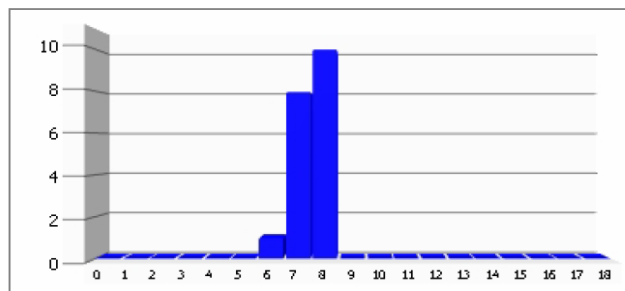


Рис. 4. Серологічні результати на 43-й день після вакцинації

Тест :	IBD	Lot no.:	FS6525
Дата взяття крові:	18.07.2020	Дата Тест:	18.08.2020
Середній титр	7882	Кількість проб	19
Мін. – Макс. Титр:	5954 - 8937	Нер/Сумн/По	0/0/19
G.M.T.:	7822		
% CV	12		
Очікуваний Титр:	-		
Очікуваний %CV:	-		
Interpretation Titer:			
Interpretation %CV			

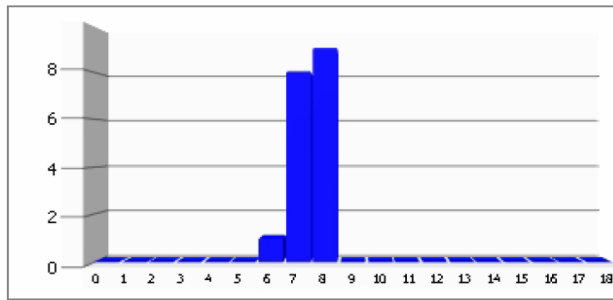


Рис. 5. Серологічні результати на 57-й день після вакцинації

Тест :	IBD	Lot no.:	FS6525
Дата взяття крові:	01.08.2020	Дата Тест:	18.08.2020
Середній титр	7890	Кількість проб	18
Мін. – Макс. Титр:	5814 - 8652	Нер/Сумн/По	0/0/18
G.M.T.:	7858		
% CV	9		
Очікуваний Титр:	-		
Очікуваний %CV:	-		
Interpretation Titer:			
Interpretation %CV			

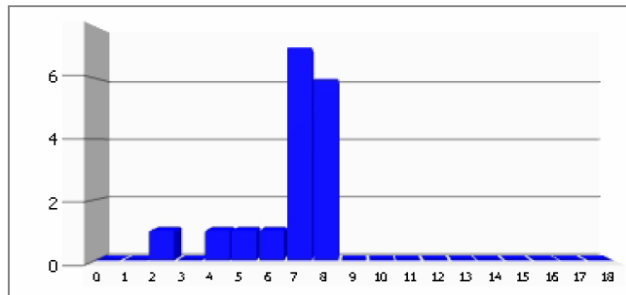


Рис. 6. Серологічні результати на 70-й день після вакцинації

Тест :	IBD	Lot no.:	FS6525
Дата взяття крові:	14.08.2020	Дата Тест:	03.09.2020
Середній титр	6913	Кількість проб	17
Мін. – Макс. Титр:	1787 - 9666	Нер/Сумн/По	0/0/17
G.M.T.:	6445		
% CV	31		
Очікуваний Титр:	-		
Очікуваний %CV:	-		
Interpretation Titer:			
Interpretation %CV			

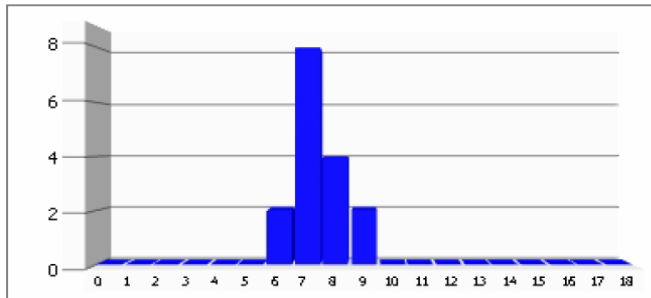


Рис. 7. Серологічні результати на 115-й день після вакцинації

Тест :	IBD	Lot no.:	FS6525
Дата взяття крові:	28.09.2020	Дата Тест:	05.10.2020
Середній титр	7567	Кількість проб	16
Мін. – Макс. Титр:	5036 - 10379	Нер/Сумн/По	0/0/16
G.M.T.:	7409		
% CV	21		
Очікуваний Титр:	-		
Очікуваний %CV:	-		
Interpretation Titer:			
Interpretation %CV			

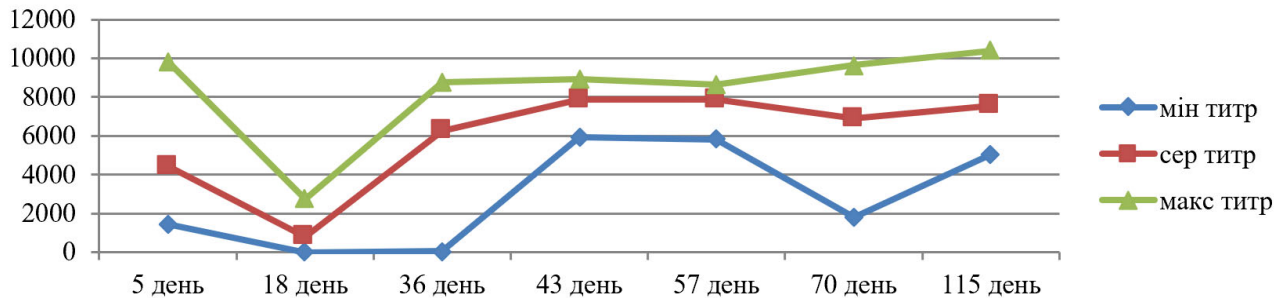


Рис. 8. Серологічна крива напрацювання титрів антитіл

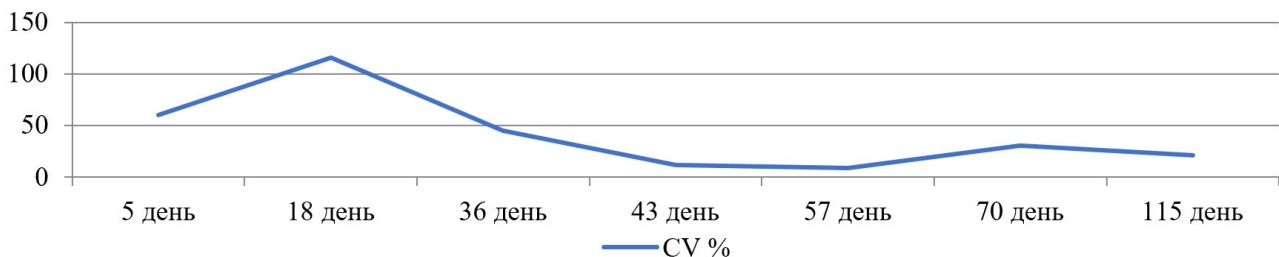


Рис. 9. Серологічна крива % CV

Загальні результати серологічних досліджень свідчать про якісне напрацювання імунної відповіді після введення досліджуваної вакцини у добовому віці.

Молекулярна біологія для підтвердження наявності вакцинного штаму SYZA 26 у бурсах, що проводили методом РТ-ПЛР (рис. 10).

Sample No.		A2058735.001	A2058735.002	A2058735.003	A2058735.004	A2058735.005	A2058735.006	A2058735.007	A2058735.008
Sample Description		FTA-card 1 (1 spot)	FTA-card 1 (1 spot)	FTA-card 1 (1 spot)	FTA-card 1 (1 spot)	FTA-card 2 (1 spot)	FTA-card 2 (1 spot)	FTA-card 2 (1 spot)	FTA-card 2 (1 spot)
IBDV Screening	Result	positive	positive	positive	positive	positive	positive	positive	positive
	CT	29,6	28,7	27,3	28,3	27,4	29,5	27,1	29,0
IBDV nvv	Result	not detectable	positive	positive	positive	positive	not detectable	positive	positive
	CT		34,2	33,0	36,4	33,6		33,9	37,3
IBDV vv	Result	not detectable	not detectable	not detectable	not detectable	not detectable	not detectable	not detectable	not detectable
	CT								

Рис. 10. Результати ПЛІР-досліджень

Як видно з експертного висновку лабораторії AniCon Labor GmbH (Німеччина), вакцинний штам (IBDV nvv) був виявлений у досліджуваних зразках, а польового високовірулентного штаму (IBDV vv) не знайдено.

Зважування курей-несучок для подальшого визначення однорідності стада. Ці параметри заміряли щотижнево для точності даних до 13-го тижня. В таблиці 1 можна побачити, що вага (рис. 11) та однорідність (рис. 12) птиці відповідає нормативним характеристикам цього кросу відповідно до віку.

Кількість падежу птиці за 115 днів була 626 голів (1,15 %) та показник збереженості становив 98,85 % (рис. 13).

Таблиця 1

Показники ваги та однорідності стада

12.06.20	19.06.20	26.06.20	03.07.20	10.07.20	17.07.20	24.07.20	31.07.20	07.08.20	14.08.20	21.08.20	28.08.20	04.09.20
1 тиж.	2 тиж.	3 тиж.	4 тиж.	5 тиж.	6 тиж.	7 тиж.	8 тиж.	9 тиж.	10 тиж.	11 тиж.	12 тиж.	13 тиж.
H-75	H-125	H-187	H-257	H-337	H-430	H-530	H-625	H-720	H-810	H-890	H-960	H-1017
Ф-63	Ф-106	Ф-179	Ф-261	Ф-345	Ф-444	Ф-548	Ф-646	Ф-753	Ф-838	Ф-924	Ф-1002	Ф-1072
73 %	69 %	67 %	72 %	74 %	78 %	82 %	83 %	89 %	90 %	86 %	91 %	93 %

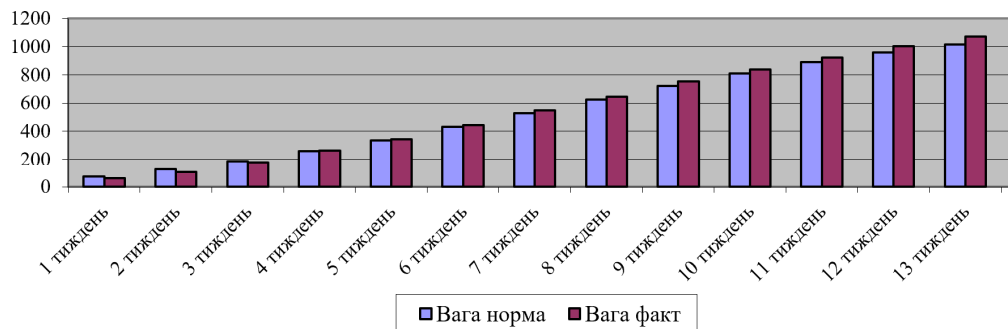


Рис. 11. Показники нормативної та фактичної ваги курей-несучок

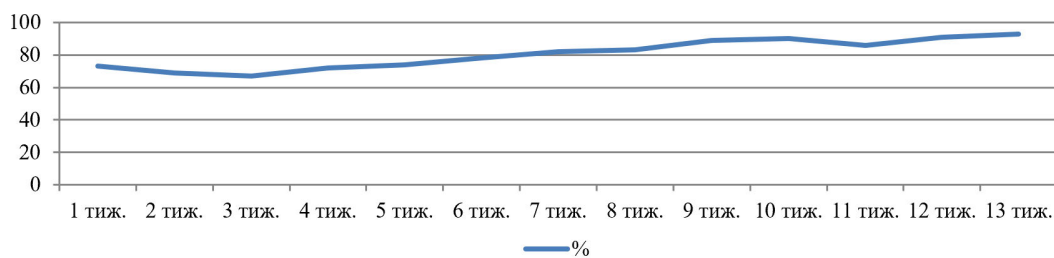


Рис. 12. Графік однорідності стада курей-несучок

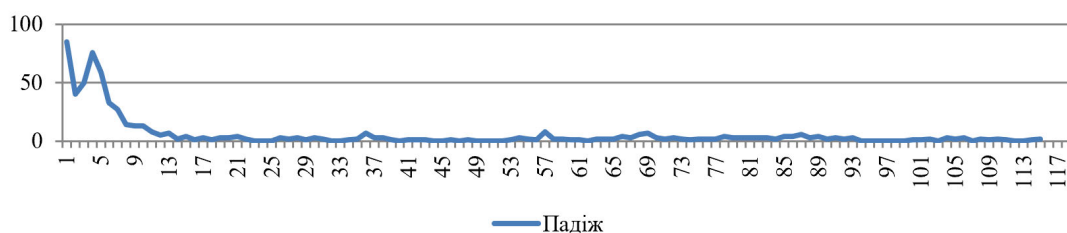


Рис. 13. Крива падежу птиці

Висновки

Отже, проведені лабораторні дослідження (серологічні та ПЛР), показники ваги та однорідності стада, а також загальна збереженість свідчать про ефективність і безпечність проведеної імунізації за допомогою інноваційної імунокомплексної вакцини “Новамун”, яка є сучасним найнадійнішим рішенням у вакцинації проти хвороби Гамборо.

Перспективи подальших досліджень. Таким чином, важливим напрямом майбутніх досліджень вважаємо подальше визначення ефективності імунокомплексної вакцини на м'ясному поголів'ї птиці.

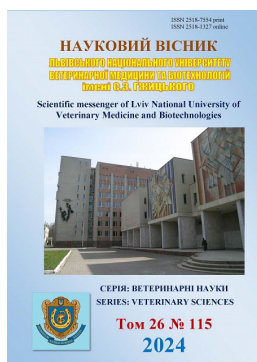
Відомості про конфлікт інтересів.

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abou El-Fetouh, M. S., Hafez, M. H., El-Attar, E. R., & El-Agamy, M. E. (2020). Immune-Complex infectious bursal disease virus versus live attenuated vaccines to protect SPF chicken against very virulent virus challenge. *J World Poult Res.*, 10(4), 556–564. URL: [https://jwpr.science-line.com/attachments/article/54/JWPR%2010\(4\)%20556-564,%202020.pdf](https://jwpr.science-line.com/attachments/article/54/JWPR%2010(4)%20556-564,%202020.pdf).
- Arshad, R. W., Aslam, A., Imran, M. S., Asharal, K., & Akhtar, R. (2019). Comparative evaluation of live vector, immune complex and intermediate plus vaccines of infectious bursal disease in broiler chicken. *Pakistan J Zool.* 51(5), 1837–1841. DOI: 10.17582/journal.pjz/2019.51.5.1837.1841.
- Asif, M., Lowenthal, J. W., Ford, M. E., Schat, K. A., Kimpton, W. G., & Bean, A. G. (2007). Interleukin-6 expression after infectious bronchitis virus infection in chickens. *Viral immunology*, 20(3), 479–486. DOI: 10.1089/vim.2006.0109.
- Berg, T. P., Gonze, M., & Meulemans, G. (1991). Acute infectious bursal disease in poultry: Isolation and characterisation of a highly virulent strain. *Avian pathology : journal of the W.V.P.A.*, 20(1), 133–143. DOI: 10.1080/03079459108418748.
- Camilotti, E., Moraes, L. B., Furian, T. Q., Borges, K. A., Moraes, H. L. S., & Salle, C. T. P. (2016). Infectious bursal disease: pathogenicity and immunogenicity of vaccines. *Braz J Poult Sci.*, 18(2), 303–308. DOI: 10.1590/1806-9061-2015-0148.
- Campbell, G (2001). Investigation into evidence of exposure to infectious bursal disease virus and infectious anaemia virus in wild birds in Ireland. *Proceedings II International Symposium on Infectious Bursal Disease and Chicken Infectious Anaemia.* Rauischholzhausen, 230–235.
- Cazaban, C., Swart, W. B. F., Rietema, R. M. W., de Wit, J. J., Palya, Y., & Garyin, Y. (2018). Field assessment of an immune-complex infectious bursal disease vaccine in chicks born to non-hyperimmunized broiler breeders. *J Vet Sci Ani Husb.* 6(3), 304–313. URL: <https://www.annexpublishers.co/full-text/JVSAH/6302/Field-Assessment-of-an-Immune-Complex-Infectious-Bursal-Disease-Vaccine-in-Chicks-Born-to-Non-Hyperimmunized-Broiler-Breeders.php>.
- Chansiripornchai, N., & Sasipreeyajan, J. (2009). Comparison of the efficacy of the immune complex and conventionally live vaccine in broilers against infectious bursal disease infection. *Thai J Vet Med*, 39(2), 115–120. URL: <https://thaiscience.info/Journals/Article/TJVM/10961994.pdf>.
- Dormitorio, T. V., Giambrone, J. J., Guo, K., & Jackwood, D. J. (2007). Molecular and phenotypic characterization of infectious bursal disease virus isolates. *Avian diseases*, 51(2), 597–600. DOI: 10.1637/0005-2086(2007)51[597:MAPCOI]2.0.CO;2.
- Eterradossi, N., & Saif, Y. M. (2008). Infectious Bursal Disease. In: *Diseases of Poultry*, 12th edn (Saif YM, Fadly AM, Glissen JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE), 185–208.
- Eterradossi, N., & Saif, Y. M. (2020). Infectious bursal disease. In: *Diseases of Poultry*. 14th edition. Editor in chief D.E. Swayne. Wiley and Sons, Inc. USA, 257–283.
- Ferran, Mc. J. (1993). Infectious bursal disease. In *Vims infections of birds* (McFerran JB MS NultyMc, eds), Amsterdam, 213–228.
- Haddad, E. E., Whitfill, C. E., Avakian, A. P., Ricks, C. A., Andrews, P. D., Thoma, J. A., & Wakenell, P. S. (1997). Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian diseases*, 41(4), 882–889. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9454922>.
- Hassanzadeh, M., Bozorgmehri, F., & Tooluo, A. (2006). Evaluation of the immunogenicity of immune complex infectious bursal disease vaccine delivered in ovo to embryonated eggs or subcutaneously to day-old chickens. *Inter J Poult Sci*, 5(1), 70–74. DOI: 10.3923/ijps.2006.70.74.
- Hernandez-Divers, S. M., Villegas, P., Jimenez, C., Hernandez-Divers, S. J., Garcia, M., Riblet, S. M., Carroll, C. R., O'Connor, B. M., Webb, J. L., Yabsley, M. J., Williams, S. M., & Sanchez, S. (2008). Backyard chicken flocks pose a disease risk for neotropical birds in Costa Rica. *Avian diseases*, 52(4), 558–566. DOI: 10.1637/8298-032808-Reg.1.
- Ingrao, F., Lambrecht, R. F., & van den Berg, T. (2013). Infectious bursal disease: a complex host-pathogen interaction. *Developmental and comparative immunology*, 41(3), 429–438. DOI: 10.1016/j.dci.2013.03.017.
- Iván, J., Velhner, M., Ursu, K., German, P., Mató, T., Drén, C. N., & Mészáros, J. (2005). Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with an immune complex infectious bursal disease vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*, 69(2), 135–142. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15971678>.
- Jackwood, D. J., & Sommer-Wagner, S. (2007). Genetic characteristics of infectious bursal disease viruses from four continents. *Virology*, 365(2), 369–375. DOI: 10.1016/j.virol.2007.03.046.
- Jackwood, D. J., & Sommer-Wagner, S. E. (2010). Detection and characterization of infectious bursal disease viruses in broilers at processing. *Preventive veterinary medicine*, 97(1), 45–50. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2010.07.010.

- Jackwood, D. J., Sommer-Wagner, S. E., Stoute, A. S., Woolcock, P. R., Crossley, B. M., Hietala, S. K., & Charlton, B. R. (2009). Characteristics of a very virulent infectious bursal disease virus from California. *Avian diseases*, 53(4), 592–600. DOI: 10.1637/8957-061109-Reg.1.
- Jenbreie, S., Ayelet, G., Gelaye, E., Kebede, F., Lynch, S. E., & Negussie, H. (2013). Infectious bursal disease: seroprevalence and associated risk factors in major poultry rearing areas of Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 45(1), 75–79. DOI: 10.1007/s11250-012-0176-3.
- Jeurissen, S. H. M., Janse, E. M., Lehrbach, P. R., Haddad, E. E., Avakian, A., & Whitfill, C. E. (1998). The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immunology*, 95(3), 494–500. DOI: 10.1046/j.1365-2567.1998.00617.x.
- Kim, I. J., Gagic, M., & Sharma, J. M. (1999). Recovery of antibody-producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian diseases*, 43(3), 401–413. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10494408>.
- Kim, I. J., You, S. K., Kim, H., Yeh, H. Y., & Sharma, J. M. (2000). Characteristics of bursal T lymphocytes induced by infectious bursal disease virus. *Journal of virology*, 74(19), 8884–8892. DOI: 10.1128/jvi.74.19.8884-8892.2000.
- Letzel, T., Coulibaly, F., Rey, F. A., Delmas, B., Jagt, E., van Loon, A. A., & Mundt, E. (2007). Molecular and structural bases for the antigenicity of VP2 of infectious bursal disease virus. *Journal of virology*, 81(23), 12827–12835. DOI: 10.1128/JVI.01501-07.
- Mazengia H (2012) Review on major viral diseases of chickens reported in mEthiopia. *Journal of Infectious Diseases and Immunity*, 4(1), 1–9. DOI: 10.5897/JIDIx11.001.
- Mazengia, H., Bekele, S., Negash, T. (2009). Newcastle Disease and Infectious Bursal Disease are Threats to Village Chicken Production in Two Districts of Amhara National Regional State, Northwest Ethiopia. *IUP J. Life Sci.*, 4(2), 62–72.
- Müller, H., Mundt, E., Eterradossi, N., & Islam, M. R. (2012). Current status of vaccines against infectious bursal disease. *Avian pathology: journal of the W.V.P.A.*, 41(2), 133–139. DOI: 10.1080/03079457.2012.661403.
- Muniz, E. C., Resende, M. S., Silva, A.F.A., Verdi, R., Di Fabio, J., & Bordin, E. L. (2018). Histopathology and serology reaction to an immune complex infectious bursal disease vaccine (V877 strain) in SPF and commercial birds. *ARS Vet J SP*, 34(2), 69–76.
- Nunoya, T., Otaki, Y., Tajima, M., Hiraga, M., & Saito, T. (1992). Occurrence of acute infectious bursal disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in specific-pathogen-free chickens. *Avian diseases*, 36(3), 597–609. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1329709>.
- Pagès-Manté, A., Torrents, D., Maldonado, J., & Saubi, N. (2004). Dogs as potential carriers of infectious bursal disease virus. *Avian pathology: journal of the W.V.P.A.*, 33(2), 205–209. DOI: 10.1080/0307945042000195821.
- Rautenschlein, S., von Samson-Himmelstjerna, G., & Haase, C. (2007). A comparison of immune responses to infection with virulent infectious bursal disease virus (IBDV) between specific-pathogen-free chickens infected at 12 and 28 days of age. *Veterinary immunology and immunopathology*, 115(3-4), 251–260. DOI: 10.1016/j.vetimm.2006.11.002.
- Sharma, J. M., Kim, I. J., Rautenschlein, S., & Yeh, H. Y. (2000). Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Developmental and comparative immunology*, 24(2-3), 223–235. DOI: 10.1016/s0145-305x(99)00074-9.
- Wit, J., & Baxendale, W. (2004). Gumboro Disease- the optimal time for vaccination. *Int. Poult Prod*, 4, 19–23.
- Woldemariam, S., & Wossene, A. (2007). Infectious bursal disease (Gumboro disease): Case report at Andasa poultry farm, Amhara region. *Eth Vet J*, 11, 141–150.
- Yip, C. W., Hon, C. C., Zeng, F., & Leung, F. C. (2012). Cell culture-adapted IBDV uses endocytosis for entry in DF-1 chicken embryonic fibroblasts. *Virus research*, 165(1), 9–16. DOI: 10.1016/j.virusres.2011.12.016.
- Zelege, A., Gelaye, E., Soti, T., Ayelet, G., Sirak, A., & Zekarias, B. (2005) Investigation on infectious bursal disease outbreak in Debrezeite, Ethiopia. *Int J Poult Sci*, 4(7), 504–506. DOI: 10.3923/ijps.2005.504.506.



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/nvlvet11512
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.72-002.77-07:617.57:636.2

Justification of pathogenetic mechanisms of ungulomycosis in cows

N. M. Khomyn[✉], V. V. Pritsak, I. I. Ihlitskyi

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

Article info

Received 03.06.2024
Received in revised form
04.07.2024
Accepted 05.07.2024

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

Khomyn, N. M., Pritsak, V. V., & Ihlitskyi, I. I. (2024). Justification of pathogenetic mechanisms of ungulomycosis in cows. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 82–87. doi: 10.32718/nvlvet11512

The article presents the results of biochemical, biophysical, and histomorphological studies of the hoof horn of clinically healthy cows and patients with purulent pododermatitis complicated by keratomycetes. It is known that the development of the inflammatory process in the area of the hooves, in particular, due to purulent inflammation of the producing layer of the base of the skin, complicated by keratomycetes, affects not only the animal body as a whole but also the quality of the hoof horn, which is characterized by changes in its individual biochemical and biophysical indicators and the structure of the epidermis of the hooves. In particular, in the hoof horn of animals with ungulomycosis, there is a probable increase of 35.6 % in the concentration of SH-groups and 16.1 % in the moisture content, which indicates the deterioration of the keratinization process and, as a result, the accumulation of excessive moisture content in the epidermis of the hooves. It indicates a deterioration in the quality of the hoof horn. It has been established that the condition of the hoof horn is influenced by other biochemical indicators, in particular, the concentration of Sulfur and Calcium in the epidermis of the hoof. Thus, with ungulomycosis, the content of Sulfur decreases by 19.2 %, and calcium decreases by 13.9 %, which indicates the deterioration of keratinization processes. Trace elements, particularly copper and zinc, also play an important role in this process. Purulent inflammation of the producing layer of the base of the skin of the hoofs, complicated by keratomycetes, decreases the concentration of these mineral substances by 18.1 and 16.2 %, respectively. Changes in the biochemical indicators of the epidermis of the cow's hooves due to ungulomycosis also affected its biophysical properties. Thus, hoof horn density decreased by 7.4 % and hardness by 17.8 %. It was established that in the presence of dystrophic and inflammatory processes at the base of the skin of the hooves, there are certain violations of the tissue (tubular) and cellular structure due to ungulomycosis. The horn of such hooves undergoes parakeratotic changes; loosening of fibers and destruction of cellular elements is observed. Thus, purulent pododermatitis of fungal origin is accompanied by changes in specific biochemical and biophysical parameters of the hoof horn, as well as histomorphological changes. These changes lead to irreversible processes in the epidermis of the hoofs and are one reason for the transition of the inflammatory process to deeper tissues and the involvement of the entire cow's hoof in this process.

Key words: hoof horn, ungulomycosis, cows, mineral substances, biochemical parameters, density, hardness, purulent pododermatitis.

Обґрунтування патогенетичних механізмів унгуломікозу у корів

Н. М. Хомин[✉], В. В. Прицак, І. І. Іглицький

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

У статті наведені результати біохімічних, біофізичних та гістоморфологічних досліджень копитцевого рогу клінічно здорових корів та хворих на гнійний пододерматит, ускладнений кератоміцетами. Відомо, що розвиток запального процесу в ділянці копитця, зокрема за гнійного запалення продукуючого шару основи шкіри, ускладненого кератоміцетами, позначається не тільки на організмі тварин загалом, а й на якості копитцевого рогу, що характеризується змінами окремих його біохімічних, біофізичних показників та структури епідермісу копитця. Зокрема, у копитцевому розі хворих на унгуломікоз тварин має місце вірогідне

збільшення на 35,6 % концентрації SH-груп та на 16,1 % вмісту води, що вказує на погіршення процесу кератинізації та накопичення внаслідок цього в епідермісі копитця надмірного умісту води, тобто свідчить про погіршення якості копитцевого рогу. Встановлено, що на стан копитцевого рогу впливають й інші біохімічні показники, зокрема концентрація в епідермісі копитця Сульфору та Кальцію. Так, за унгуломікозу вміст Сульфору зменшується на 19,2 %, Кальцію – на 13,9 %, що свідчить про погіршення процесів кератинізації. У цьому процесі важливу роль відіграють також мікроелементи, зокрема Купрум та Цинк. За гнійного запалення продукуючого шару основи шкіри копитця, ускладненого кератоміцетами, спостерігається зменшення концентрації цих мінеральних речовин відповідно на 18,1 та на 16,2 %. Зміни біохімічних показників епідермісу копитця корів за унгуломікозу позначилися й на його біофізичних властивостях. Так, щільність копитцевого рогу зменшилась на 7,4 %, а твердість на – 17,8 %. Встановлено, що за наявності дистрофічних і запальних процесів в основі шкіри копитця за унгуломікозу мають місце певні порушення тканинної (трубчастості) і клітинної структури. Різ таких копитця зазнає паракератозних змін; спостерігається розпушування волокон і руйнування клітинних елементів. Отже, гнійний пододерматит грибкового походження супроводжується змінами окремих біохімічних та біофізичних параметрів копитцевого рогу, а також гістоморфологічними змінами, що призводить до незворотніх процесів в епідермісі копитця і є однією з причин переходу запального процесу на глибше розміщені тканини та втягнення у цей процес усього копитця корів.

Ключові слова: копитцевий ріг, унгуломікоз, корови, мінеральні речовини, біохімічні показники, щільність, твердість, гнійний пододерматит.

Вступ

Як відомо, у процесі еволюції шкіра нижньої частини кінцівок тварин піддавалася значним змінам. Її верхній шар, епідерміс, з поверхні перетворився у товстий твердий ріг. Це тверде шкірне утворення разом з основою шкіри і підшкірною клітковиною має назву копитця і відіграє важливу роль у збереженні здоров'я та забезпеченні тривалої експлуатації тварин (Borysevych et al., 2007; 2008; da Silva et al., 2010; Nechanitzky et al., 2016). Воно опосередковує опорно-силову взаємодію кінцевої фаланги з площею опори і функціонально та структурно тісно пов'язане з копитцевою кісткою, а також деякими іншими кістками пальців (Shearer & van Amstel, 2001; Borysevych et al., 2004; Izdepskyi et al., 2008; Shearer & van Amstel, 2017; Müller et al., 2023). Від механічних та інших пошкоджень копитця захищені роговим черевиком, який є похідним епідермісу, що продукує товстий роговий шар. Глибше розміщені тканини, зокрема основа шкіри і підшкірна клітковина, які у структурному та функціональному плані складають з ним одне ціле (Kohut & Borysevych, 2003; Izdepskyi et al., 2007; 2012). На склад, ріст і якість копитцевого рогу впливає сполучнотканинна основа копитця, оскільки тут проходять судини і нерви та й сама сполучна тканина здійснює трофічну функцію (Borysevych et al., 2007; 2008; 2009).

У зв'язку з відсутністю в епідермісі судин, його живлення здійснюється за рахунок тканинної рідини, яка циркулює між клітинами продукуючого шару по міжклітинних щілинах. Вони виконують щодо епідермісу транспортну та трофічну функцію, забезпечуючи циркуляцію метаболітів (Khomyn et al., 2018).

Відомо, що над продукуючим шаром у міжклітинних щілинах тканинна рідина поступово зникає і вони виявляються заповненими хромотропним матеріалом, який являє собою міжклітинну спайну речовину, що безпосередньо пов'язана з міжклітинним середовищем. Речовина міжклітинного середовища, ущільнюючись, перетворюється у міжклітинний цемент.

Таким чином, мікроскопічна будова копитцевого рогу нагадує цегляну кладку, де у ролі "цеглин" виступають кератиноцити, а у ролі з'єднуючого їх розчину – міжклітинний цемент (Borysevych et al., 2007; 2008). І від якості цих складових частин залежить

функціональний стан копитця та виникнення в них дистрофічних і запальних процесів (Maiel et al., 2002; Khomyn et al., 2017; Sadiq et al., 2022).

Мета дослідження

Тому метою роботи було обґрунтувати патогенетичні механізми гнійного пододерматиту, ускладненого кератоміцетами, у корів шляхом вивчення особливостей гістоморфологічних змін та біохімічних і біофізичних властивостей епідермісу копитця.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили у господарствах Львівської області на коровах чорно-рябої породи у зимово-стійловий період за прив'язного утримання тварин на дерев'яній підлозі. Було сформовано 2 групи корів (контрольна і дослідна) по 5 тварин у кожній, підібраних за принципом аналогів щодо віку, маси тіла, продуктивності; контрольна група – клінічно здорові корови, дослідна – хворі на унгуломікоз.

Були проведені біохімічні, біофізичні, мікологічні та гістоморфологічні дослідження копитцевого рогу у клінічно здорових тварин та у корів за гнійного запалення продукуючого шару основи шкіри копитця, ускладненого кератоміцетами.

Так, уміст води визначали стабільним висушуванням зразка до постійної ваги, кількість жиру – шляхом озонення зразка у муфельній печі, уміст жиру – на апараті Соксклета шляхом екстрагування жиру з досліджуваного матеріалу за допомогою органічних розчинників та білка – на апараті Кьельдаля. Визначення SH-груп та Сульфору проводили хімічними методами, умісту Кальцію, Купруму, Цинку та Кобальту – методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії, а Фосфору – фотоколориметричним методом за А. Т. Усовичем (Vlizlo et al., 2012). З метою отримання чіткої мікоморфологічної картини основи шкіри і епідермісу копитця та їх змін у процесі патологічної перебудови проводили фарбування зрізів гематоксилін-еозином, пікрофуксином за Ван Гізеном, толюїдиновим синім, аніліновим синім за методом Малорі, ПАС-реакцію та метиленовим синім. Для мікологічних досліджень матеріал висівали на щільні живильні середовища. Крім того, щільність копитцевого рогу

визначали шляхом гідростатичного зважування, а твердість — за методом Бринеля.

При проведенні дослідження були дотримані вимоги Закону України № 3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження” від 16.10.2012 року, “Загальних етичних принципів експериментів над тваринами”, схвалених на Першому національному конгресі з біоетики (Reznikov, 2003), вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для досліджень, та інших наукових цілей (European Convention, 1986), та Загальної декларації про гуманне поводження з тваринами (Універсальна Декларація, 2007).

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою програми Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Для оцінки достовірності використовували F-критерій Фішера. Різницю між отриманими даними визнавали вірогідною за $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$.

Результати та їх обговорення

Гнійний пододерматит, ускладнений кератоміцетами, виникає здебільшого внаслідок травмування копитця на тлі порушення умов утримання, рівня годівлі, моціону, інсоляції та коригуючої розчистки копитця з включенням у процес розвитку запалення патогенної мікрофлори та мікроскопічних грибків (Izdepskyi et al., 2008).

Як відомо, у ділянці ураження виявляють стафілококи, стрептококи і грамнегативні мікроорганізми — кишкову паличку та протей і значну кількість мікроскопічних грибів, серед яких найчастіше мають місце гриби роду триходерма та кладоспоріум, що проявляють виражену кератолітичну активність (Izdepskyi et al., 2008).

Як показали дослідження, все це призводить до глибоких змін як у структурі епідермісу, так і основи шкіри копитця (рис. 1), підтвердженням яких є біохімічні показники копитцевого рогу корів.



Рис. 1. Унгуломікоз у корів

Так, у копитцевому розі тварин за унгуломікозу спостерігається збільшення на 16,1 % ($P < 0,05$) вмісту води, що становить $32,3 \pm 0,83$ проти $37,5 \pm 1,27$ % та концентрації SH-груп — на 35,6 % ($P < 0,01$), яка складає $34,4 \pm 1,36$ проти $46,7 \pm 4,01$ мкмоль/г у епідермісі клінічно здорових корів. Ці зміни свідчать

про сповільнення процесу кератинізації (складний процес, що проходить у клітинах епідермісу і закінчується утворенням кератину в роговому шарі, у результаті чого він набуває міцності й еластичності) та накопичення внаслідок цього у копитцевому розі епідермісу надмірного вмісту води (табл. 1).

Як відомо, основним неорганічним компонентом кератину є Сульфур, який в організмі тварин є у вигляді органічних та неорганічних сполук і входить до складу цистеїну, цистину і метіоніну — найважливіших амінокислот рогу та бере безпосередню участь у процесах кератинізації (Borysevych et al., 2007).

Таблиця 1

Біохімічні показники копитцевого рогу корів у нормі та за унгуломікозу ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Волога, %	$32,3 \pm 0,83$	$37,5 \pm 1,27^*$
Зола, %	$1,08 \pm 0,03$	$1,01 \pm 0,05$
Жир, %	$0,05 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,002$
Білок, %	$89,4 \pm 2,94$	$86,3 \pm 3,32$
SH-групи, мкмоль/г	$34,4 \pm 1,36$	$46,7 \pm 4,01^{**}$

Примітка: у цій і наступних таблицях вірогідність різниць між контрольною і дослідною групами враховували: * — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$

Дослідженнями встановлено, що в епідермісі копитця тварин дослідної групи мало місце зменшення концентрації сірки на 19,2 % ($P < 0,001$), що становить $17,02 \pm 0,335$ проти $13,76 \pm 0,464$ г/кг (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст мінеральних речовин в копитцевому розі корів у нормі та за унгуломікозу ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Кальцій, г/кг	$1,73 \pm 0,065$	$1,49 \pm 0,038^*$
Фосфор, г/кг	$1,19 \pm 0,020$	$1,25 \pm 0,057$
Сульфур, г/кг	$17,02 \pm 0,335$	$13,76 \pm 0,464^{***}$
Купрум, мг/кг	$21,58 \pm 0,595$	$17,67 \pm 0,808^{**}$
Цинк, мг/кг	$18,05 \pm 0,285$	$15,12 \pm 0,588^{**}$

Іншим важливим макроелементом в епідермісі копитця є Кальцій, за участю якого формуються рогові утворення. Відомо, що кальцієвий гомеостаз впливає на міцність копитцевого рогу, оскільки Кальцій, коагулюючись у матриксі епідермісу, забезпечує оптимальні біофізичні властивості копитцевого рогу. Варто зазначити, що у цій частині пальця накопичується так званий лабільний Кальцій, вміст якого регулюється надходженням його з кормів раціону (Borysevych et al., 2008).

Встановлено, що концентрація Кальцію в епідермісі копитця корів за гнійного пододерматиту, ускладненого кератоміцетами зменшилася на 13,9 % ($P < 0,05$) і становить $1,73 \pm 0,065$ проти $1,49 \pm 0,038$ г/кг (табл. 2).

У процесі кератинізації важливу роль відіграють також мікроелементи, зокрема Купрум, Цинк тощо.

Іони Купруму каталізують перетворення сульфгідрильних груп прекератину у дисульфідні групи кератину, тобто вони певним чином лімітують процес кератинізації. Крім того, іони Купруму разом з ферментом лізілоксидазою та Оксигеном беруть безпосередню участь у формуванні поперечних міжковалентних зв'язків у колагенових волокнах; це певним чином зумовлює механічну стійкість також і дерми копитця (Borysevych et al., 2007).

Нашими дослідженнями встановлено, що концентрація Купруму в епідермісі копитця тварин контрольної групи становить $21,58 \pm 0,595$ мг/кг, тимчасом як у дослідній – вірогідно знижується на 18,1 % ($P < 0,01$) і складає $17,67 \pm 0,808$ мг/кг.

Важливу роль у роговому метаморфозі епідермісу відіграє Цинк, особливо за формування м'якого кератину. За нестачі Цинку виникає незавершений кератиногенез (паракератоз); рогоутворення порушується внаслідок втрати клітинами здатності утворювати кератогіалін. Ріг стає менш щільним. Зменшення умісту Цинку у копитцевому розі сприяє виникненню некробактеріозу і копитця зазнають деформації (Borysevych et al., 2007).

Так, в епідермісі копитця корів за унгуломікозу концентрація цього мікроелементу становить $15,12 \pm 0,588$ мг/кг, що на 16,2 % вірогідно менше від величини контрольного показника.

Отже, захворювання характеризується вираженим зменшенням концентрації Кальцію, Сульфору, Купруму, Цинку на тлі зростання рівня SH-груп.

Процеси, які відбуваються у живій природі, будучи частиною матеріального світу, підпорядковуються об'єктивним фізичним законам, зокрема законам механіки щодо показників щільності, твердості, опору до стирання, які поряд з іншими біофізичними параметрами безпосередньо залежить від функціонального стану організму у загалом та окремих його частин, зокрема і змінюються залежно від особливостей впливу різних факторів зовнішнього середовища (Borysevych et al., 2008).

З огляду на це були проведені біофізичні дослідження (щільність, твердість) епідермісу у клінічно здорових корів та за гнійного запалення основи шкіри копитця, ускладненого кератоміцетами (табл. 3). Так, у корів контрольної групи встановлені доволі високі біофізичні параметри рогу підшви копитця, а саме величина показника щільності складає $1,089 \pm 0,018$ г/см³, твердості – $148,7 \pm 6,02$ кгс/см².

Таблиця 3

Біофізичні показники копитцевого рогу корів у нормі та за унгуломікозу ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи	
	контрольна	дослідна
Щільність, г/см ³	$1,089 \pm 0,018$	$1,009 \pm 0,005^{**}$
Твердість, кгс/см ²	$148,7 \pm 6,02$	$122,2 \pm 9,75^{*}$

Як показали результати досліджень, за гнійного запалення основи шкіри копитця у корів, ускладнених кератоміцетами, спостерігали зміни з боку цих

фізико-механічних параметрів епідермісу, зокрема зменшення на 7,4 % ($P < 0,01$) щільності та на 17,8 % ($P < 0,05$) – твердості копитцевого рогу, що становить відповідно $1,009 \pm 0,005$ г/см³ та $122,2 \pm 9,75$ кгс/см² (табл. 3) і свідчить про погіршення біофізичних властивостей епідермісу. Ці зміни вказують на порушення кератинізації (незавершеної кератинізації), що своєю чергою призводить до розволокнення копитцевого рогу, зокрема утворення у ділянці підшви копитця дефектів епідермісу різної площі, що підтверджуються результатами гістоморфологічних досліджень.

Так, за наявності запальних процесів в основі шкіри копитця мають місце певні порушення тканинної (трубчастої) і клітинної структури (рис. 2).

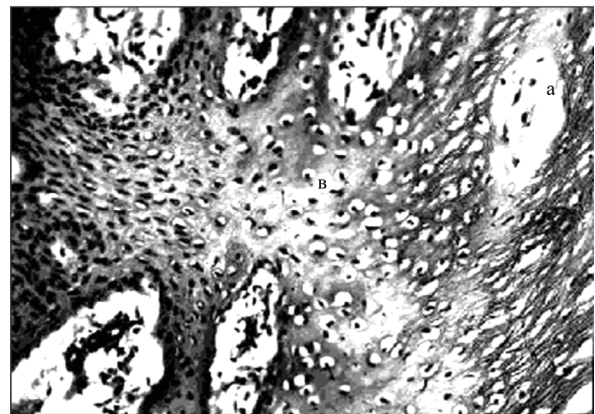


Рис. 2. Порушення трубчастої структури копитцевого епідермісу (а), внутрішньоепідермальний набряк (в) (гематоксилін і еозин, х 280)

Рогові трубочки мають неоднаковий діаметр, всередині них накопичується екссудат, виявляються лейкоцити у стані розпаду або кров. Відбувається проникнення у міжклітинний простір епідермісу аномальних білково-полісахаридних сполук, які утворюються в основі шкіри через деградацію колагену та з плазми крові (за рахунок екссудації). Екссудат, змішаний з білково-полісахаридними комплексами, частково відводяться судинами, резорбуються макрофагами, а частково надходять по міжклітинних щілинах в епідерміс (рис. 3).

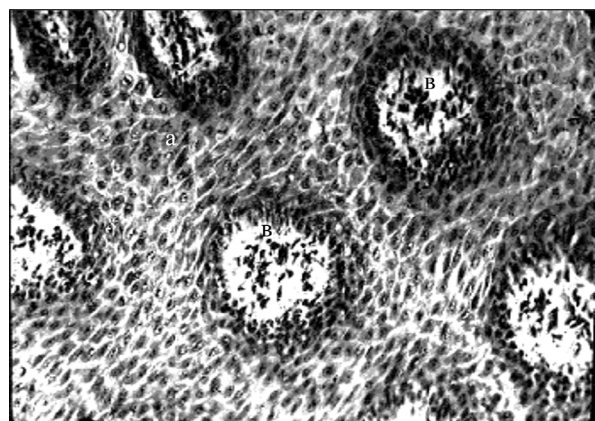


Рис. 3. Відкладання в епідермісі білково-полісахаридних сполук, що надходять з основи шкіри (а); рогові трубочки (в) (ПАС-реакція, х 80)

Має місце просякання епідермісу глікопротеїдами, зменшення у ньому кількості дефінітивних, заповнених кератиновим білком ороговілих епідермоцитів, а натомість – збільшення кількості неструктурованих позаклітинних глікопротеїнових сполук.

Зниження біосинтетичної активності, посилення клітинної смерті та дистрофії епідермоцитів супроводжується зниженням продукування дефінітивних кератиноцитів та збільшенням в епідермісі частки міжклітинного глікопротеїдного матеріалу, що призводить до порушення процесів відторгнення кератиноцитів (за рахунок цементуючої ролі внутрішньоепідермальної глікопротеїдної субстанції) Це супроводжується видимим посиленням відростання копитцевого рогу та деформацією рогової капсули.

За цих обставин різко змінюється структура рогу: кератиноцити роз'єднуються і виявляються замуrowаними у масі патологічних цементуючих субстанцій. Часто спостерігається дистрофія самих кератиноцитів з порушенням продукування кератину. Ріг таких копитець зазнає паракератозних змін, набуваючи при цьому вигляду безструктурної маси. В окремих місцях епідермісу копитець спостерігалось руйнування кератиноцитів, злиття їх між собою, утворення значних порожнин неправильної форми.

За унгуломікозу у тварин спостерігається фібриноїдний некроз основи шкіри, виражена ексудация, порушення кератиногенезу та тканинно-клітинної організації копитцевого епідермісу, просякнення епідермісу копитець ексудатом, збільшення відкладання глікопротеїдних сполук і зменшення вмісту кератиноцитів, прогресуючий розпад копитцевого рогу, його руйнування, утворення дефектів різного розміру у ділянці підшови і з часом – виникнення гнійно-запальних процесів.

Отже, гнійний пододерматит, ускладнений кера-томіцетами, супроводжується змінами гістоморфологічними змінами тканин копитець та окремих біохімічних і біофізичних параметрів копитцевого рогу, що відображають стан епідермісу копитець і свідчать про якість копитцевого рогу за гнійного запалення продукуючого шару основи шкіри копитець тварин грибового походження.

Висновки

1. За гнійного пододерматиту у тварин, ускладненого кера-томіцетами, має місце зменшення концентрації Сульфору на 19,2 %, Кальцію – на 13,9 %, Купруму на – 18,1 % і Цинку – на 16,2 % за збільшення вмісту води на 16,1 %.

2. За унгуломікозу у корів спостерігається зменшення щільності та твердості відповідно на 7,4 і 17,8 %

4. За унгуломікозу має місце розвиток паракератозних змін в епідермісі копитець, прогресуючий розпад копитцевого рогу, його руйнування та утворення дефектів різного розміру.

3. За гнійного пододерматиту, ускладненого кера-томіцетами у тварин погіршується якість копитцевого рогу, що підтверджується гістоморфологічними змінами та величиною окремих біохімічних і біофізич-

них показників.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження будуть спрямовані на пошук нових методів поліпшення якості копитцевого рогу у тварин.

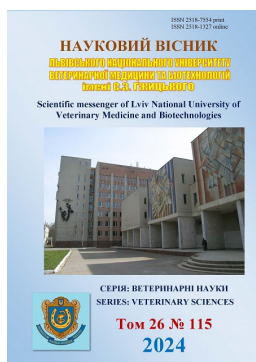
Відомості про конфлікт інтересів.

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Borysevych, V. B. Borysevych, B. V., Sukhonos, V. P., Petrenko, O. F., Khomyn, N. M., Tkachenko, S. M., Doroshchuk, V. O., & Lytvynenko, D. Yu. (2008). *Ortopediia parno- i neparnopalykh tvaryn*. Kyiv: DIA (in Ukrainian).
- Borysevych, V. B., Borysevych, B. V., & Khomyn, N. M. (2009). *Zdobutky nanotekhnolohii v likuvanni ta profilaktytsi khvorob tvaryn. Nanoveterynariia (vprovadzhennia inovatsiinykh tekhnolohii): uchbovyi ta praktychnyi posibnyk*. Kyiv (in Ukrainian).
- Borysevych, V. B., Borysevych, B. V., Petrenko, O. F., & Khomyn, N. M. (2007). *Veterynarna ortopediia: Khvoroby kopyt i kopytets*. Kyiv: TOV “Ukrzolotopostach” (in Ukrainian).
- Borysevych, V. B., Borysevych, B. V., Petrenko, O. F., Sukhonos, V. P., Khomyn, N. M., Tkachenko, S. M., Doroshchuk, V. O., & Lytvynenko, D. Yu. (2008). *Antymikrobnna, antyhrybkova, antyprotozoina, antyvirusna khimiote-rapiia*. Kyiv: Vydavnytstvo NAU (in Ukrainian).
- Borysevych, V. B., Kohut, N. V., & Khomyn, N. M. (2004). *Poverkhnevyi ta hlybokyi hniinyi pododermatyt u koriv*. *Visnyk Bilotserkiv. derzh. ahrar. un-tu. Bila Tserkva*, 28, 8–14 (in Ukrainian).
- da Silva, L. A., Franco, L. G., Atayde, I. B., da Cunha, P. H., de Moura, M. I., & Goulart, D. S. (2010). Effect of biotin supplementation on claw horn growth in young, clinically healthy cattle. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 51(6), 607–610. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20808571>.
- Izdepskyi, V. Y., Kulynych, S. M., & Kabluchka, A. P. (2012). *Deiaki etiologichni faktory urazhen kopyt u tvaryn*. *Visnyk Zhytomyrskoho natsionalnoho ahroekologichnoho universytetu*, 1(32), 43–47 (in Ukrainian).
- Izdepskyi, V., Kulynych, S., & Hlushchenko, S. (2007). *Deiaki pytannia patohenezu pododermatyti u koriv*. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 4, 31–33 (in Ukrainian).
- Izdepskyi, V., Kulynych, S., & Kabluchka, A. (2008). *Rol mikroskopichnykh hrybiv u patohenezi pododermatyty u koriv*. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii*, 4, 119–128 (in Ukrainian).
- Khomyn, N., Mysak, A., Tsisinska, S., & Pritsak, V. (2017). The quality of the hoof horns of cattle and the influence of certain etiological factors. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(82), 175–179. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/1360>.
- Khomyn, N., Mysak, A., Tsisinska, S., & Pritsak, V. (2018). Features of purulent pododermatitis course in

- cattle. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(83), 286-289. DOI: 10.15421/nvlvet8357.
- 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.
- Kohut, N., & Borysevych, V. (2003). Vynyknennia pododermatytiv u velykoi rohatoi khudoby vnaslidok travmuvannia kintsivok. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 2, 29–30 (in Ukrainian).
- Maierl, J., Böhmisch, R., Dickomeit, M., & Liebich, H. G. (2002). A method of biomechanical testing the suspensory apparatus of the third phalanx in cattle: a technical note. *Anatomia, histologia, embryologia*, 31(6), 321–325. DOI: 10.1046/j.1439-0264.2002.00421.x.
- Müller, K. R., Laven, R. A., & Laven, L. J. (2023). Persistence of orthopaedic hoof blocks for the treatment of lame cattle kept permanently at pasture. *New Zealand veterinary journal*, 71(5), 236–243. DOI: 10.1080/00480169.2023.2216658.
- Nechanitzky, K., Starke, A., Vidondo, B., Müller, H., Reckardt, M., Friedli, K., & Steiner, A. (2016). Analysis of behavioral changes in dairy cows associated with claw horn lesions. *Journal of dairy science*, 99(4), 2904–2914. DOI: 10.3168/jds.2015-10109.
- Sadiq, M. B., Ramanoon, S. Z., Shaik Mossadeq, W. M., Mansor, R., & Syed-Hussain, S. S. (2022). Treatment protocols for claw horn lesions and their impact on lameness recovery, pain sensitivity, and lesion severity in moderately lame primiparous dairy cows. *Frontiers in veterinary science*, 9, 1060520. DOI: 10.3389/fvets.2022.1060520.
- Shearer, J. K., & van Amstel, S. R. (2001). Functional and corrective claw trimming. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 17(1), 53–72. DOI: 10.1016/s0749-0720(15)30054-2.
- Shearer, J. K., & van Amstel, S. R. (2017). Pathogenesis and Treatment of Sole Ulcers and White Line Disease. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 33(2), 283–300. DOI: 10.1016/j.cvfa.2017.03.001.
- Vlizio, V. I., Fedoruk, R. S., & Ratych, I. B. (2012). Laboratorni metody doslidzen u biolohii, tvarynnystvi ta veterynarii medytsyni: dovidnyk. Lviv : SPOLOM (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/nvlvet11513
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.995.132.8:636.7

Gastrointestinal parasites of dogs, analysis of prevalence and treatment efficacy

A. B. Mushynskiy✉, T. M. Karchevska, S. B. Prosyanyi, S. P. Kernychnyi, L. B. Savchuk

Higher Education Institution Podillia State University, Kamianets-Podilskyi, Ukraine

Article info

Received 06.06.2024
Received in revised form
08.07.2024
Accepted 09.07.2024

Higher Education Institution
Podillia State University,
Shevchenko, 12, Kamianets-
Podilskyi, 32300, Ukraine.
Tel.: +38-067-380-35-15
E-mail: mushynskiyab@pdatu.edu.ua

Mushynskiy, A. B., Karchevska, T. M., Prosyanyi, S. B., Kernychnyi, S. P., & Savchuk, L. B. (2024). Gastrointestinal parasites of dogs, analysis of prevalence and treatment efficacy. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 88–92. doi: 10.32718/nvlvet11513

The study of the prevalence of gastrointestinal parasites in dogs and the efficacy of anthelmintic drugs is a pressing issue in veterinary medicine. Helminthic infections can affect various systems of the animal's body, including the gastrointestinal tract, lungs, and other organs, often leading to severe diseases. This article presents the results of an examination of 97 dogs aimed at identifying gastrointestinal parasitic infections and evaluating the efficacy of various anthelmintic drugs. The analysis of fecal samples revealed that 53 % of the dogs were infected with one or more species of parasites. Four species of parasites were identified: three species of helminths (*Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala*) and one species of protozoan parasite (*Giardia* spp.). The highest prevalence of infection was recorded for *T. canis* (51%), and mixed infections involving two or more parasites were found in 27 % of the dogs. The study demonstrated a significant age-related variation in infection rates: puppies (≤ 6 months) had the highest prevalence (61 %), while the rates in young dogs (6 months – 1 year) and adult dogs (over 1 year) were 57.1 % and 26.4 %, respectively. Among the parasites affecting puppies, *T. canis* (45.4 %) and *Giardia* spp. (12.6 %) were the most prevalent, indicating their high susceptibility to these infections. Additionally, it was found that female dogs were more frequently infected with parasites than males. The efficacy of anthelmintic drugs varied depending on the type of infection. The drugs Brovadazole and Wormidex were 100 % effective in cases of mono-infections; however, their efficacy decreased in cases of mixed infections. The efficacy of Albentabs ranged from 32 % to 61 % in mixed helminth infections but reached 100 % in mono-infections. Metronidazole was found to be 100 % effective against the protozoan parasite *Giardia* spp. The results of this study highlight the importance of early diagnosis and appropriate treatment of gastrointestinal parasitoses in dogs, especially in puppies, to prevent severe complications. The efficacy of anthelmintic drugs can vary significantly depending on the type of infection and the number of parasites, underscoring the need for an individualized approach to treating animals. Combining different classes of anthelmintic drugs may be more effective than using a single drug, as this approach allows for broader coverage of diseases and reduces the risk of resistance development.

Key words: helminths, dogs, treatment, nematodes, parasites.

Шлунково-кишкові паразити у собак, аналіз поширеності та ефективність лікування

А. Б. Мушинський✉, Т. М. Карчевська, С. Б. Просяний, С. П. Керничний, Л. Б. Савчук

Заклад вищої освіти “Подільський державний університет”, м. Кам'янець-Подільський, Україна

Дослідження поширеності шлунково-кишкових паразитів у собак та ефективності антигельмінтних препаратів є актуальною темою для ветеринарної медицини. Гельмінтозні інвазії можуть уражати різні системи організму тварин, включаючи шлунково-кишковий тракт, легені та інші органи, що часто призводить до серйозних захворювань. Ця стаття висвітлює результати обстеження 97 собак, спрямованого на виявлення інвазії шлунково-кишковими паразитами та оцінку ефективності застосування різних антигельмінтних препаратів. За результатами аналізу зразків фекалій було встановлено, що 53 % собак були інвазовані одним або кількома видами паразитів. Загалом ідентифіковано чотири види паразитів: три види гельмінтів (*Toxocara canis*,

Ancylostoma caninum, *Uncinaria stenocephala*) та один вид протозойних паразитів (*Giardia* spp.). Найвищу екстенсивність інвазії (EI) зафіксовано при ураженні *T. canis* (51 %), а змішані інвазії з двома або більше паразитами виявлено у 27 % собак. Дослідження виявило значну залежність інвазії від віку тварин: цуценята (≤ 6 місяців) мали найвищу EI (61 %), тимчасом як у молодих собак (6 місяців – 1 рік) та дорослих собак (віком понад 1 рік) вона складала 57,1 % та 26,4 % відповідно. Серед паразитів, що уражали цуценят, домінували *T. canis* (45,4 %) та *Giardia* spp. (12,6 %), що свідчить про їх високу сприйнятливості до цих інвазій. Крім того, було встановлено, що самки собак (61,7 %) частіше уражені паразитами, ніж самці (54,2 %). Ефективність антигельмінтних препаратів варіювала залежно від типу інвазії. Препарати бровадазол та вормідекс виявили 100 % ефективність при моноінвазіях, однак їх ефективність знижувалася при змішаних інвазіях. Ефективність Альбендабс варіювала від 32 % до 61 % у випадку змішаних гельмінтозних інвазій, проте становила 100 % при моноінвазіях. Метронідазол показав 100 % ефективність проти протозойного паразита *Giardia* spp. Отже, результати дослідження демонструють важливість ранньої діагностики та відповідного лікування шлунково-кишкових паразитозів у собак, особливо у цуценят, для запобігання серйозним ускладненням. Ефективність антигельмінтних препаратів може значно варіювати залежно від типу інвазії та кількості паразитів, що підкреслює необхідність індивідуального підходу до лікування тварин. Комбінація різних класів антигельмінтних препаратів може бути більш ефективною, ніж використання одного препарату, оскільки це дозволяє покрити ширший спектр захворювань та зменшити ризик розвитку резистентності.

Ключові слова: гельмінти, собаки, лікування, нематоди, паразити.

Вступ

Гельмінтози собак є актуальною і поширеною проблемою ветеринарної медицини. Собаки відіграють важливу роль у передачі важливих зоонозних паразитів людині. Забруднення навколишнього середовища фекаліями собак, що містять різні інфекційні стадії паразитів, такі як яйця, личинки або ооцисти, є головним джерелом зараження для інших тварин та людини (Traversa et al., 2014; Felsmann et al., 2017; Alsaraf et al., 2021). Ехінококоз і токсокароз вважаються серйозною проблемою громадського здоров'я (Alvarez-Rojas et al., 2014). Будучи резервуарним господарем для великої кількості паразитів, собаки передають їх до людини (Duscher et al., 2015). Люди можуть заразитися через їжу або воду, руки, вдихання пилу або проникнення личинок через шкіру (Felsmann et al., 2017). Собаки є остаточними або резервуарними господарями для понад 60 зоонозних паразитів, таких як *Taenia* sp., *Echinococcus* spp., *Dipylidium caninum*, *Toxocara canis*, *Ancylostoma* spp., *Eimeria* spp. та *Cryptosporidium* spp. (Traversa et al., 2014). *T. canis* є одним з найпоширеніших шлунково-кишкових паразитів собак (Lee et al., 2010; Overgauw & Van Knapen, 2013). Трансплацентарне зараження *T. canis* може призвести до загибелі всіх цуценят через міграцію личинок у легені. Собаки також досить часто уражаються різними видами стрічкових гельмінтів, такими як *Taenia* spp., *D. caninum* тощо, а також різними видами протозойних захворювань. Хоча кількість домашніх собак швидко зростає в Україні, особливо у великих містах, існує мало інформації про поширеність кишкових паразитозів у домашніх собак. Для контролю паразитарних інвазій у собак та зоонозної передачі цих паразитів людині необхідні знання епізоотології цих паразитарних інвазій. У розвинених країнах принципи контролю шлунково-кишкових паразитів в основному базуються на належній гігієні, інформуванні та профілактиці (ESCCAP, 2021). В Україні це не завжди можливо і в основному залежить від антигельмінтних препаратів для контролю паразитарних інвазій собак. На ринку України доступна велика кількість антигельмінтних та антипаразитарних препаратів проти широкого спектра паразитарних хвороб. Найбільш поширеними препаратами є альбе-

ндазол, фенбендазол, мебендазол, пірантел, празиквантел, левамизол, івермектин тощо.

Макроциклічні лактони – один із найпопулярніших класів антигельмінтних препаратів, до яких належить івермектин. Вони ефективні проти широкого спектра гельмінтів, включаючи нематод та кліщів. До бензімідазолів належать альбендазол та фебендазол, які є ефективними проти багатьох видів нематод. Ефективність альбендазолу 98,8–100 % проти *Ancylostoma* spp. (Ramalingam et al., 1983). Ефективність метронідазолу була 90–100 % проти протозойних інвазій як у собак, так і у кішок (Garanayak et al., 2017). Дослідження показують, що бензімідазоли добре сприймаються собаками і мають високий рівень ефективності, особливо проти аскарид. Клас тетрамізинів включає левамизол, який є ефективним проти деяких видів нематод. Левамизол добре переноситься собаками і має високий рівень ефективності, але його використання може бути обмеженим через можливі побічні ефекти. До похідних хіноліну належить празиквантел, який є ефективним проти широкого спектра цестод, включаючи *Echinococcus granulosus*, що спричиняє ехінококоз у людей. Празиквантел є безпечним і ефективним препаратом для лікування цестодозів у собак.

Дослідження також показують, що комбінація різних класів антигельмінтних препаратів може бути більш ефективною, ніж використання одного препарату, оскільки це дозволяє покрити ширший спектр захворювань та зменшити ризик розвитку резистентності. Повідомлялося, що фенбендазол з празиквантелом були на 100 % ефективними для елімінації *Ancylostoma* sp., *Toxocara* sp. та *Taenia* spp. (Corwin et al., 1984). Крім того, важливим є моніторинг ефективності антигельмінтних препаратів та виявлення випадків резистентності, щоб забезпечити ефективне лікування та профілактику гельмінтозів у майбутньому.

Гельмінти можуть уражати різні системи організму тварини, включаючи шлунково-кишковий тракт, легені та інші органи. Інвазія може спричиняти різноманітні симптоми, від легких до важких захворювань, що вимагають термінового лікування. Рання діагностика та правильне лікування є ключовими для запобігання серйозним ускладненням та збереження здоров'я улюбленця.

Мета дослідження

Існує обмежена кількість публікацій щодо ефективності антигельмінтних препаратів проти шлунково-кишкових паразитарних інвазій у собак. Тому метою цього дослідження було визначити загальну поширеність паразитарних інвазій та оцінити ефективність антигельмінтних препаратів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили серед домашніх собак Хмельницької області протягом 2022–2023 років. Було зібрано 97 зразків фекалій собак різних порід, віку та статі. Відібраних собак було розділено на три вікові групи: цуценята до 6 місяців, молоді собаки від 6 місяців до 1 року та дорослі собаки віком понад 1 рік. Близько 20 грамів фекалій від кожної собаки було зібрано у стерильний контейнер і доставлено у лабораторію. Зразки фекалій досліджували методом седиментації та флотатії. Яйця паразитів ідентифікували за їх характерними морфологічними ознаками та визначниками.

Після цього собак розділили на дві групи, інвазованих одним видом паразитів та зі змішаною інвазією.

Для визначення ефективності препаратів для лікування використовували комерційно доступні на ринку України антигельмінтні препарати: Альбендабс (альбендазол), Вормідекс (пірантел + празиквантел), Бровадазол (фенбендазол), Метронідазол. Препарати задавали згідно з інструкцією виробника. Через 7 і 14 днів повторно проводили гельмінтокопрологічне дослідження.

Результати та їх обговорення

Було обстежено 97 собак шляхом аналізу зразків фекалій, з яких 53 % виявилися інвазованими одним або кількома видами шлунково-кишкових паразитів. Всього було ідентифіковано чотири види паразитів на основі характерних морфологічних ознак яєць або дорослих особин: три види гельмінтів, такі як *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Uncinaria stenocephala* і один вид протозойних паразитів – *Giardia* spp. Найвища екстенсивність інвазії (EI) була виявлена за ураження *T. canis* (51 %), далі слідували *A. caninum* (21,6 %), і *U. stenocephala* і *Giardia* spp. – 13,7 %. Змішані інвазії з двома або більше співчленами були виявлені у 27 % собак (рис. 1).

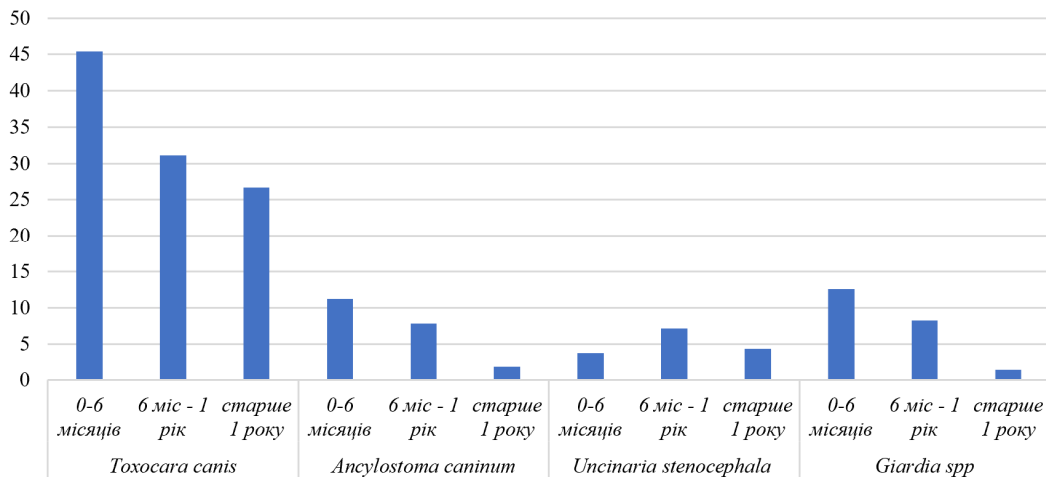


Рис. 1. Екстенсивність інвазії собак за паразитарних захворювань залежно від віку

У нашому дослідженні було встановлено, що EI була вищою у цуценят (61 %) порівняно з молодими (57,1 %) та дорослими собаками (26,4 %). У цуценят (≤ 6 місяців) було виявлено інвазії *T. canis* (45,4 %), *A. caninum* (11,2 %), *Giardia* spp. (12,6 %) та *U. stenocephala* (3,7 %). Змішані інвазії у цуценят були зареєстровані у 16,7 % випадків. У молодих собак (від 6 місяців до 1 року) найчастіше реєстрували *T. canis* (31,1 %), далі слідували *Giardia* spp. (8,2 %), *A. caninum* (7,8 %) та *U. stenocephala* (7,1 %). Крім того, у 24,6 % молодих собак були виявлені паразитоценози. У дорослих собак (віком понад 1 рік) найпоширенішим був токсокароз (26,7 %), найрідше реєстрували лямбліоз (1,4 %).

Було виявлено, що вік собак мав значний вплив на інвазію шлунково-кишковими паразитами. У нашому дослідженні цуценята були більш інвазовані шлунково-кишковими паразитами, ніж молоді та дорослі

собаки. Цей результат узгоджується з кількома іншими дослідженнями. Oliveira-Sequeira et al. (2002) також продемонстрували вищу поширеність анкілостомозу та токсокарозу у собак віком до одного року. *T. canis* частіше реєстрували у собак віком до 1 року, що узгоджується з результатами інших авторів (Little et al., 2009). Вища поширеність *A. caninum* та *T. canis* у молодих собак може бути зумовлена трансплацентарною передачею личинок до цуценят (Bowman et al., 2010). Молоді собаки виявилися більш сприйнятливими до інвазії *Giardia* spp. порівняно з дорослими. Це може бути зумовлено нижчим рівнем імунітету, оскільки старші собаки порівняно стійкіші до таких інвазій, оскільки вони мають вищий адаптивний імунітет.

Було виявлено, що самки собак (61,7 %) частіше уражені паразитарними захворюваннями, ніж самці (54,2 %).

Екстенсивність антигельмінтних препаратів становила 100 % у випадку однієї паразитарної інвазії, але коливалася у випадку змішаних інвазій. Ефективність препаратів бровадазол та wormідекс у випадку моноінвазії становила 100 % проти токсокар, анкілостом та унцинарій відповідно. Екстенсивність Альбендабс варіювала від 32 % до 61 % проти змішаних гельмінтозних інвазій, однак становила 100 % проти моноінвазій у собак. Екстенсивність метронідазолу склала 100 %.

За глобальними дослідженнями поширеності токсокарозу в собак встановлено, що близько 11,1 % усієї популяції собак, що становить 100 мільйонів тварин, є потенційними носіями гельмінтів виду *Toxocara* по всьому світу. Однак екстенсивність інвазії серед різних країн і груп тварин може сильно коливатись, що, ймовірно, пов'язано з їхнім харчуванням, імунним статусом, гігієнічними факторами, ветеринарною допомогою та доступністю протипаразитарного лікування (Habluetzel et al., 2003; Becker et al., 2012; Nijse et al., 2015). Молоді собаки (віком до 1 року) мають вищу ураженість токсокарозом, ніж старші собаки (віком понад 1 рік), що відповідає більшості попередніх досліджень (Abdel Aziz et al., 2019; Moro & Abah, 2019). Це пояснюється вертикальною трансплацентарною передачею гельмінтів від матері до цуценят (Blagburn et al., 1996). Набутий віковий імунітет у собак віком понад три місяці зазвичай знижує сприйнятливості та інтенсивності інвазії токсокарозом (Abdel Aziz et al., 2019).

Більшу поширеність токсокарозу у собак було виявлено в регіонах з вищими середніми річними температурами навколишнього середовища. Ці особливості пов'язані з рівнем збереження життєздатності яєць токсокар в навколишньому середовищі, який є вищим у регіонах з помірними температурами (+20–30 °C) та вологим ґрунтом, тимчасом як температура менше ніж 10 °C або більше ніж 37 °C є несприятливою для збереження і розвитку яєць (Despommier, 2003).

Протягом останнього десятиліття відбулися зміни у поширеності анкілостомозу. У масштабному дослідженні собак у США – 19 % зразків містили яйця *Ancylostoma* spp. Однак показники екстенсивності інвазії можуть бути набагато вищими на окремих територіях і досягати 75 %. Інвазування гельмінтами *A. caninum* може відбуватися вертикально (через молоко), перкутанно або при ковтанні інвазійних личинок третьої стадії чи паратеничних господарів. У зрілих собак з певним набутим імунітетом інвазійні личинки можуть не розвиватися безпосередньо в дорослі гельмінти, а мігрувати в соматичні тканини, такі як нирки та скелетні м'язи, де вони проходять тривалий період спокою (Kalkofen, 1987). Ці личинки найчастіше реактивуються гормонами вагітності та лактації і передаються до щенят з молоком матері. Хоча анкілостомоз реєструють у собак усіх вікових груп, у щенят та молодих собак частіше проявляються клінічні ознаки захворювання, включаючи анемію, слабкість, анорексію та втрату ваги або поганий ріст. Як і у випадку з більшістю паразитарних захворювань, клінічні ознаки посилюються через недоїдання, стрес або супутні захворювання.

Лямблії можуть уражати широкий спектр тварин, в тому числі й людину, і є поширеною причиною діареї. Домашні тварини можуть передавати ряд зоонозних захворювань своїм власникам, включаючи лямбліоз, але характер взаємодії недостатньо вивчений. Загальні показники екстенсивності інвазії становили 15,2 % для собак і 12 % для котів у глобальному дослідженні. Однак між дослідженнями була дуже велика гетерогенність. Статистично встановлено, що метод діагностики мав значний вплив на відсоток виявлення хворих тварин, при цьому дослідження методом ELISA, IFA та PCR, були до 3,7 рази ефективнішими, ніж дослідження, що використовували мікроскопію (Bouzid et al., 2015).

Різноманітні фактори можуть впливати на ефективність протипаразитарних препаратів за моно- та змішаної інвазії (Levytska et al., 2020). Антигельмінтні препарати інколи не дають 100 % ефективності з кількох причин. Насамперед деякі види гельмінтів можуть розвивати стійкість до певних діючих речовин, особливо при частому або неправильному використанні даних препаратів. Крім того, неправильна доза препарату може бути недостатньою для ефективного знищення всіх паразитів. Це може статися через помилки в розрахунках або неправильне застосування ліків. Варто зазначити, що можливі варіації в метаболізмі та абсорбції ліків у різних тварин, які можуть впливати на ефективність лікування. Важливо також пам'ятати, що деякі паразити можуть перебувати у фазах розвитку, коли вони менш сприйнятливі до лікування, наприклад у стадії личинок або цист. Також важливо враховувати, що повторне зараження можливе, якщо джерело інвазії не було усунуто. Важливим є дотримання правил гігієни та профілактичних заходів після проведеного лікування, щоб уникнути повторного зараження.

Висновки

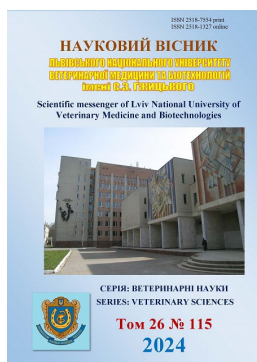
Шлунково-кишкові паразитарні інвазії є надзвичайно поширеними серед собак. Антигельмінтні препарати, що містять альбендазол, пірантел та празиквантел, є високоефективними проти моноінвазій у собак. Подібно до цього – метронідазол рекомендується для лікування одиночної інвазії найпростішими у собак. Особливу увагу слід приділяти дегельмінтизації цуценят, оскільки вони більш вразливі до паразитарних захворювань. *T. canis*, *A. caninum* та *U. stenocephala*, які поширені серед собак, є зоонозами та важливими з огляду на громадське здоров'я. Регулярна дегельмінтизація та підвищення обізнаності серед власників собак необхідні для контролю захворюваності серед собак та зменшення ризику передачі інвазій людям.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abdel Aziz, A. R., Hassan, A. A., Elmahallawy, E. K., Elshahawy, I. S., & Almuzaini, A. M. (2019). Prevalence and associated risk factors of *Toxocara* infection in dogs in northern and southern Egypt. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 17, 100305. DOI: 10.1016/j.vprsr.2019.100305.
- Alsarraf, M., Levytska, V., Mierzejewska, E. J., Polukhovych, V., Rodo, A., Alsarraf, M., Kavalevich, D., Dwuznik-Szarek, D., Behnke, J. M., & Bajer, A. (2021). Emerging risk of *Dirofilaria* spp. infection in Northeastern Europe: high prevalence of *Dirofilaria repens* in sled dog kennels from the Baltic countries. *Scientific reports*, 11(1), 1068. DOI: 10.1038/s41598-020-80208-1.
- Alvarez-Rojas, C. A., Romig, T., & Lightowlers, M. W. (2014). *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes infecting humans--review of current knowledge. *International journal for parasitology*, 44(1), 9–18. DOI: 10.1016/j.ijpara.2013.08.008.
- Becker, A. C., Rohen, M., Epe, C., & Schnieder, T. (2012). Prevalence of endoparasites in stray and fostered dogs and cats in Northern Germany. *Parasitology research*, 111(2), 849–857. DOI: 10.1007/s00436-012-2909-7.
- Blagburn, B. L., Lindsay, D. S., Vaughan, J. L., Rippey, N. S., Wright, J. C., Lynn, R. C., Kelch, W. J., Ritchie, G., & Hepler, D. I. (1996). Prevalence of canine parasites based on fecal flotation. *Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 18(4), 483–509.
- Bouzig, M., Halai, K., Jeffreys, D., & Hunter, P. R. (2015). The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats: A systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. *Veterinary Parasitology*, 207(3–4), 181–202. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.12.011.
- Bowman, D. D., Montgomery, S. P., Zajac, A. M., Eberhard, M. L., & Kazacos, K. R. (2010). Hookworms of dogs and cats as agents of cutaneous larva migrans. *Trends in Parasitology*, 26(4), 162–167. DOI: 10.1016/j.pt.2010.01.005.
- Corwin, S. E., Pratt, H. D., & McCurdy, S. A. (1984). Anthelmintic effect of febantel/praziquantel paste in dogs and cats. *American Journal of Veterinary Research*, 45(1), 154–155. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6703448>.
- Despommier, D. (2003). Toxocariasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2), 265–272. DOI: 10.1128/CMR.16.2.265-272.2003.
- Duscher, G. G., Leschnik, M., Fuehrer, H. P., & Joachim, A. (2015). Wildlife reservoirs for vector-borne canine, feline, and zoonotic infections in Austria. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 4(1), 88–96. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2014.12.001.
- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) (2021). Guideline 01: Worm control in dogs and cats (15th ed.). URL: https://www.esccap.org/uploads/docs/oc1bt50t_0778_ESCCAP_G_L1_v15_1p.pdf.
- Felsmann, M., Michalski, M., Felsmann, M., Sokół, R., Szarek, J., & Strzyżewska-Worotyńska, E. (2017). Invasive forms of canine endoparasites as a potential threat to public health: A review and own studies. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 24(2), 245–249. DOI: 10.5604/12321966.1235019.
- Garannayak, N., Gupta, A. R., & Patra, R. C. (2017). Successful therapeutic management of canine isosporosis in puppies. *Journal of Parasitic Diseases*, 41(1), 48–50. DOI: 10.1007/s12639-015-0747-0.
- Habluetzel, A., Traldi, G., Ruggieri, S., Attili, A. R., Scuppa, P., Marchetti, R., Menghini, G., & Esposito, F. (2003). An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination, and risk of human infection in the Marche region of Italy. *Veterinary Parasitology*, 113(3–4), 243–252. DOI: 10.1016/s0304-4017(03)00082-7.
- Kalkofen, U. P. (1987). Hookworms of dogs and cats. In R. B. Grieve (Ed.), *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* (pp. 134–154). W. B. Saunders.
- Lee, A. C., Schantz, P. M., Kazacos, K. R., Montgomery, S. P., & Bowman, D. D. (2010). Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. *Trends in Parasitology*, 26(4), 155–161. DOI: 10.1016/j.pt.2010.01.002.
- Levytska, V., Berezovskyi, A., & Mushynskyi, A. (2020). Diagnosis and treatment of babesiosis in dogs, features of the use of Ukrainian therapeutics. *Agrarian Bulletin of the Black Sea Coast*, 97, 24–32. DOI: 10.37000/abbsl.2020.97.03.
- Little, S. E., Johnson, E. M., Lewis, D., Jaklitsch, R. P., Payton, M. E., Blagburn, B. L., Bowman, D. D., Moroff, S., Tams, T., Rich, L., & Aucoin, D. (2009). Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. *Veterinary Parasitology*, 166(1–2), 144–152. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.07.044.
- Moro, K. K., & Abah, A. E. (2019). Epizootiology of zoonotic parasites of dogs in Abua Area of Rivers State, Nigeria. *Veterinary and Animal Science*, 7, 100045. DOI: 10.1016/j.vas.2018.100045.
- Nijssse, R., Ploeger, H. W., Wagenaar, J. A., & Mughini-Gras, L. (2015). *Toxocara canis* in household dogs: Prevalence, risk factors, and owners' attitude towards deworming. *Parasitology Research*, 114(2), 561–569. DOI: 10.1007/s00436-014-4218-9.
- Oliveira-Sequeira, T. C., Amarante, A. F., Ferrari, T. B., & Nunes, L. C. (2002). Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 103(1–2), 19–27. DOI: 10.1016/s0304-4017(01)00575-1.
- Overgaauw, P. A., & Van Knapen, F. (2013). Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 398–403. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.12.035.
- Ramalingam, S., Shivaji, B., Sinniah, B., & Krishnan, U. (1983). Albendazole, an effective single dose, broad-spectrum anthelmintic drug. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 32(5), 984–989. DOI: 10.4269/ajtmh.1983.32.984.
- Traversa, D., Frangipane di Regalbano, A., Di Cesare, A., La Torre, F., Drake, J., & Pietrobelli, M. (2014). Environmental contamination by canine geohelminths. *Parasites & Vectors*, 7(1), 67. DOI: 10.1186/1756-3305-7-67.



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/nvlvet11514
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.86.5:615.26.763

Investigation of the specific toxicity of an analgesic agent for wild ungulates based on meloxicam

R. V. Hunchak¹, Y. P. Pano¹, V. O. Pepko², R. M. Sachuk^{3✉}, O. A. Katsaraba¹

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

²Vinnitsia National Agrarian University, Vinnitsia, Ukraine

³Rivne State University for the Humanities, Rivne, Ukraine

Article info

Received 10.06.2024

Received in revised form

15.07.2024

Accepted 16.07.2024

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

Vinnitsia National Agrarian
University, Sonyachna St, 3,
Vinnitsia, 21000, 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

Hunchak, R. V., Pano, Y. P., Pepko, V. O., Sachuk, R. M., & Katsaraba, O. A. (2024). Investigation of the specific toxicity of an analgesic agent for wild ungulates based on meloxicam. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 93–100. doi: 10.32718/nvlvet11514

Laboratory studies were conducted to determine the subacute toxicity of the veterinary drug Loksidev on white rats and dogs. The meloxicam-based Loxidev drug is used for diseases of the European doe animal treatment system for non-infectious diseases of the musculoskeletal system (acute aseptic myositis to reduce the symptoms of lameness and inflammation), as well as for diseases of the respiratory organs (in case of appropriate antibiotic therapy). Red deer: treatment of animals for non-infectious diseases of the musculoskeletal system (arthritis of the metatarsal joint to reduce symptoms of lameness and inflammation). When administered subcutaneously to rats, the drug Loxidev (for injections), under the conditions of a subacute toxicological experiment, in doses of 0.03; 0.15 and 0.3 ml/kg of body weight, does not cause hemo-, hepato- and nephrotoxic effects on the body of laboratory animals. The exception was the tendency to decrease the concentration of total hemoglobin and the hematocrit indicator, as well as a probable decrease ($P < 0.05$) in the number of erythrocytes and leukocytes by 6.5 and 7.2 %, respectively, relative to the control in the blood and an increase ($P < 0.05$) enzymatic activity of ALT and AST and concentration of urea in blood serum of rats, after three days of administration of the drug, at a dose of 0.30 mg/kg of body weight by 11.8; 11.0 and 10.3 %, respectively. However, after 7 days, after stopping the administration of the drug, these indicators probably did not differ from the control. Subcutaneous administration of the drug Loxidev (for injections) to dogs in doses of 0.03; 0.15 and 0.3 ml/kg of body weight for 3 days generally does not affect the clinical and biochemical parameters of the blood and does not cause hepatotoxic and nephrotoxic effects on the animal body, under the conditions of a subacute toxicological experiment. The exception was the tendency to decrease the concentration of total hemoglobin, the hematocrit index and the number of erythrocytes, as well as a probable decrease ($P < 0.05$) in the number of leukocytes by 6.6 %, respectively, relative to the control in the blood and an increase ($P < 0.05$) in enzymatic activity ALT and AST and the concentration of urea in the blood serum of dogs, after three days of administration of the drug at a dose of 0.30 mg/kg of body weight by 19.4; 19.3 and 14.5 %, respectively, but 7 days after stopping the administration of the drug, these indicators probably did not differ from the control. Further studies will be the next stage of pre-registration tests aimed at studying the irritant effect, allergenic properties of “Loksidev”, which is mandatory material of the “Safety and residue studies” section of the dossier for this veterinary drug.

Key words: Loxidev, rats, dogs, subacute toxicity, dose, lethality, toxicity.

Дослідження специфічної токсичності аналгетичного засобу для диких копитних тварин на основі мелоксикаму

Р. В. Гунчак¹, Ю. П. Паньо¹, В. О. Пепко², Р. М. Сачук^{3✉}, О. А. Кацараба¹

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Вінницький національний аграрний університет, м. Вінниця, Україна³Рівненський державний гуманітарний університет, м. Рівне, Україна

Проведено лабораторні дослідження з визначення підгострої токсичності ветеринарного препарату Локсидев на білих щурах і собаках. Препарат Локсидев на основі мелоксикаму застосовують при захворюваннях лані європейської лікування тварин за неінфекційних захворювань опорно-рухового апарату (гострі асептичні міозити для зменшення симптомів кульгавості та запалення), а також при захворюваннях органів дихання (в разі проведення відповідної антибіотикотерапії). Олені благородні: лікування тварин за неінфекційних захворювань опорно-рухового апарату (артрит заплесново-плеснового суглоба для зменшення симптомів кульгавості та запалення). При підшкірному введенні щурам препарат Локсидев (для ін'єкцій), за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,03; 0,15 і 0,3 мг/кг маси тіла, не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин. Виняток становили тенденції до зниження концентрації загального гемоглобіну і показника гематокриту, а також вірогідне зниження ($P < 0,05$) кількості еритроцитів і лейкоцитів на 6,5 і 7,2 % відповідно, відносно контролю в крові та підвищення ($P < 0,05$) ензиматичної активності АЛТ і АСТ та концентрації сечовини в сироватці крові щурів, після трьох діб введення препарату, у дозі 0,30 мг/кг маси тіла на 11,8; 11,0 і 10,3 % відповідно. Проте через 7 діб, після припинення введення препарату, дані показники вірогідно не відрізнялися від контролю. Підшкірне введення собакам препарату Локсидев (для ін'єкцій) у дозах 0,03; 0,15 і 0,3 мг/кг маси тіла протягом 3-х діб у цілому не впливає на клініко-біохімічні показники крові та не спричинює гепато- та нефротоксичної дії на організм тварин, за умов підгострого токсикологічного експерименту. Виняток становили тенденції до зниження концентрації загального гемоглобіну, показника гематокриту і кількості еритроцитів, а також вірогідне зниження ($P < 0,05$) кількості лейкоцитів на 6,6 % відповідно, відносно контролю в крові та підвищення ($P < 0,05$) ензиматичної активності АЛТ і АСТ та концентрації сечовини в сироватці крові собак, після трьох діб введення препарату у дозі 0,30 мг/кг маси тіла на 19,4; 19,3 і 14,5 % відповідно, проте через 7 діб після припинення введення препарату дані показники вірогідно не відрізнялися від контролю. Подальші дослідження будуть черговим етапом передреєстраційних випробувань, спрямованих на вивчення подразнювальної дії, алергенних властивостей “Локсидев”, що є обов'язковим матеріалом розділу “Дослідження щодо безпеки і залишків” досвіду на даний ветеринарний препарат.

Ключові слова: Локсидев, щури, собаки, підгостра токсичність, доза, летальність, токсичність.

Вступ

На сьогоднішній день в господарствах користувачів мисливських угідь спостерігається зростання чисельності та щільності заселення копитних тварин, розвивається мережа вольєрних господарств з їх утримання в неволі та напіввільних умовах. Опорно-руховий апарат копитних тварин, як відомо, має багато функцій, найважливішими із яких є забезпечення опори, захисту та рухів їх тіла. Проте ця система, як і інші частини організму, піддається різним захворюванням. “Мелоксикам” – це нестероїдний протизапальний препарат з вираженими анальгетичними властивостями. На сьогодні цей засіб набув широкого використання у ветеринарії з лікувальною та знеболювальною метою, як для дрібних, продуктивних, так і мисливських тварин (Рерко et al., 2017; Kozii et al., 2021; Sachuk et al., 2024).

За фармакотерапевтичною групою Мелоксикам належить до нестероїдних протизапальних та протиревматичних засобів. Механізм дії базується на зниженні біосинтезу простагландинів, які є медіаторами запалення, внаслідок пригнічення ферментативної активності ЦОГ-2. Мелоксикам також виявляє антиендотоксичну дію, що зумовлена пригніченням утворення тромбосану В₂, спричиненого присутністю ендотоксину *E. coli* в організмі жуйних тварин та свиней. При попаданні в організм, діюча речовина абсорбується у шлунково-кишковому тракті, а її біодоступність досягає 90 %, що забезпечує ефективність лікування препаратом (Chu et al., 2008; Marti et al., 2018; Meléndez et al., 2019).

Незважаючи на те, що в спеціальній науково-методичній літературі висвітлено достатню кількість результатів досліджень для зняття запалення і зменшення болю в разі гострих і хронічних захворювань опорно-рухового апарату дрібних і про-

дуктивних тварин, спеціалісти ТОВ “ДЕВІЕ” розробили новий препарат (розчин для ін'єкцій), на основі мелоксикаму, для лані європейської, оленів благородних, спортивних коней та диких свиней.

Препарат “Локсидев” на основі мелоксикаму застосовують при захворюваннях лані європейської, лікування тварин, за неінфекційних захворювань опорно-рухового апарату (гострі асептичні міозити для зменшення симптомів кульгавості та запалення), а також при захворюваннях органів дихання (в разі проведення відповідної антибіотикотерапії).

Олені благородні: лікування тварин за неінфекційних захворювань опорно-рухового апарату (артрит заплесново-плеснового суглоба для зменшення симптомів кульгавості та запалення).

Коні (спортивні): для зменшення запалення та болю при гострих та хронічних формах запальних процесів опорно-рухового апарату та при коліках (як протизапальний та безпечний засіб).

Дикі свині: лікування тварин при неінфекційних захворюваннях опорно-рухового апарату (для зменшення симптомів кульгавості та запалення).

Обов'язковою умовою реєстрації нових ветеринарних лікарських засобів в Україні є позитивний результат токсикологічних випробувань, саме вони доводять його ефективність та безпеку (Kotsiumbas et al., 2006; Sachuk et al., 2023; Koreneva et al., 2023; Kushnir et al., 2023; Lavryshyn et al., 2023; Zazharskyi et al., 2024).

Отже, метою досліджень було надати токсикологічну (доклінічну) оцінку ветеринарного лікарського засобу “Локсидев” шляхом визначення його підгострої токсичності на лабораторних тваринах.

Мета дослідження

Мета роботи – проведення токсикологічної оцінки ветеринарного препарату “Целексиб”, виробництва

ТОВ “ДЕВІЕ” (сmt. Літин, Україна), за умов підгострого токсикологічного експерименту на моделі білих щурів і собак.

Матеріал і методи досліджень

Доклінічне вивчення нестероїдного ветеринарного препарату на основі цецекоксибу, з протизапальним та аналгетичним ефектом для тварин, проведене на базі лабораторії з контролю якості, безпечності та реєстрації ветеринарних лікарських засобів і кормових добавок ТОВ “ДЕВІЕ”. Препарат застосовують спортивним коням, собакам, ланям європейським, оленям благородним, диким свиням і котам для лікування гострих та хронічних захворювань опорно-рухового апарату (артрити, міозити, ламініти, тощо), больового синдрому (постопераційного та посттравматичного), симптоматичної терапії при захворюваннях, які супроводжуються гарячкою тварин. Фармакологічні дослідження проведені в об’ємі, що визначається за стандартною методикою випробувань (Kotsiumbas et al., 2006).

Дослідження проведено у віварії ТОВ “ДЕВІЕ”. Приміщення загальною площею 50 м², де під контролем спеціалістів ТОВ “ДЕВІЕ” здійснюється утримання відносно невеликої кількості тварин з науковою метою. Раціон харчування включає всі необхідні інгредієнти. Лабораторні тварини містилися в звичайних клітках (8 кліток) з площею підлоги 40×60 см, тобто з достатньою площею для вільного пересування та двох клітках розміром 20×40 см, де площа для пересування була зменшена в 3 рази.

Підгостру токсичність препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) досліджували на 96 лабораторних статевозрілих щурах-самцях, масою 240,0–250,0 г.

Препарат “Локсидев” (для ін’єкцій) вводили підшкірно протягом 3 діб, потім введення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідні групи по 24 щура у кожній (n = 24): контрольній групі тварин підшкірно вводили ПЕГ-400, І дослідна група — тварини, яким підшкірно вводили дослідний препарат (за діючою речовиною) у дозі 0,6 мг/кг (0,03 мл/кг маси тіла, (максимальна терапевтична, згідно листівки вкладки), ІІ група — 3,0 мг/кг (0,15 мл/кг маси тіла, п’ятикратна) та ІІІ група — 6,0 мг/кг (0,3 мл/кг маси тіла, десятикратна) відповідно.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили за умов тотального знекровлення під легким хлороформним наркозом до введення препарату, на першу, 4-ту і 11-ту добу експерименту відповідно.

Оцінювання функціонального стану організму дослідних тварин, у порівнянні з контрольними впродовж експерименту, проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загальноприйнятими методиками.

У стабілізованій крові тварин визначали: кількість еритроцитів, лейкоцитів, рівень гематокриту та вміст загального гемоглобіну; у сироватці крові — активність індикаторних ензимів аланінамінотрансферази

(АЛТ) і аспартатамінотрансферази (АСТ), рівень загальних протеїнів, альбумінів, а також вміст кінцевих продуктів протеїнового розкладу — сечовини та креатиніну відповідно.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм StatPlus 7.6.5.0., вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Тьюкі (HSD).

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у щурів вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму), а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загальноприйнятих методів.

Визначення токсичності препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) при повторних введеннях на собаках (підгостра токсичність при підшкірному введенні) досліджували на 20 безпородних собаках масою 6,2–7,8 кг. Препарат вводили підшкірно один раз на добу протягом 3 діб, потім нанесення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для досліду було сформовано одну контрольну та три дослідні групи по 5 собак у кожній (n=5): контрольній групі тварин підшкірно вводили ПЕГ-400, І дослідна група — тварини, яким підшкірно вводили дослідний препарат (за діючою речовиною) у дозі 0,6 мг/кг (0,03 мл/кг маси тіла, (максимальна терапевтична, згідно листівки вкладки), ІІ група — 3,0 мг/кг (0,15 мл/кг маси тіла, п’ятикратна) та ІІІ група — 6,0 мг/кг (0,3 мл/кг маси тіла, десятикратна) відповідно.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили натщесерце, з підшкірної вени передпліччя до введення препарату, на першу, 4-ту і 11-ту добу експерименту відповідно.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у собак вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму), а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загальноприйнятих методів.

Маніпуляції над лабораторними тваринами здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів (European convention..., 1986; Council Directive 86/609/EEC, 1986; Statia 26 Zakonu Ukrainy № 5456-VI, 2012), що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Strasbourg, 1986).

Результати та їх обговорення

Установлено, що під час дослідження загального клінічного стану щурів дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено, порівняно з контролем.

Протягом всього терміну спостереження (10 діб), тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові та світлові подразники, у

них зберігалась рефлекторна збудливість; порушення дихання, сечовиділення та дефекації не відмічали.

Результати дослідження рівня гематологічних показників у крові щурів у динаміці нанесення на шкіру препарату “Локсидев” (для ін’єкцій), наведено в [таблиці 1](#).

З результатів, наведених у [таблиці 1](#), виявляється, що під час визначення гематологічних показників крові дослідних щурів, патологічних змін, які свідчать про гемотоксичний вплив препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій), у тварин не зареєстровано. Так, уміст загального гемоглобіну, рівень гематокриту та кількість еритроцитів і лейкоцитів у крові щурів до та після підшкірного введення препарату, за значенням статистично не змінювались.

Виняток становили тенденції до зниження концентрації загального гемоглобіну і показника гематокриту, а також вірогідне зниження кількості еритроцитів і лейкоцитів на 6,5 і 7,2 % відповідно відносно контролю, у разі введення препарату в дозі 0,30 мл/кг маси тіла протягом 3-ох діб. Також слід зазначити, що тенденцію до зниження кількості лейкоцитів спостерігали також і в крові щурів I та II дослідних груп на 4 добу експерименту. Але ці зміни зникали вже через 7 діб після припинення введення препарату, а значення показників відновлювалися до контрольного рівня.

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові щурів, у динаміці підшкірного введення препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) наведено в [таблиці 2](#).

Таблиця 1

Рівень гематологічних показників крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату Локсидев (розчин для ін’єкцій) ($M \pm m$; $n = 6$)

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	Перша доба	4-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм ³				
Контроль	87,65 $\pm$ 2,53	87,69 $\pm$ 2,59	86,84 $\pm$ 1,38	86,73 $\pm$ 2,42
0,03 мл/кг	87,87 $\pm$ 1,26	87,93 $\pm$ 1,63	86,46 $\pm$ 2,21	86,54 $\pm$ 2,16
0,15 мл/кг	86,05 $\pm$ 2,69	86,31 $\pm$ 2,32	85,72 $\pm$ 2,64	86,22 $\pm$ 1,81
0,30 мл/кг	87,11 $\pm$ 2,21	86,83 $\pm$ 1,47	84,14 $\pm$ 2,48	86,04 $\pm$ 2,25
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	34,33 $\pm$ 0,73	34,29 $\pm$ 0,75	34,47 $\pm$ 0,89	34,80 $\pm$ 0,36
0,03 мл/кг	34,39 $\pm$ 0,80	34,56 $\pm$ 0,79	34,21 $\pm$ 0,75	35,05 $\pm$ 0,38
0,15 мл/кг	34,58 $\pm$ 0,78	34,26 $\pm$ 0,84	34,10 $\pm$ 0,83	35,28 $\pm$ 0,72
0,30 мл/кг	34,46 $\pm$ 0,84	34,09 $\pm$ 0,81	33,59 $\pm$ 0,77	35,22 $\pm$ 0,10
Еритроцити (RBC), 10 ¹² /дм ³				
Контроль	7,52 $\pm$ 0,12	7,50 $\pm$ 0,10	7,59 $\pm$ 0,15	7,68 $\pm$ 0,12
0,03 мл/кг	7,58 $\pm$ 0,13	7,58 $\pm$ 0,18	7,54 $\pm$ 0,12	7,65 $\pm$ 0,15
0,15 мл/кг	7,61 $\pm$ 0,12	7,53 $\pm$ 0,11	7,47 $\pm$ 0,15	7,60 $\pm$ 0,18
0,30 мл/кг	7,49 $\pm$ 0,16	7,34 $\pm$ 0,12	7,10 $\pm$ 0,10*	7,59 $\pm$ 0,13
Лейкоцити (WBC), 10 ⁹ /дм ³				
Контроль	8,31 $\pm$ 0,10	8,33 $\pm$ 0,14	8,29 $\pm$ 0,11	8,28 $\pm$ 0,16
0,03 мл/кг	8,28 $\pm$ 0,15	8,24 $\pm$ 0,18	8,22 $\pm$ 0,16	8,26 $\pm$ 0,10
0,15 мл/кг	8,27 $\pm$ 0,18	8,20 $\pm$ 0,12	8,07 $\pm$ 0,13	8,29 $\pm$ 0,17
0,30 мл/кг	8,23 $\pm$ 0,10	8,13 $\pm$ 0,15	7,69 $\pm$ 0,12*	8,23 $\pm$ 0,14

Примітка: * – $P < 0,05$ – відносно контролю

Таблиця 2

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) ($M \pm m$; $n = 6$)

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	Перша доба	4-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Активність АЛТ, мкмоль/год $\times$ см ³				
Контроль	3,17 $\pm$ 0,07	3,19 $\pm$ 0,08	3,23 $\pm$ 0,08	3,21 $\pm$ 0,06
0,03 мл/кг	3,20 $\pm$ 0,09	3,23 $\pm$ 0,07	3,26 $\pm$ 0,08	3,24 $\pm$ 0,08
0,15 мл/кг	3,18 $\pm$ 0,10	3,24 $\pm$ 0,07	3,29 $\pm$ 0,07	3,25 $\pm$ 0,10
0,30 мл/кг	3,22 $\pm$ 0,07	3,26 $\pm$ 0,08	3,61 $\pm$ 0,09*	3,30 $\pm$ 0,07
Активність АСТ, мкмоль/год $\times$ см ³				
Контроль	4,26 $\pm$ 0,11	4,29 $\pm$ 0,08	4,27 $\pm$ 0,10	4,31 $\pm$ 0,11
0,03 мл/кг	4,31 $\pm$ 0,10	4,36 $\pm$ 0,12	4,38 $\pm$ 0,14	4,33 $\pm$ 0,10
0,15 мл/кг	4,28 $\pm$ 0,14	4,38 $\pm$ 0,14	4,41 $\pm$ 0,14	4,36 $\pm$ 0,08
0,30 мл/кг	4,30 $\pm$ 0,12	2,40 $\pm$ 0,11	4,74 $\pm$ 0,13*	4,40 $\pm$ 0,10
Загальні протеїни, г/дм ³				
Контроль	67,94 $\pm$ 1,64	68,10 $\pm$ 1,08	68,33 $\pm$ 1,38	68,82 $\pm$ 1,14
0,03 мл/кг	68,52 $\pm$ 1,48	68,71 $\pm$ 1,41	68,40 $\pm$ 1,42	68,76 $\pm$ 1,77
0,15 мл/кг	68,67 $\pm$ 1,05	68,44 $\pm$ 1,70	68,15 $\pm$ 1,45	68,70 $\pm$ 1,59
0,30 мл/кг	67,85 $\pm$ 1,44	67,96 $\pm$ 1,47	67,49 $\pm$ 1,33	67,89 $\pm$ 1,42

	Альбуміни, г/дм ³			
	Контроль	0,03 мл/кг	0,15 мл/кг	0,30 мл/кг
Контроль	33,71 ± 0,72	33,80 ± 0,82	33,82 ± 0,73	34,05 ± 0,78
0,03 мл/кг	33,90 ± 0,87	34,12 ± 0,78	34,47 ± 0,75	34,25 ± 0,84
0,15 мл/кг	33,98 ± 0,80	34,03 ± 0,73	34,21 ± 0,82	34,23 ± 0,72
0,30 мл/кг	34,40 ± 0,73	33,90 ± 0,86	34,05 ± 0,80	34,12 ± 0,83
	Креатинін, мкмоль/дм ³			
	Контроль	0,03 мл/кг	0,15 мл/кг	0,30 мл/кг
Контроль	97,36 ± 1,50	97,93 ± 1,12	98,16 ± 2,37	98,00 ± 2,49
0,03 мл/кг	97,13 ± 2,38	98,07 ± 2,75	98,31 ± 1,23	97,78 ± 1,36
0,15 мл/кг	98,12 ± 2,19	98,32 ± 2,57	98,69 ± 2,78	98,23 ± 2,13
0,30 мл/кг	97,72 ± 2,23	98,40 ± 1,19	98,84 ± 2,27	98,37 ± 1,41
	Сечовина, ммоль/дм ³			
	Контроль	0,03 мл/кг	0,15 мл/кг	0,30 мл/кг
Контроль	6,16 ± 0,15	6,18 ± 0,17	6,23 ± 0,13	6,14 ± 0,16
0,03 мл/кг	6,22 ± 0,14	6,23 ± 0,14	6,26 ± 0,17	6,17 ± 0,17
0,15 мл/кг	6,18 ± 0,11	6,26 ± 0,16	6,30 ± 0,12	6,18 ± 0,10
0,30 мл/кг	6,24 ± 0,15	6,30 ± 0,10	6,87 ± 0,13*	6,33 ± 0,14

Примітка: * – P < 0,05 – відносно контролю

З даних [таблиці 2](#) видно, що значення біохімічних показників крові щурів, як контрольної, так і дослідних груп, в динаміці підшкірного введення та через 10 діб, після припинення введення препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) у дозах 0,03; 0,15 і 0,30 мл/кг маси тіла, знаходились у межах фізіологічної норми та вірогідно не відрізнялися між собою. Виняток складало вірогідне (P < 0,05) підвищення ензиматичної активності АЛТ і АСТ та концентрації сечовини в сироватці крові щурів, після трьох діб введення препарату у дозі 0,30 мг/кг маси тіла на 11,8; 11,0 і 10,3 % відповідно. Слід зазначити, що через 7 діб, після припинення введення препарату, дані показники вірогідно не відрізнялися від контролю.

Отже, можна зробити висновок, що підшкірне введення препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) в дозах (0,03–0,3) мл/кг маси тіла, не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лаборатор-

них тварин, за умов підгострого токсикологічного експерименту.

Під час дослідження загального клінічного стану собак дослідних груп, суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено, порівняно з контролем. Встановлено, що за введення препарату в терапевтичній дозі (0,03 мг/кг), не реєстрували змін інтегральних показників, а у дозах 0,15 мг/кг та 0,30 мг/кг маси тіла – змін рухової активності тварин. Протягом всього терміну спостереження (11 діб), тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість, порушення дихання, сечовиділення та дефекації не відмічали.

Результати дослідження гематологічних показників крові собак у динаміці експерименту наведено в [таблиці 3](#).

Таблиця 3

Рівень гематологічних показників у периферичній крові собак, за підгострого підшкірного введення препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) (M ± m; n = 5)

Дослідні групи	Терміни дослідження, діб			
	до введення	Перша доба	4-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм ³				
Контроль	125,61 ± 2,40	125,73 ± 3,21	124,32 ± 2,74	123,38 ± 3,29
0,03 мл/кг	123,76 ± 3,26	123,82 ± 2,61	124,41 ± 3,36	125,74 ± 2,31
0,15 мл/кг	124,36 ± 2,38	124,24 ± 2,78	122,52 ± 2,71	124,26 ± 2,52
0,30 мл/кг	123,34 ± 2,81	123,28 ± 3,24	121,85 ± 3,37	122,96 ± 2,28
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	48,21 ± 0,77	48,36 ± 0,73	48,41 ± 0,72	48,24 ± 0,81
0,03 мл/кг	49,13 ± 0,84	48,94 ± 0,82	48,72 ± 0,75	48,51 ± 0,85
0,15 мл/кг	48,32 ± 0,68	48,21 ± 0,85	48,14 ± 0,68	48,12 ± 0,73
0,30 мл/кг	48,68 ± 0,75	48,39 ± 0,76	47,92 ± 0,87	48,06 ± 0,62
Еритроцити (RBC), 10 ¹² /дм ³				
Контроль	7,23 ± 0,14	7,19 ± 0,15	7,21 ± 0,18	7,12 ± 0,18
0,03 мл/кг	7,14 ± 0,16	7,18 ± 0,13	7,16 ± 0,13	7,14 ± 0,14
0,15 мл/кг	7,19 ± 0,15	7,10 ± 0,18	7,12 ± 0,16	7,08 ± 0,15
0,30 мл/кг	7,22 ± 0,17	7,08 ± 0,12	7,06 ± 0,12	7,03 ± 0,11
Лейкоцити (WBC), 10 ⁹ /дм ³				
Контроль	10,51 ± 0,16	10,54 ± 0,12	10,45 ± 0,12	10,75 ± 0,15
0,03 мл/кг	10,56 ± 0,19	10,50 ± 0,15	10,31 ± 0,14	10,74 ± 0,12
0,15 мл/кг	10,45 ± 0,17	10,47 ± 0,12	10,28 ± 0,18	10,66 ± 0,14
0,30 мл/кг	10,46 ± 0,13	10,40 ± 0,15	9,76 ± 0,13*	10,58 ± 0,17

Встановлено, що рівень гематологічних показників у собак до та після підшкірного введення препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій), за значенням статистично не змінювались. Виняток становили тенденції до зниження концентрації загального гемоглобіну, показника гематокриту та кількості еритроцитів, а також вірогідне зниження кількості лейкоцитів на 6,6 % відповідно, відносно контролю, у разі введення препарату в дозі 0,30 мл/кг маси тіла протягом 3-ох діб. Також слід зазначити, що тенденцію до зниження кількості лейкоцитів спостерігали також і в крові

собак I та II дослідних груп на 4 добу експерименту. Але ці зміни зникали вже через 7 діб, після припинення введення препарату, а значення показників відновлювались до контрольного рівня.

Тобто, патологічних змін рівня гематологічних показників, що свідчать про гемотоксичний вплив препарату, у крові собак дослідних груп не виявлено.

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові собак у динаміці підшкірного введення препарату, наведено в таблиці 4.

Таблиця 4

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові собак, за підгострого підшкірного введення препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) ($M \pm m$; $n = 5$)

Дослідні групи	Терміни дослідження, діб			
	до введення	Перша доба	4-та доба	Через 7 діб після припинення введення
Активність АЛТ, мкмоль/год×см ³				
Контроль	0,96 ± 0,05	0,94 ± 0,07	0,98 ± 0,05	0,93 ± 0,04
0,03 мл/кг	0,93 ± 0,06	0,97 ± 0,06	1,04 ± 0,06	0,96 ± 0,06
0,15 мл/кг	0,92 ± 0,06	0,99 ± 0,07	1,08 ± 0,05	0,98 ± 0,04
0,30 мл/кг	0,95 ± 0,07	1,02 ± 0,05	1,17 ± 0,06*	1,00 ± 0,05
Активність АСТ, мкмоль/год×см ³				
Контроль	1,41 ± 0,11	1,43 ± 0,07	1,40 ± 0,06	1,37 ± 0,11
0,03 мл/кг	1,39 ± 0,10	1,40 ± 0,11	1,43 ± 0,10	1,40 ± 0,12
0,15 мл/кг	1,42 ± 0,09	1,45 ± 0,10	1,49 ± 0,10	1,43 ± 0,10
0,30 мл/кг	1,42 ± 0,10	1,48 ± 0,09	1,67 ± 0,09*	1,48 ± 0,10
Загальні протеїни, г/дм ³				
Контроль	72,11 ± 1,72	72,08 ± 1,64	72,26 ± 1,42	72,43 ± 1,62
0,03 мл/кг	71,89 ± 1,17	71,93 ± 1,18	72,38 ± 1,38	72,56 ± 1,74
0,15 мл/кг	72,06 ± 1,46	71,85 ± 1,42	71,94 ± 1,53	72,32 ± 1,59
0,30 мл/кг	71,98 ± 1,29	71,80 ± 1,75	71,77 ± 1,61	71,89 ± 1,31
Альбуміни, г/дм ³				
Контроль	30,62 ± 0,85	30,60 ± 0,71	30,73 ± 0,74	30,67 ± 0,88
0,03 мл/кг	30,69 ± 0,82	30,51 ± 0,85	30,36 ± 0,83	30,62 ± 0,74
0,15 мл/кг	31,13 ± 0,73	30,92 ± 0,74	30,62 ± 0,78	30,49 ± 0,71
0,30 мл/кг	30,46 ± 0,78	30,34 ± 0,82	30,12 ± 0,86	30,35 ± 0,85
Креатинін, мкмоль/дм ³				
Контроль	61,84 ± 1,63	61,96 ± 1,14	62,12 ± 1,44	62,10 ± 1,39
0,03 мл/кг	62,12 ± 1,35	62,23 ± 1,29	61,94 ± 1,51	62,34 ± 1,43
0,15 мл/кг	61,73 ± 1,41	61,81 ± 1,37	61,73 ± 1,59	62,16 ± 0,92
0,30 мл/кг	62,04 ± 1,39	62,34 ± 0,92	61,58 ± 1,66	61,83 ± 1,84
Сечовина, ммоль/дм ³				
Контроль	7,28 ± 0,10	7,29 ± 0,16	7,40 ± 0,12	7,31 ± 0,18
0,03 мл/кг	7,33 ± 0,17	7,31 ± 0,11	7,43 ± 0,13	7,24 ± 0,19
0,15 мл/кг	7,24 ± 0,14	7,36 ± 0,10	7,46 ± 0,15	7,36 ± 0,12
0,30 мл/кг	7,31 ± 0,15	7,48 ± 0,18	8,47 ± 0,10*	7,42 ± 0,10

Встановлено, що підшкірне введення собакам препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій), у дозах 0,03; 0,15 і 0,30 мг/кг маси тіла протягом 3-х діб, у цілому не впливає на клініко-біохімічні показники крові та не спричинює гепато- та нефротоксичної дії на організм тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту. Виняток складало вірогідне ($P < 0,05$) підвищення ензиматичної активності АЛТ і АСТ та концентрації сечовини в сироватці крові собак, після трьох діб введення препарату, у дозі 0,30 мг/кг маси тіла на 19,4; 19,3 і 14,5 % відповідно. Слід зазначити, що через 7 діб, після припинення введення препарату дані показники вірогідно не відрізнялися від контролю.

Висновки

1. При підшкірному введенні шурам препарат “Локсидев” (розчин для ін’єкцій), за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,03; 0,15 і 0,3 мл/кг маси тіла, не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин. Виняток становили тенденції до зниження концентрації загального гемоглобіну і показника гематокриту, а також вірогідне зниження ($P < 0,05$) кількості еритроцитів і лейкоцитів на 6,5 і 7,2 % відповідно, відносно контролю в крові та підвищення ($P < 0,05$) ензиматичної активності АЛТ і АСТ та концентрації сечовини в сироватці крові шурів після трьох діб введення препарату, у дозі 0,30 мг/кг маси

тіла на 11,8; 11,0 і 10,3 % відповідно. Проте через 7 діб, після припинення введення препарату, дані показники вірогідно не відрізнялися від контролю.

2. Підшкірне введення собакам препарату “Локсидев” (розчин для ін’єкцій) у дозах 0,03; 0,15 і 0,3 мл/кг маси тіла, протягом 3-х діб, у цілому не впливає на клініко-біохімічні показники крові та не спричинює гепато- та нефротоксичної дії на організм тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту. Виняток становили тенденції до зниження концентрації загального гемоглобіну, показника гематокриту і кількості еритроцитів, а також вірогідне зниження ($P < 0,05$) кількості лейкоцитів на 6,6 % відповідно відносно контролю в крові та підвищення ($P < 0,05$) ензиматичної активності АЛТ і АСТ та концентрації сечовини в сироватці крові собак після трьох діб введення препарату, у дозі 0,30 мг/кг маси тіла на 19,4; 19,3 і 14,5 % відповідно. Проте через 7 діб, після припинення введення препарату, дані показники вірогідно не відрізнялися від контролю.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть черговим етапом передреєстраційних випробувань, спрямованих на вивчення ембріотоксичної дії “Локсидев”, що є обов’язковим матеріалом розділу “Дослідження щодо безпеки і залишків” досьє на даний лікарський засіб.

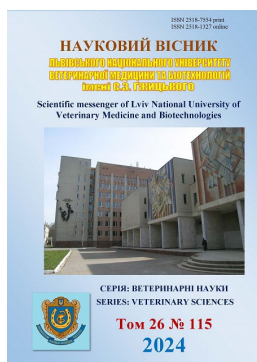
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Chu, S. C., Yang, S. F., Lue, K. H., Hsieh, Y. S., Li, T. J., & Lu, K. H. (2008). Naproxen, meloxicam and methylprednisolone inhibit urokinase plasminogen activator and inhibitor and gelatinases expression during the early stage of osteoarthritis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 387(1-2), 90–96. DOI: 10.1016/j.cca.2007.09.012.
- Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Communities* L 358. 1986. P. 1-29.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.
- Koreneva, Y. M., Orobchenko, O. L., Romanko, M. Y., Malova, N. G., Sachuk, R. M., Gutyj, B. V., & Radzykhovskiy, M. L. (2023). Influence of high-bromine poultry products on clinical-biochemical blood parameters of white rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(1), 125–130. DOI: 10.15421/022319.
- Kotsiumbas, I. Ia., Malyk, O. H., Patereha, I. P. та in. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv* [Preclinical studies of veterinary medicinal products]. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Kozii, N. V., Avramenko, N. V., Shahanenko, R. V., & Shahanenko, V. S. (2021). *Vykorystannia meloksykamu v kombinatsii z mistsevyymi anestetikamy dlia zmenshennia bolovoї reaktsii u teliat*. [Use of meloxicam in combination with local anesthetics to reduce the pain response in calves]. *Materialy Mizhnar. nauk.-prakt. konf. “Ahrarna osvita ta nauka: dosiahnennia, rol, faktory rostu. Suchasnyi rozvytok veterynarnoi medytsyny”* (BNAU, 21 zhovtnia 2021 r.). Bila Tserkva, 21–22 (in Ukrainian).
- Kushnir, V., Kushnir, I., Gutyj, B., Kutsan, O., Nychyk, S., Simonov, M., & Guta, Z. (2023). Comparative assessment of different methods of studying skin toxicity of powder for wounds. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(109), 13–18. DOI: 10.32718/nlvet10903.
- Lavryshyn, Y., Gutyj, B., Verveha, B., Kutsan, O., Hunchak, V., Khariv, I., Kushnir, V., Vasiv, R., Leskiv, K., & Guta, Z. (2023). Definition of Acute Toxicity and Cumulative Properties of the Drug “Lipointersil”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(112), 83–89. DOI: 10.32718/nlvet11214.
- Marti, S., Meléndez, D. M., Pajor, E. A., Moya, D., Gellatly, D., Janzen, E. D., & Schwartzkopf-Genswein, K. S. (2018). Effect of a single dose of subcutaneous meloxicam prior to band or knife castration in 1-wk-old beef calves: II. Inflammatory response and healing. *Journal of animal science*, 96(10), 4136–4148. DOI: 10.1093/jas/sky291.
- Meléndez, D. M., Marti, S., Pajor, E. A., Sidhu, P. K., Gellatly, D., Janzen, E. D., Schwinghamer, T. D., Coetzee, J. F., & Schwartzkopf-Genswein, K. S. (2019). Pharmacokinetics of oral and subcutaneous meloxicam: Effect on indicators of pain and inflammation after knife castration in weaned beef calves. *PloS one*, 14(5), e0217518. DOI: 10.1371/journal.pone.0217518.
- Pepko, V. O., Zhyhaliuk, S. V., Sachuk, R. M., & Hulyk, I. T. (2017). *Helmintofauna dykykh kopytnykh tvaryn: ekolohiia, vydovyi sklad, poshyrennia* [Helminth fauna of wild ungulates: ecology, species composition, distribution]. *Biuletyn “Veterynarna biotekhnolohiia”*, 30, 183–195. URL: <http://repository.rshu.edu.ua/id/eprint/1449> (in Ukrainian).
- Sachuk, R. M., Gutyj, B. V., Radzyhovskiy, M. L., Vele-syk, T. A., Lyko, S. M., Katsaraba, O. A., Pepko, V. O., & Yakuta, O. O. (2023). Research on the embryo-toxic effect and carcinogenicity of the drug “BTF plus” – a means for normalizing metabolic processes in animals and poul-try. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 6(3), 17–23. DOI: 10.32718/ujvas6-3.04.
- Sachuk, R. M., Gutyj, B. V., Velesyk, T. A., Katsaraba, O. A., Pepko, V. O., Barylo, B. S., Orikhivskiy, T. V., Zhyhalyuk, S. V., Sachuk, R. M., Bodnar, P. V., & Bodnaruk, V. Y. (2024). The current state of development and veterinary support of pheasant farming in Ukraine. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 7(1), 9–14. DOI: 10.32718/ujvas7-1.02.
- Sachuk, R., Gutyj, B., Stravskyy, Y., Katsaraba, O., Dyshkant, O., & Kalynovska, L. (2023). Research on the specific toxicity of the drug “BTF plus” – a means for

- nor-malizing metabolic processes in animals and poultry. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences, 25(111), 33–42. DOI: 10.32718/nvlvet11106.
- Sachuk, R., Gutyj, B., Velesyk, T., Lyko, S., Katsaraba, O., Pepko, V., Portukhai, O., & Yakuta, O. (2023). Experimental evaluation of the acute toxicity and irritant effect of “BTF plus” – a veterinary medicinal product for the normalization of metabolic processes in animals and poultry. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences, 25(99), 14–21. DOI: 10.32718/nvlvet-a9903.
- Stattia 26 Zakonu Ukrainy № 5456-VI vid 16.10.2012 r. “Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia” (in Ukrainian).
- Zazharskyi, V. V., Bigdan, O. A., Parchenko, V. V., Karpenko, Y. V., Zazharska, N. M., Mykhailiuk, Y. O., Kulishenko, O. M., Davydenko, P. O., Kulish, S. M., & Gutyj, B. V. (2024). Toxicity parameters of a new 1,2,4-triazole derivative when subcutaneously injected to guinea pigs. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 15(1), 166–170. DOI: 10.15421/022424.



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/nvlvet11515
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.3.09:616.391:619

Hypocalcaemia in pregnant and lactating goats (distribution, etiology, diagnostic methods)

M. M. Hotsuliak✉, V. V. Sakhniuk

Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

Article info

Received 14.06.2024
Received in revised form
16.07.2024
Accepted 17.07.2024

Bila Tserkva National Agrarian
University, pl. Soborna, 8/1,
Bila Tserkva, 09117, Ukraine.
Tel.: +38-068-603-21-89
E-mail: mhotsuliak@btsau.edu.ua

Hotsuliak, M. M., & Sakhniuk, V. V. (2024). Hypocalcaemia in pregnant and lactating goats (distribution, etiology, diagnostic methods). Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 101–111. doi: 10.32718/nvlvet11515

The article presents the results of studies on the prevalence, etiology, and methods of diagnosing hypocalcemia in pregnant and lactating goats of Zaanen, Alpine, Nubian, and Lamanche dairy breeds of 1–4 years of age, with a productivity of 750–1050 kg per lactation. Subclinical hypocalcemia was diagnosed in 45.3 % of goats, including 44.0 % of lactating goats (75–90 and 120–140 days of gestation) and 46.3 % of lactating animals (0–2; 15–25 and 50–60 days after lambing). Clinically expressed hypocalcaemia was diagnosed in 5.2 % of goats in the first 24–48 hours after lambing. The following clinical signs characterized the subclinical course of hypocalcemia: a) slight depression of the general condition; b) decreased body weight (BCS 1.5–2.0); c) decreased appetite; d) incisor shakiness; e) hypotension of the foregut; f) unsteady gait; g) muscle tremors; h) lactation and isolated cases of mastitis and metritis in lactating goats in the first days after lambing. It has been established that the leading causes of hypocalcemia in goats are, first of all, violations of the feeding regime and diet structure during pregnancy and lactation. The role of the nutritional factor lies in the unbalanced and insufficient feeding of animals, in particular, the deficiency of macro- (Ca, P and their ratio, Mg), microelements (Zn, Cu, I), a pronounced deficiency of vitamins A and D, as well as the lack of motivation and insufficient natural insolation of animals. In addition, goats' diets often noted a lack of metabolic energy, dry matter, crude fat, and a deficiency of readily fermentable sugar and starch carbohydrates. In the studied goats with liver pathology and functional renal failure (hepatorenal syndrome), the development of secondary hypocalcaemia was diagnosed.

Key words: goats, diagnostics, vitamin D, total calcium, ionised calcium, hypocalcaemia, alkaline phosphatase, ALP isozymes, echosteometry.

Гіпокальціємія кітних і лактуючих кіз (поширення, етіологія, методи діагностики)

M. M. Гоцуляк✉, В. В. Сахнюк

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна

У статті наведено результати досліджень щодо поширення, етіології і методів діагностики гіпокальціємії у кітних і лактуючих кіз зааненської, альпійської, нубійської та ламанчі молочних порід 1–4-річного віку, продуктивністю 750–1050 кг за лактацію. Субклінічний перебіг гіпокальціємії діагностували у 45,3 % кіз, у т. ч. в 44,0 % – серед поголів'я кітних кіз (75–90 і 120–140 днів кітності) та у 46,3 % лактуючих тварин (0–2; 15–25 і 50–60 днів після окоту). Клінічно виражений перебіг гіпокальціємії діагностували у 5,2 % кіз у перші 24–48 год після окоту. Субклінічний перебіг гіпокальціємії характеризувався такими клінічними ознаками: а) незначне пригнічення загального стану; б) зниження маси тіла (BCS 1,5–2,0); в) зниження апетиту; г) хиткість різців; ґ) гіпотонія передшлунків; д) хитка хода; е) тремор м'язів; є) залежування та поодинокі випадки маститу і метриту у лактуючих у перші дні після окоту. Встановлено, що основними причинами розвитку гіпокальціємії у кіз є насамперед порушення режиму годівлі та структури раціону в період кітності та під час лактації. Роль аліментарного фактора полягає у незбалансованій та недостатній годівлі тварин, зокрема дефіциті у раціоні макро- (Ca, P та їх співвідношення, Mg), мікроелементів (Zn, Cu, I), вираже-

ному дефіциті вітамінів A і D, а також відсутність моціону та недостатня природна інсоляція тварин. Також у раціонах кіз часто виявляли нестачу обмінної енергії, сухої речовини, сирого жиру, дефіцит легкоферментованих вуглеводів цукру і крохмалю. У досліджених кіз із патологією печінки і функціональною недостатністю нирок (гепаторенальний синдром) діагностували розвиток вторинної гіпокальціємії.

Ключові слова: кози, діагностика, вітамін D, кальцій загальний, кальцій іонізований, гіпокальціємія, лужна фосфатаза, ізоферменти ЛФ, ехоостеометрія.

Вступ

Козівництво – одна із галузей тваринництва, що активно розвивається у світі. За останні 50 років світова популяція кіз збільшилась на 240 % за відносною стабільності інших видів сільськогосподарських тварин (Nguyen et al., 2023). У даний час поголів'я кіз перевищує 1 млрд гол., причому абсолютна більшість (понад 94,4 %) – в Азії (55,6 %) та Африці (38,8%) (Mazinani & Rude, 2020).

Практика вирощування кіз набула у світі економічної привабливості, оскільки кози легко пристосовуються до різноманітних середовищ. Ці тварини є унікальними, адже вони здатні адаптувати свої метаболічні параметри відповідно до кожного періоду життя. Успішний догляд за козами в передпологовий період є життєво важливим для їхнього здоров'я та забезпечення економічного ефекту для власника (Bayoumi et al., 2021).

В останнє десятиліття в Україні, як і в багатьох інших країнах, істотно зріс інтерес саме до кіз молочних порід, чисельність яких на сьогодні становить близько 646, 2 тис. голів. Зростання поголів'я кіз відбувається з кількох причин: лікувальні та профілактичні якості козиного молока; зростання попиту на козине молоко та продуктів його переробки; населення все частіше відмовляється від корів і переходять на утримання кіз (Ladyka et al., 2014).

Передродовий період у кітних кіз визначається 6–8-тижневим терміном, який є надзвичайно важливим для тварин. Під час цієї критичної фази відбувається кілька метаболічних змін та адаптацій організму до нового фізіологічного стану тварини, що робить самку сприйнятливою до багатьох метаболічних захворювань через невідповідність потреб у раціоні вітамінів та есенціальних макро- і мікроелементів під час періодів пізньої кітності та ранньої лактації (Caldeira et al., 2007; Araujo et al., 2014). За недостатньої забезпеченості раціонів розвиваються метаболічні розлади. Найпоширенішими метаболічними захворюваннями у кіз є гіпокальціємія, аліментарна остеодистрофія, токсикоз у період кітності, гіпо- і гіпермагніємія (Brozos et al., 2011).

Гіпокальціємія – це гостре або підгостре захворювання, що зазвичай виникає у тварин за кілька тижнів до і після пологів. В основі механізму розвитку гіпокальціємії лежить різке або поступове зниження концентрації кальцію в сироватці крові тварин. Це відбувається, коли рівень кальцію загального в крові знижується до 2,2 ммоль/л і менше в різних видів тварин, зокрема у кіз (Brozos et al., 2011), адже вони неспроможні відновити концентрацію кальцію в крові навіть через посилення кишкової абсорбції або резорбції кісток (Martinez et al., 2014). Гіпокальціємія також виникає через недостатнє забезпечення раціону віта-

міном D, кальцієм і фосфором, а також за порушення співвідношення між цими есенціальними макроелементами (Goff, 2008).

Гіпокальціємія у кіз часто призводить до гіперестезії та тетанії. Клінічно це характеризується втратою апетиту, млявістю, залежуванням, зниженням температури тіла (Emanuelson & Oltenacu, 1998). Дане захворювання також може бути рушійним фактором інших патологій, зокрема затримання плаценти, маститу та метриту (Seifi & Kia, 2017).

За результатами досліджень Duffield et al. (2009) та Azmi et al. (2016) встановлено, що гіпокальціємія та субклінічна токсемія кітних кіз є найпоширенішими захворюваннями, які вражають тварин у перехідний період, а найвища частота субклінічної токсемії кітності спостерігається упродовж 2–3 тижнів після око-ту (McArt et al., 2011; Vasava et al., 2016).

Мета дослідження

Метою досліджень було вивчення поширення, етіології та методів діагностики гіпокальціємії у кітних і лактуючих кіз.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на базі кафедри пропедевтики та медицини внутрішніх хвороб тварин і птиці ім. В. І. Левченка, міжкафедральної науково-дослідної лабораторії діагностики хвороб тварин ФВМ Білоцерківського НАУ, а також господарств України, що спеціалізуються на утриманні кіз молочного напрямку.

Об'єктом дослідження були клінічно здорові та хворі на гіпокальціємію кози зааненської, альпійської, нубійської та породи ламанчі. Для виконання поставленої мети було клінічно досліджено тварин та проаналізовано раціони кітних (n = 141) і лактуючих (n = 177) козематок 1–4-річного віку, продуктивністю 750–1050 кг за лактацію.

Клінічне дослідження тварин проводили за загальноприйнятою схемою (Smith & Sherman, 2011; Levchenko et al., 2017). Здійснювали детальний аналіз раціонів з урахуванням забезпеченості за сухою речовиною, обмінною енергією, клітковиною, сирим і перетравним протеїном, цукром, крохмалем, жиром, макро- (Ca, P, Mg, S) і мікроелементами (Zn, Cu, Fe, Mn, I, Co), каротином, вітамінами A, D та E; розраховували структуру раціонів (Ibatullin et al., 2016; Provatorov et al., 2023).

Діагноз на гіпокальціємію ставили на основі анамнестичних даних, аналізу раціонів та режиму годівлі, результатів клінічного обстеження, лабораторного аналізу крові та інструментального дослідження (ехоостеометрія) кітних і лактуючих кіз.

Матеріалом для дослідження слугували зразки крові, які відбирали в одноразові пробірки Vacumed (виробник Італія) з активатором згортання крові та гелем методом зажиттєвої пункції яремної вени. Відбір крові проводили з 8:00 до 10:00 год перед годівлею тварин. Після цього пробірки з кров'ю витримували впродовж 30 хв за кімнатної температури (20–25 °C) до початку процесу відділення згустку. Рідку частину (сироватку крові) центрифугували за 3000 об./хв упродовж 10–12 хв до остаточного відділення сироватки від формених елементів крові (Chandratne, 2023; Vlizlo et al., 2012).

Використовували загальноклінічні (огляд, пальпація, перкусія), лабораторні та інструментальні методи дослідження. За біохімічного дослідження крові у кіз уніфікованими методами визначали показники мінерального обміну: кальцій загальний (реакція з кальційарсеназом III), кальцій іонізований (методом іонообмінної абсорбції за Волковим), фосфор неорганічний (УФ-детекція фосфомолібдатного комплексу), активність загальної лужної фосфатази та її ізоферментів (у реакції з 4-нітрофенілфосфатом; виробник – Sigma-Aldrich, Швейцарія). Вимірювання проводили на автоматичному біохімічному аналізаторі Stat Fax 4500+.

Швидкість поширення ультразвуку по кістковій тканині кіз визначали за допомогою ехоостеометра ЕОМ-01-Ц. Дослідження проводили на останньому ребрі кіз по лінії маклака.

Статистична обробка. Отримані результати представлені як середні значення $M \pm m$. Вірогідну різницю оцінювали за *t*-критерієм Стюдента. Результати вважали вірогідними за $P < 0,05$; 0,01; 0,001. Дослідження були статистично оброблені за допомогою програми Statistica-12 і Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення

Дослідження проводили в літньо-осінній та зимово-весняний періоди на козах зааненської, альпійської, нубійської та породи ламанчі у різних технологічних групах (75–90 і 120–140 днів кітності; 0–2; 15–25- і 50–60-й дні лактації).

Повноцінний раціон тварин з урахуванням їхнього фізіологічного стану забезпечує високу продуктивність і запобігає розвитку захворювань. Для кітних кіз, особливо з наближенням до окоту, оптимальною є середня вгодованість (2,5–3,5 бала за п'ятибальною шкалою; BCS), що характеризується округлістю та плавними контурами клубових, сидничних кісток і хребта в ділянці спини; малопомітними контурами ребер; оптимальним відкладанням жиру в грудній ділянці (Hervieu et al., 1991).

Кормовий статус оцінений за допомогою BCS – Body Condition Score (оцінювання вгодованості; стану кондиції тіла), що відображає резерви організму, доступні для основного метаболізму речовин, росту, лактації та активності. Жир у тілі вказує на накопичену енергію для підтримання здоров'я, репродуктивної функції та продуктивної здатності (Koyuncu & Altınçekiç, 2013).

За клінічного дослідження кітних кіз (141 гол.) нами встановлено, що більшість із них (76,6 %) сере-

дньої вгодованості, у 23,4 % вгодованість була нижчою за середню. Серед дослідженого поголів'я лактуючих кіз у 65,0 % (115 гол.) була середня вгодованість, у 35,0 % нижчою за середню (1,5–2 бали BCS).

Раціони годівлі кіз різних порід особливо не відрізнялися за структурою та добовою даванкою. Тваринам зазвичай згодовували такі види кормів: а) грубі – сіно (лугове, різнотравне, лук і пасовищ, люцернове), соломі (ячмінну); б) соковиті – траву (різнотравна, лугова, лук і пасовищ), буряки цукрові, моркву, яблука; в) концентровані – ячмінь, овес, кукурудзу, пшеницю, шрот соняшниковий, макуху соєву.

На прикладі кількох господарств нами проведений аналіз раціонів живлення кіз. Зокрема, кітні козематки молочного напрямку продуктивності господарства “Екоферма “Лиманська коза” були забезпечені за сухою речовиною (104,0 %), за незначного надлишку обмінної енергії, сирого протеїну, сирого клітковини, магнію і заліза. У їхньому раціоні нами встановлено дефіцит за кормовими одиницями (96,2 % від потреби), кальцієм (94,5 %), йодом (95,7 %) і виражений дефіцит за цукром (56,0 %), крохмалем (41,8 %), фосфором (60,1 %), мікроелементами – цинком (67,3 %), міддю (75,0 %), вітамінами А і D (18,0 і 12,5 %, відповідно).

У структурі раціону (за обмінною енергією) частка концентрованих кормів складала 37,7 %, грубих – 62,3 %, соковиті відсутні. Співвідношення “цукор : перетравний протеїн” становило 0,46:1, а сума легкоферментованих вуглеводів до перетравного протеїну – 2,56:1. Кальціє-фосфорне співвідношення становило 2,24:1 (оптимальне – 1,78:1, Maslak & Sobakar, 2015).

Графік дробної годівлі кітних кіз зааненської породи в іншому господарстві такий: вранці – сіно лугове, концентрати у вигляді гранул (склад: кукурудза – 35 %, пшениця – 18,0 %, овес – 15,75 %, шрот соняшниковий – 21,25 %, макуха соєва – 10 %), в обід та ввечері – аналогічно. Кальціє-фосфорне співвідношення складало 1,59:1. Співвідношення цукру до перетравного протеїну та сума легкоферментованих вуглеводів цукру і крохмалю до перетравного протеїну становило, відповідно, 0,36:1 та 1,95:1.

У структурі раціону (за ОЕ) частка грубих кормів становить 40,5 % (оптимальне – 35–45 %), концентрованих – 59,5 % (норма 20–22,0 %, Ibatullin et al., 2016), соковиті відсутні. Проте забезпеченість раціону кітних козематок сухою речовиною становило 92,1 %, обмінною енергією та кормовими одиницями відповідно 85,7 та 78,6 % від потреби. Концентрація сирого і перетравного протеїну в 1 кг сухої речовини становить 15,3 та 11,0 % відповідно.

Основними причинами розвитку гіпокальціємії були: порушення режиму годівлі та структури раціону кітних і лактуючих кіз; низький уміст у раціоні сіна; згодовування великої кількості концентрованих кормів; дисбаланс раціонів за макро- (Са, Р і порушення їх співвідношення, Mg) та мікроелементами (Zn, Cu, І); виражений дефіцит вітамінів А і D; відсутність моціону, а також недостатня природна інсоляція тварин.

Окрім того, у частини досліджених кіз із патологією печінки і функціональною недостатністю нирок (гепаторенальний синдром) діагностували розвиток вторинної гіпокальціємії.

У кітних кіз, хворих на субклінічну гіпокальціємію, діагностували незначне пригнічення загального стану і зниження маси тіла та апетиту; горбкуватість останніх пар ребер. У хворих лактуючих кіз захворювання, окрім того, проявлялась хиткістю різців, лізисом останніх пар ребер, гіпотонією передшлунків, хиткою ходою, тремором м'язів, інколи – залежуванням.

За клінічно вираженої гіпокальціємії у кіз 24–48 год після окоту діагностували виражене загальне пригнічення, втрату реакції на зовнішні подразники, розслаблення м'язового тону, залежування, гіпотонію передшлунків, підвищення частоти пульсу до 100–120 уд./хв, зниження температури тіла до 36–37 °С.

Біохімічне дослідження широко використовується для дослідження оцінки стану організму тварин. На

жаль, серед дрібних жуйних дослідження проводяться переважно на вівцях, а на козах – рідко (Azmi et al., 2016).

При вивченні метаболізму кальцію загального у кіз за 75–90 днів до окоту нами встановлені значення цього есенціального макроелемента в сироватці крові у межах від 1,60 до 2,62 ммоль/л за середньої величини $2,28 \pm 0,028$ ммоль/л (табл. 1). Аналіз індивідуальних показників кальцію загального за умови мінімальної фізіологічної межі 2,3 ммоль/л (Vlizlo et al., 2012) вказує на те, що у 60,5 % його концентрація знаходилась в оптимальних межах (від 2,30 до 2,60 ммоль/л) за середнього значення $2,46 \pm 0,014$ ммоль/л.

Субклінічний перебіг гіпокальціємії діагностували у 39,5 % тварин, а його середнє значення становило $2,0 \pm 0,030$ ммоль/л (табл. 1). У 43,7 % хворих кіз концентрація Са заг. перебувала у межах від 2,23 до 2,01 ммоль/л, ще у 56,3 % його значення коливались від 2,0 до 1,6 ммоль/л, що свідчить про розвиток значних метаболічних змін в організмі (табл. 2).

Таблиця 1

Динаміка обміну кальцію загального та іонізованого у сироватці крові кітних кіз

Біохімічні показники	Дні кітності	Біометричні показники	Загальне значення по групі	Хворі на гіпокальціємію
Са заг., ммоль/л	75–90	n	81	32
		Lim	1,60–2,62	1,60–2,23
		M ± m	$2,28 \pm 0,028$	$2,00 \pm 0,030^{***}$
	120–140	n	60	30
		Lim	1,68–2,37	1,68–1,99
		M ± m	$1,88 \pm 0,054^{\circ\circ}$	$1,82 \pm 0,030^{\circ\circ}$
Са іон., ммоль/л	75–90	n	81	32
		Lim	0,25–1,13	0,25–0,84
		M ± m	$0,65 \pm 0,021$	$0,50 \pm 0,031^{***}$
	120–140	n	60	30
		Lim	0,44–0,99	0,44–0,72
		M ± m	$0,64 \pm 0,038$	$0,57 \pm 0,024$
Са іон./ Са заг., у %	75–90	n	81	32
		M ± m	28,5	25,0
	120–140	n	60	30
		M ± m	34,0	31,3

Примітки: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$ – хворі кітні кози проти загального значення по групі; ° – $P < 0,05$, °° – $P < 0,01$, °°° – $P < 0,001$ – 120–140 днів кітності проти 75–90 днів

Останні два місяці кітності характеризуються високим енергетичним обміном, оскільки приріст плода за цей період сягає 80–90 % його маси при народженні, а потреба козематок в енергії та протеїні в цей час зростає на 40–50 %, у кальції та фосфорі – вдвічі (потреба Са – 13,1 г; Р – 9,3 г у раціоні) (Ibatullin et al., 2016).

У кіз 120–140 днів кітності концентрація кальцію загального в сироватці крові перебувала у межах 1,68–2,37 ммоль/л ($1,88 \pm 0,054$ ммоль/л) і була вірогідно меншою порівняно з тваринами першого періоду кітності ($P < 0,001$; див. табл. 1). Оптимальні значення кальцію загального встановлено у 50,0 % досліджених тварин за середнього значення $2,34 \pm 0,030$ ммоль/л. У такої ж кількості кіз цієї технологічної

групи діагностували гіпокальціємію, а його рівень перебував у межах від 1,68 до 1,99 ммоль/л ($1,82 \pm 0,030$ ммоль/л; див. табл. 1), що на 9,9 % є менше порівняно з хворими тваринами 75–90 днів кітності та є статистично значущим ($P < 0,001$; див. табл. 1).

Зниження вмісту кальцію загального відбувається зазвичай за рахунок його іонізованої фракції (Yuskiv & Vlizlo, 2013). Значні межі коливань концентрації кальцію загального в сироватці крові кітних кіз пояснюється особливим фізіологічним станом організму, який характеризується специфічним метаболізмом і спрямований на тісний взаємозв'язок матері та плоду й забезпечення його росту і розвитку (Bani Ismail et al., 2008).

Таблиця 2

Концентрація кальцію загального та іонізованого в сироватці крові кітних кіз хворих на гіпокальціємію

Дні кітності	Біохімічні показники					
	Са заг., ммоль/л			Са іон., ммоль/л		
	Lim	M ± m	%	Lim	M ± m	%
75–90	1,60–2,00	1,90 ± 0,030	56,3	0,25–0,60	0,41 ± 0,015	62,5
	2,01–2,23	2,13 ± 0,014	43,7	0,61–0,84	0,56 ± 0,016	37,5
120–140	1,68–1,99	1,82 ± 0,030	100	0,44–0,60	0,52 ± 0,018	60,0
	–	–	–	0,61–0,72	0,67 ± 0,012	40,0

На 0–2-й день після окоту концентрація кальцію загального у всіх козематок перебувала нижче за фізіологічну межу (2,30 ммоль/л). У 51,7 % хворих кіз його рівень становив у середньому $1,64 \pm 0,049$ ммоль/л (1,28–1,87 ммоль/л), що в 1,12 раза є менше порівняно із загальним значенням по групі. У 20,0 % кіз уміст есенціального макроелементу перебував у межах 2,01–2,23 ммоль/л, а в 80,0 % козематок цієї групи його концентрація була значно нижчою за мінімальну фізіологічну межу і навіть зменшувалась до 1,40–1,28 ммоль/л (табл. 4).

У хворих козематок у перші дні після окоту діагностували пригнічення загального стану, зниження маси тіла та апетиту, тремор м'язів, хитку ходу, хиткість різців, горбкуватість і лізис останніх пар ребер, гіпотонію передшлунків, зниження температури тіла ($< 38,5^\circ\text{C}$), залежування.

Клінічно виражену гіпокальціємію діагностували у 5,2 % кіз із 58 досліджених тварин через 24–48 год після окоту. У хворих тварин виявляли пригнічення загального стану, втрату реакції на зовнішні подразники, розслаблення м'язового тонусу, залежування, гіпо- та атонію передшлунків, підвищення частоти пульсу до 100–120 уд./хв, зниження температури тіла до $36\text{--}37^\circ\text{C}$. Концентрація кальцію загального у сироватці крові хворих кіз перебувала в межах 1,28–1,40 ммоль/л ($5,13\text{--}5,61\text{ мг/\%}$), що в 1,5–2 рази менше за нижню фізіологічну межу.

За даними X. Y. Yang (Yang et al., 2009), гомеостаз кальцію порушується через надмірне підвищення його втрат на початку лактації внаслідок секреції в молозиво, яке містить близько 1,6 г/л цього елементу. Таким чином, коза втрачає з 3 літрами молозива орієнтовно 4,8 г кальцію за перше доїння, що значно впливає на вихід кальцію із організму. Кількість кальцію, абсорбованого з кормів, недостатня для поновлення цих витрат упродовж першої доби, і, як наслідок, у новокітних розвивається гіпокальціємія. В цей період організм тварини мобілізує резерви для нормалізації вмісту сироваткового кальцію: а) через збільшення його абсорбції у шлунково-кишковому тракті; б) підвищення реабсорбції кальцію з первинної сечі; в) мобілізацію з кісткових резервів (Chetan Kumar et al., 2024).

На 15–25-й дні після окоту вміст кальцію загального в сироватці крові лактуючих кіз перебував у діапазоні 1,84–2,76 ммоль/л ($2,26 \pm 0,024$ ммоль/л) і був вірогідно більшим порівняно з новокітними тваринами ($P < 0,001$; табл. 3). Оптимальні значення кальцію загального встановили у сироватці крові 56,7 % досліджених тварин, а його ліміти перебували

в межах від 2,30 до 2,76 ммоль/л за середнього значення $2,42 \pm 0,015$ ммоль/л. Гіпокальціємію діагностували у 43,3 % кіз цієї групи ($2,10 \pm 0,018$ ммоль/л; табл. 3). У 38,5 % кіз рівень есенціального макроелемента перебував у межах 2,01–2,23 ммоль/л, а в 61,5 % козематок його концентрація була нижчою ніж 2,0 ммоль/л (1,84–2,0 ммоль/л; табл. 4).

На 50–60-й дні лактації відбувалось поступове збільшення концентрації кальцію загального в сироватці крові лактуючих кіз, порівняно з попереднім періодом дослідження, за середньої величини $2,36 \pm 0,034$ ммоль/л (1,80–2,76 ммоль/л; табл. 3). Оптимальну концентрацію цього макроелемента встановили у 56,0 % лактуючих тварин (2,30–2,76 ммоль/л), що свідчить про тенденцію до відновлення його метаболізму в організмі.

Гіпокальціємію встановили у 44,0 % тварин цієї групи, а рівень Са заг. був у межах від 1,80 до 2,18 ммоль/л ($2,05 \pm 0,052$ ммоль/л), що в 1,15 раза є менше порівняно із загальним значенням по групі ($P < 0,001$; табл. 3). У 46,2 % гол. його коливання у сироватці крові були в межах від 1,80 до 2,0 ммоль/л, а у 53,8 % – 2,01–2,18 ммоль/л (табл. 4), тобто менше ніж 2,3 ммоль/л.

Відомо, що рівень кальцію у сироватці крові є однією із найбільш сталих біохімічних величин в організмі різних тварин і міститься він у різних формах, зокрема зв'язаний із білками крові, в іонізованій та неіонізованій фракції (Beto, 2015; Fischer et al., 2018; Ciosek et al., 2021). Вільний, гідратований двовалентний катіон кальцію в сироватці або плазмі крові історично називають “іонізований кальцій”, або ж – “вільний кальцій” (Baird, 2011). Іонізований (вільний) Кальцій бере активну участь у метаболізмі, активує ретикулоендотеліальну систему, підтримує тонус симпатичної нервової системи, зменшує проникність судин та клітинних мембран. Окрім того, цей життєво важливий макроелемент активує трипсин, сприяє переходу протромбіну у тромбін, стимулює фагоцитарну функцію лейкоцитів тощо (Tinker & Williams, 1995).

За даними багатьох авторів (Sidler-Lauff et al., 2010; Wilkens & Muscher-Banse, 2010; Keung & Perwad, 2018), рівень кальцію та кальцієво-фосфорний метаболізм підтримується взаємодією всмоктування та реабсорбцією через шлунково-кишковий канал і нирки і регулюється, здебільшого, паратгормоном (ПТГ), 1,25-дигідроксихолекальциферолом ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), кальцитоніном (КТ) та фактором росту фібробластів 23 (FGF23).

Таблиця 3

Динаміка обміну кальцію загального та іонізованого в сироватці крові лактуючих кіз

Біохімічні показники	Дні лактації	Біометричні показники	Загальне значення по групі	Хворі на гіпокальціємію
Са заг., ммоль/л	0–2	n	58	30
		Lim	1,28–2,25	1,28–1,87
		M ± m	1,84 ± 0,050	1,64 ± 0,049*
	15–25	n	60	26
		Lim	1,84–2,76	1,84–2,23
		M ± m	2,26 ± 0,024	2,10 ± 0,018***
	50–60	P ₁ <	0,001	0,001
		n	59	26
		Lim	1,80–2,76	1,80–2,18
Са іон., ммоль/л	0–2	M ± m	2,36 ± 0,034	2,05 ± 0,052***
		P ₂ <	0,001	0,001
		P ₃ <	0,05	–
	15–25	n	58	30
		Lim	0,36–0,86	0,36–0,62
		M ± m	0,57 ± 0,026	0,49 ± 0,025*
	50–60	n	60	26
		Lim	0,32–1,30	0,32–0,81
		M ± m	0,74 ± 0,024	0,64 ± 0,032*
Са іон./ Са заг., у %	0–2	P ₁ <	0,001	0,001
		n	59	26
		Lim	0,41–1,27	0,41–1,05
	15–25	M ± m	0,90 ± 0,38	0,68 ± 0,085*
		P ₂ <	0,001	0,05
		P ₃ <	0,001	–
	50–60	n	58	30
		M ± m	31,0	29,9
		n	60	26
Са іон./ Са заг., у %	15–25	M ± m	32,7	30,5
		n	59	26
		M ± m	38,1	33,2

Примітки: P₁ < – 15–25 днів після окоту проти 0–2 днів після окоту; P₂ < – 50–60 днів після окоту проти 0–2 днів після окоту; P₃ < – 50–60 днів після окоту проти 15–25 днів після окоту; * – P < 0,05, ** – P < 0,01, *** – P < 0,001 – хворі лактуючі кози проти загального значення по групі

Таблиця 4

Концентрація кальцію загального та іонізованого в сироватці крові лактуючих кіз, хворих на гіпокальціємію

Дні лактації	Біохімічні показники					
	Са заг., ммоль/л			Са іон., ммоль/л		
	M ± m	Lim	%	M ± m	Lim	%
0–2	1,45 ± 0,045	1,28–2,0	80	0,41 ± 0,015	0,36–0,50	53,3
	1,76 ± 0,028	2,01–2,23	20	0,56 ± 0,016	0,51–0,62	46,7
	1,81 ± 0,015	1,84–2,0	61,5	0,44 ± 0,044	0,32–0,60	34,6
15–25	2,12 ± 0,018	2,01–2,23	38,5	0,71 ± 0,012	0,61–0,81	65,4
	1,87 ± 0,098	1,80–2,0	46,2	0,44 ± 0,018	0,41–0,60	72,0
50–60	2,12 ± 0,025	2,01–2,18	53,8	0,79 ± 0,073	0,61–1,05	28,0

Визначення в сироватці крові кіз концентрації кальцію іонізованого як однієї з важливих складових Са заг., а особливо – його частки в загальній структурі цього макроелемента, має важливе діагностичне і прогностичне значення. Нами встановлено, що вміст іонізованої фракції кальцію в сироватці крові хворих кіз на 75–90-й дні кітності був у межах від 0,25 до 0,84 ммоль/л і в середньому становив 0,50 ± 0,031 ммоль/л. У 62,5 % тварин його рівень перебував у діапазоні від 0,25 до 0,60 ммоль/л, ще у 37,5 % – 0,61–0,84 ммоль/л за середніх значень 0,41 ± 0,015 і 0,56 ± 0,016 ммоль/л відповідно (див. табл. 2).

Мінімальною фізіологічною межею вважається 1,10 ммоль/л кальцію іонізованого (Vlizlo et al., 2012). Отже, у 100,0 % тварин було встановлено зниження його вмісту, а співвідношення іонізованої фракції кальцію до кальцію загального в сироватці крові кітних козематок, хворих на гіпокальціємію, становило 0,32:1. При цьому концентрація Са заг. була зниженою у 39,5 % кіз цієї групи.

На 120–140-й дні кітності рівень вільного кальцію перебував у межах від 0,44 до 0,99 ммоль/л за середнього значення 0,64 ± 0,038 ммоль/л. У тварин із гіпокальціємією його концентрація коливалась у межах 0,44–0,72 ммоль/л (0,57 ± 0,024 ммоль/л), що майже

не відрізнялось від середнього показника у хворих тварин на 75–90-й дні кітності, а його частка у структурі кальцію загального складала в середньому 31,3 %.

На 0–2-й дні після окоту рівень іонізованої фракції кальцію в сироватці крові кіз перебував у межах 0,36–0,86 ммоль/л ($0,57 \pm 0,026$ ммоль/л), а співвідношення іонізованої фракції кальцію до кальцію загального становило 0,30:1. У кіз, хворих на гіпокальціємію, його концентрація була в межах від 0,36 до 0,62 ммоль/л за середнього значення $0,49 \pm 0,025$ ммоль/л, а його частка в структурі кальцію загального складала в середньому 29,9 %. Зниження вмісту іонізованого кальцію було встановлено в 100,0 % новокітних.

На 15–25-й і 50–60-й дні після окоту у хворих на гіпокальціємію лактуючих кіз (43,3 і 44,1 % від кількості досліджених відповідно) концентрація іонізованого кальцію була зниженою у 100,0 % тварин. На 15–25-й і 50–60-й дні лактації його вміст у сироватці крові перебував у межах відповідно 0,32–0,81 та 0,41–1,05 ммоль/л за середніх значень $0,64 \pm 0,032$ і $0,68 \pm 0,085$ ммоль/л, що є нижче за фізіологічну межу. Співвідношення іонізованої фракції кальцію до загального кальцію в сироватці крові хворих лактуючих кіз становило 0,30 і 0,33:1 відповідно проти 0,35:1 і 0,40:1 – у клінічно здорових ($P < 0,05$; $P < 0,1$).

Уміст кальцію загального та іонізованого в сироватці крові хворих лактуючих кіз на 15–25-й і 50–60-й дні лактації мав тенденцію до підвищення порівняно з 0–2 днями після окоту ($P < 0,001$; $P < 0,001$; див. [табл. 3](#)).

За даними [Chetan Kumar et al. \(2024\)](#), після родів лактаційні втрати кальцію відновлюються завдяки паратгормону, який мобілізує кальцій із кісток, збільшує його реабсорбцію в нирках та стимулює синтез кальцитріолу – $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ в проксимальних каналцях нирок. Отже, $1,25$ -дигідроксисхолекальциферол активує синтез у слизовій оболонці тонких кишок кальцієзв'язувального білка (СаЗБ), який стимулює абсорбцію кальцію. Короточасну підтримку стабільної концентрації іонізованого кальцію забезпечують дрібнодисперсні білки, головним чином альбуміни, діючи як кальцієвий буфер. Тривала підтримка стабільної концентрації іонізованого кальцію забезпечується дією кількох гормонів, головним чином паратиреоїдним гормоном (ПТГ). Рецептори, які сприймають кальцій на поверхні клітин прищитоподібної залози, постійно контролюють позаклітинну концентрацію іонізованого кальцію та передають внутрішньоклітинний сигнал, який керує синтезом і секрецією паратгормону, коли концентрація його знижується. ПТГ впливає на кілька органів-мішеней, включаючи кістки, де він спрямовує резорбцію кальцію, і нирки, де він збільшує реабсорбцію кальцію, збільшуючи екскрецію фосфату та посилюючи регуляцію 1α -гідроксилази, ферменту, який перетворює 25 -гідроксистероїд D в його активну форму ([Inzerillo et al., 2002](#)).

Лужна фосфатаза є одним із основних маркерів кісткового метаболізму і вважається одним із найпоширеніших маркерів кісткоутворення (МРКТ), однак є недостатньо чутливим та специфічним, оскільки лише 50 % зазначеного ферменту синтезується в кістці

(кістковий ізофермент лужної фосфатази), ще 50 % – в інших органах (печінці, кишечнику, плаценті) ([Povorozniuk & Balatska, 2013](#); [Chornii & Shmanko, 2017](#); [Vimalraj, 2020](#)).

Нами встановлено, що у хворих кіз на 75–90-й дні кітності середня активність загальної лужної фосфатази у сироватці крові становила $286,4 \pm 28,55$ Од/л ($75,7$ – $702,8$ Од/л), що в 1,38 раза (38,1 %) є більшим порівняно з його активністю у клінічно здорових тварин цієї групи – $207,4 \pm 37,37$ Од/л ($27,0$ – $690,0$ Од/л).

З наближенням до окоту загальна активність ЛФ у хворих на гіпокальціємію тварин на 120–140-й дні кітності мала тенденцію до підвищення порівняно з тваринами за 2–3 місяці до родів, проте різниця була невірогідна ([табл. 5](#)). Таку ж тенденцію спостерігали в активності кишкового та кісткового ізоферментів ЛФ ([табл. 5](#)). Не виключено, що зростання активності загальної лужної фосфатази відбувається за рахунок підвищення концентрації плацентарної ЛФ із збільшенням терміну кітності внаслідок синтезу плацентарної ізоформи. Також відомо, що плацентарний ген ЛФ може повторно експресуватися раковими клітинами як “ізофермент Регана” ([Vergote et al., 1992](#); [Benirschke et al., 2012](#); [Sharma et al., 2013](#)).

На 0–2-й день після окоту оптимальні значення загальної ЛФ діагностували у 100 % тварин, хворих на гіпокальціємію ($123,5$ – $325,0$ Од/л; $198,8 \pm 17,58$ Од/л), на 15–25-й дні лактації – у 46,2 % тварин ($101,2$ – $320,1$ Од/л; $173,1 \pm 23,66$ Од/л), а на 50–60-й дні – у 38,5 % хворих кіз ($108,6$ – $335,1$ Од/л; $204,44 \pm 37,74$ Од/л). Підвищення активності загальної ЛФ на 15–25-й дні лактації діагностували у 53,8 % тварин ($414,9$ – $760,0$ Од/л), на 50–60-й дні після окоту – у 61,5 % кіз ($344,1$ – $756,9$ Од/л, див. [табл. 5](#)). За даними [M. Tharwat \(Tharwat & Al-Sobayil, 2013\)](#), активність загальної лужної фосфатази у сироватці крові кітних кіз за 7–21 день до передбачуваного окоту була значно вищою, ніж у новокітних тварин, і мала тенденцію до підвищення зі збільшенням терміну лактації. Не виключено, що зростання активності загальної ЛФ у кіз перед окотом відбувається за рахунок підвищення синтезу цього ензиму в плаценті. Зростання активності загальної лужної фосфатази із першого до 60 дня лактації відбувається за рахунок кісткового ізофермента ЛФ, оскільки основною ізоформою ЛФ є саме кісткова, активність якої в кілька разів перевищує значення кишкової ізоформи ензиму ([Velykyi et al., 2013](#)). Причиною зростання активності ЛФ може бути розвиток дистрофічних процесів у кістковій тканині чи надмірна втрата кальцію під час кітності й окоту тварин ([Bashiri et al., 2006](#)).

За результатами досліджень [Bandarra et al. \(2011\)](#), [Sharma et al. \(2017\)](#) та [Töyräs et al. \(2002\)](#), підвищення активності загальної лужної фосфатази спостерігали не тільки у період інтенсивного росту кісткової тканини, а також при її ураженні, зокрема за остеопорозу, остеомаліції та остеодистрофії. При захворюваннях кісткової тканини у кіз підвищення активності загальної ЛФ відбувається головним чином за рахунок кісткового ізоензиму, якого вважають основним маркером захворювання кісткової тканини ([Töyräs et al., 2002](#); [Bandarra et al., 2011](#); [Sharma et al., 2017](#)).

Таблиця 5

Динаміка активності лужної фосфатази та її ізоферментів у сироватці крові кітних кіз хворих на гіпокальціємію

Біохімічні показники	Біометричні показники	Дні кітності	
		75–90	120–140
ЛФ заг., Од/л	n	32	30
	Lim	75,7–702,8	88,3–512,1
	M ± m	286,4 ± 28,55	299,0 ± 41,0
	P <		–
ЛФ кишк., Од/л	n	32	30
	Lim	12,1–85,3	17,8–156,4
	M ± m	60,6 ± 6,23	69,8 ± 11,4
	P <		–
ЛФ кіст., Од/л	n	32	30
	Lim	69,9–181,4	84,4–507,6
	M ± m	278,6 ± 28,28	294,9 ± 40,94
	P <		–

Примітка: P < – 120–140 днів кітності проти 75–90 днів кітності

Таблиця 6

Динаміка активності лужної фосфатази та її ізоферментів у сироватці крові лактуючих кіз хворих на гіпокальціємію

Біохімічні показники	Біометричні показники	Дні лактації		
		0–2	15–25	50–60
ЛФ заг., Од/л	n	30	26	26
	Lim	123,5–325,0	40,6–760,1	50,4–756,9
	M ± m	198,8 ± 17,58	202,9 ± 41,77	292,9 ± 40,67°
	P <			
ЛФ кишк., Од/л	n	30	26	26
	Lim	11,2–68,3	4,8–115,0	3,2–48,9
	M ± m	35,5 ± 4,93	38,6 ± 7,65	23,1 ± 6,01
	P <			
ЛФ кіст., Од/л	n	30	26	26
	Lim	119,3–320,9	37,5–726,7	49,0–757,1
	M ± m	195,2 ± 17,50	197,6 ± 40,53	285,4 ± 20,51°•
	P <			

Примітки: * – P < 0,05, ** – P < 0,01, *** – P < 0,001 – 15–25 днів після окоту проти 0–2 днів після окоту; ° – P < 0,05, °° – P < 0,01, °°° – P < 0,001 – 50–60 днів після окоту проти 0–2 днів після окоту; • – P < 0,05, •• – P < 0,01, ••• – P < 0,001 – 50–60 днів після окоту проти 15–25 днів після окоту

Таблиця 7

Показники мінерального обміну та ехоостеометрії у хворих на гіпокальціємію лактуючих кіз

Біохімічні показники	Біометричні показники	Клінічний стан кіз		P <
		Клінічно здорові	хворі на гіпокальціємію	
Заг. Са, ммоль/л	n	31	11	
	Lim	2,31–2,77	1,80–2,28	
	M ± m	2,48 ± 0,022	2,18 ± 0,044	0,001
	P <			
Са іон., ммоль/л	n	31	11	
	Lim	0,61–1,30	0,57–1,08	
	M ± m	0,96 ± 0,032	0,81 ± 0,055	0,05
	P <			
Р неорг., ммоль/л	n	31	11	
	Lim	1,22–2,96	0,88–2,31	
	M ± m	2,24 ± 0,099	2,00 ± 0,028	0,05
	P <			
Активність ЛФ, Од/л	n	31	11	
	Lim	43,6–831,4	45,2–735,4	
	M ± m	271,1 ± 37,6	241,9 ± 80,6	0,2
	P <			
Швидкість УЗ хвили, м/с	n	31	11	
	Lim	252,5–2500	390,6–1700,7	
	M ± m	734,7 ± 95,9	808,2 ± 123,6	0,1
	P <			

Примітка: P < – хворі лактуючі кози проти клінічно здорових

Метод ультразвукової остеометрії (ехоостеометрії) застосовували для оцінки стану мінеральної щільності у кістковій тканині лактуючих кіз. Швидкість ультразвуку, за даними [Bandara et al. \(2011\)](#), залежить від щільності зразка, оскільки вважається, що відмінності

в кістковій пористості впливають на розсіювання та ослаблення УЗД.

Для дослідження використовували прилад “Ехоостеометр” ЕОМ-01-Ц в режимі абсолютного виміру часу за частоти випромінювання ультразвукової передаючої діагностичної головки приладу 0,12 МГц, а

відстань між передаючою та сприймаючою головками становила 25 мм. Дослідження проводили на останньому ребрі кіз по лінії маклака.

Нами встановлено, що швидкість поширення УЗ-хвилі по ділянці останнього ребра у лактуючих кіз, хворих на гіпокальціємію, становила в середньому $808,2 \pm 123,6$ м/с ($390,6\text{--}1700,7$ м/с), а в клінічно здорових мала тенденцію до зниження цього показника і становила в середньому $734,7 \pm 95,9$ м/с, але вірогідної різниці між ними не спостерігалось ($P < 0,1$; табл. 7).

Відомості про конфлікт інтересів. Автор статті “Гіпокальціємія кітних і лактуючих кіз (поширення, етіологія, методи діагностики)” М. М. Гоцуляк стверджує про відсутність конфлікту інтересів щодо їх вкладу та результатів дослідження.

Висновки

1. Субклінічний перебіг гіпокальціємії діагностували в 45,3 % досліджених кіз, у т. ч. у 44,0 % кітних та в 46,3 % лактуючих тварин. Захворювання проявлялось такими клінічними ознаками: а) незначне пригнічення загального стану; б) зниження маси тіла (BCS 1,5–2,0); в) зниження апетиту; г) хиткість різців; ґ) гіпотонією передшлунків; д) хитка хода; е) тремор м'язів; є) залежуванням та поодинокими випадками маститу і метриту у лактуючих в перші дні після окоту. Клінічно виражену гіпокальціємію діагностували у 5,2 % кіз через 24–48 год після окоту.

2. У 100 % хворих на субклінічну гіпокальціємію тварин діагностували зниження рівня іонізованої фракції кальцію за його концентрації $0,25\text{--}1,05$ ммоль/л ($0,56 \pm 0,016$ ммоль/л).

3. Підвищення активності загальної лужної фосфатази у сироватці крові тварин зі зниженим умістом Са заг. діагностували у 38,7 % кітних кіз у межах $353,3\text{--}702,8$ Од/л ($478,9 \pm 32,52$ Од/л) та в 36,6 % козематок на 15–25-й і 50–60-й дні лактації ($615,3 \pm 37,21$ Од/л). В перші дні після окоту виявляли зниження активності заг. ЛФ у 1,5 раза порівняно з кітними тваринами. На 15–25-й та 50–60-й дні лактації активність ферменту в сироватці крові мала виражену тенденцію до підвищення.

4. Швидкість поширення УЗ-хвилі по ділянці останнього ребра у лактуючих кіз, хворих на гіпокальціємію, становила в середньому $808,2 \pm 123,6$ м/с ($390,6\text{--}1700,7$ м/с) проти $734,7 \pm 95,9$ м/с – у клінічно здорових тварин.

Перспективою подальших досліджень є вивчення D-вітамінного та ендокринного статусу кіз у клінічно здорових і хворих на гіпокальціємію кіз різних фізіологічних і технологічних груп.

Відомості про конфлікт інтересів

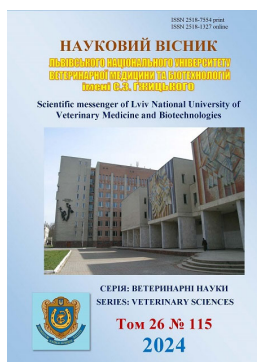
Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Araujo, C. A. S. C., Nikolaus, J. P., Morgado, A. A., Monteiro, B. M., Rodrigues, F. A. M. L., Soares, P. C. & Sucupira, M. C. A. (2014) Energetic and hormonal profile of Santa Ines ewes in the middle of gestation to postpartum. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 34(12), 1251–1257. URL: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/tgRTp5hh7QYmBZYM4hLbYdr/?format=pdf&lang=pt>.
- Azmi, A. F. M., Ghani, A. A. A., Saadan, A. S., Mokrish, A., Lai, K. S., Zamri-Saad, M., Zuki, A. B., & Hassim, H. A. (2016). Histological changes of liver tissue and serobiochemical relation in does with pregnancy ketosis. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 21(2), 96–100. DOI: 10.14334/jitv.v21i2.1357.
- Baird, G. S. (2011). Ionized calcium. *Clinica Chimica Acta*, 412(9-10), 696–701. DOI: 10.1016/j.cca.2011.01.004.
- Bandarra, P. M., Pavarini, S. P., Santos, A. S., Antoniassi, N. A. B., Cruz, C. E., & Driemeier, D. (2011). Nutritional fibrous osteodystrophy in goats. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31(10), 875–878. DOI: 10.1590/S0100-736X201101000007.
- Bani Ismail, Z. A., Al-Majali, A. M., Amireh, F., & Al-Rawashdeh, O. F. (2008). Metabolic profiles in goat does in late pregnancy with and without subclinical pregnancy toxemia. *Veterinary Clinical Pathology*, 37(4), 434–437. DOI: 10.1111/j.1939-165x.2008.00076.x.
- Bashiri, A., Katz, O., Maor, E., Sheiner, E., Pack, I., & Mazor, M. (2006). Positive placental staining for alkaline phosphatase corresponding with extreme elevation of serum alkaline phosphatase during pregnancy. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 275(3), 211–214. DOI: 10.1007/s00404-006-0212.
- Bayoumi, Y. H., Behairy, A., Abdallah, A. A., & Attia, N. E. (2021). Peri-parturient hypocalcemia in goats: Clinical, hematobiochemical profiles and ultrasonographic measurements of postpartum uterine involution. *Veterinary world*, 14(3), 558–568. DOI: 10.14202/vetworld.2021.558-568.
- Benirschke, K., Burton, G. J., & Baergen, R. N. (2012). *Pathology of the Human Placenta*. Springer Berlin Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-23941-0.
- Beto, J. A. (2015). The role of calcium in human aging. *Clinical nutrition research*, 4(1), 1–8. DOI: 10.7762/cnr.2015.4.1.1.
- Brozos, C., Mavrogianni, V. S., & Fthenakis, G. C. (2011). Treatment and Control of Peri-Parturient Metabolic Diseases: Pregnancy Toxemia, Hypocalcemia, Hypomagnesemia. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 27(1), 105–113. DOI: 10.1016/j.cvfa.2010.10.004.
- Caldeira, R. M., Belo, A. T., Santos, C. C., Vazques, M. I., & Portugal, A. V. (2007). The effect of body condition score on blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Ruminant Research*, 68(3), 233–241. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2005.08.027.
- Chandratte, G. A. (2023). Collection, Preservation, Processing, and Dispatch of Clinical Material of Goats. *Principles of Goat Disease and Prevention*, 49–61. Portico. DOI: 10.1002/9781119896142.ch5.
- Chetan Kumar, G. K., Ashwini, A., & Sagar, R. S. (2024). Hypocalcemia. *Elements of Reproduction and Reproductive Diseases of Goats*, 367–378. DOI: 10.1002/9781394190089.ch31.
- Chornii, A., & Shmanko, V. (2017). Level markers of bone remodeling in patients with primary hypothy-

- roidism. *Journal of Education, Health and Sport*, 7(4), 269–278. DOI: 10.5281/zenodo.4392184.
- Ciosek, Ż., Kot, K., Kosik-Bogacka, D., Łanocha-Arendarczyk, N., & Rotter, I. (2021). The Effects of Calcium, Magnesium, Phosphorus, Fluoride, and Lead on Bone Tissue. *Biomolecules*, 11(4), 506. DOI: 10.3390/biom11040506.
- Duffield, T. F., Kelton, D. F., Leslie, K. E., Lissemore, K. D., & Lumsden, J. H. (1997). Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire canadienne*, 38(11), 713–718. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1576823>.
- Emanuelson, U., & Oltenacu, P. A. (1998). Incidences and Effects of Diseases on the Performance of Swedish Dairy Herds Stratified by Production. *Journal of Dairy Science*, 81(9), 2376–2382. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(98)70129-8.
- Fischer, V., Haffner-Luntzer, M., Amling, M., & Ignatius, A. (2018). Calcium and vitamin D in bone fracture healing and post-traumatic bone turnover. *European Cells and Materials*, 35, 365–385. DOI:10.22203/eCM.v035a25.
- Goff, J. P. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1), 50–57. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.12.020.
- Hervieu, J., Morand-Fehr, P., Schmidely, P. H., Fedele, V., & Delfa, R. (1991). Body Measurements Explaining Variations in Scores for The Sternal, Lumbar, and Caudal Regions Used to Estimate Body Condition in Dairy Goats. *Options Méditerranéennes-Série Séminaires*, 43–56.
- Ibatullin, I. I., Bashchenko, M. I., Zhukorsky, O. M. et al. (2016). *Dovidnyk z povnotsinnoi hodivli silskohospodarskykh tvaryn* [A guide to complete feeding of farm animals]. Edited by I. I. Ibatullin and O. M. Zhukorsky. Kyiv: Agrarian Science (in Ukrainian).
- Inzerillo, A. M., Zaidi, M., & Huang, C. L. H. (2002). Calcitonin: The Other Thyroid Hormone. *Thyroid*, 12(9), 791–798. DOI: 10.1089/105072502760339352.
- Keung, L., & Perwad, F. (2018). Vitamin D and kidney disease. *Bone Reports*, 9, 93–100. DOI: 10.1016/j.bonr.2018.07.002.
- Koyuncu, M. A., & Altınçekiç, S. Ö. (2013). Importance of body condition score in dairy goats. *Macedonian Journal of Animal Science*, 3(2), 167–173. URL: <http://www.mjas.ukim.edu.mk/files/MJAS-03-2-2013-166-Koyuncu.pdf>.
- Ladyka, L. M., Opara, V. O., & Kyselov, O. B. (2014). Suchasnyi stan ta perspektyvy rozvytku kozivnytstva v Sumskomuh rehioni [Current state and prospects of goat breeding in Sumy region]. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. Series: Animal husbandry*, 2(1), 112–117. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_tvar_2014_2%281%29_27 (in Ukrainian).
- Levchenko, V. I., Vlizlo, V. V., Kondrakhin, I. P. et al. (2017). *Klinichna diahnostyka khvorob tvaryn* [Clinical diagnosis of animal diseases]. Edited by V. I. Levchenko and V. M. Bezukh. Bila Tserkva (in Ukrainian).
- Martinez, N., Sinedino, L. D. P., Bisinotto, R. S., Ribeiro, E. S., Gomes, G. C., Lima, F. S., Greco, L. F., Risco, C. A., Galvão, K. N., Taylor-Rodriguez, D., Driver, J. P., Thatcher, W. W., & Santos, J. E. P. (2014). Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 874–887. DOI: 10.3168/jds.2013-7408.
- Maslak Y. V., & Sobakar A. V. (2015). Etiopatohenez osteodystrofii u kiz zaanenskoï porody [Etiopathogenesis of osteodystrophy in Zaanen goats] *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, 1–2, 119–123. DOI: 10.31210/visnyk2015.1-2.26 (in Ukrainian).
- Mazinani, M., & Rude, B. (2020). Population, World Production and Quality of Sheep and Goat Products. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 15(4), 291–299. DOI: 10.3844/ajavsp.2020.291.299.
- McArt, J. A. A., Nydam, D. V., Ospina, P. A., & Oetzel, G. R. (2011). A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 6011–6020. DOI: 10.3168/jds.2011-4463.
- Nguyen, V. D., Nguyen, C. O., Chau, T. M. L., Nguyen, D. Q. D., Han, A. T., & Le, T. T. H. (2023). Goat Production, Supply Chains, Challenges, and Opportunities for Development in Vietnam: A Review. *Animals*, 13(15), 2546. DOI: 10.3390/ani13152546.
- Povorozniuk, V. V., & Balatska, N. I. (2013). Rol markiriv remodeliuvannia kistkovoï tkanyny u diahnostytsi systemnoho osteoporozu [The role of bone remodeling markers in the diagnosis of systemic osteoporosis]. *The art of treatment*, (2–3), 12–14 (in Ukrainian).
- Provatorov, G. V., Ladika, V. I., & Bondarchuk, L. V. (2023). *Normy hodivli, ratsiony i pozhyvnyist kormiv dlia riznykh vydiv silskohospodarskykh tvaryn: dovidnyk* [Feeding rates, rations and nutritional value of feed for different types of farm animals: a guide] 2nd ed: University Book (in Ukrainian).
- Seifi, H. A., & Kia, S. (2017). Subclinical Hypocalcemia in Dairy Cows: Pathophysiology, Consequences and Monitoring. *IJVST*, 9(2), 1–15. DOI: 10.22067/VETERINARY.V9I2.69198.
- Sharma, D. K., Sonawane, G. G., & Swarnkar, C. P. (2017). Clinico-hemato-biochemical study of two commercial feed supplements for amelioration of rickets in growing male lambs. *Comparative Clinical Pathology*, 27(1), 231–238. DOI: 10.1007/s00580-017-2582-4.
- Sharma, U., Pal, D., & Prasad, R. (2013). Alkaline Phosphatase: An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 29(3), 269–278. DOI: 10.1007/s12291-013-0408-y.
- Sidler-Lauff, K., Boos, A., Kraenzlin, M., & Liesegang, A. (2010). Influence of different calcium supplies and a single vitamin D injection on vitamin D receptor and calbindin D9k immunoreactivities in the gastrointestinal tract of goat kids. *Journal of Animal Science*, 88(11), 3598–3610. DOI: 10.2527/jas.2009-2682.
- Smith, C. M., & Sherman, D. M. (2011). *Goat Medicine*. Wiley & Sons, Incorporated, John. DOI: 10.1002/9780813818825.
- Tharwat, M., Ali, A., & Al-Sobayil, F. (2013). Hematological and biochemical profiles in goats during the

- transition period. *Comparative Clinical Pathology*, 24(1), 1–7. DOI: 10.1007/s00580-013-1842-1.
- Tinker, A., & Williams, A. J. (1995). Measuring the length of the pore of the sheep cardiac sarcoplasmic reticulum calcium-release channel using related trimethylammonium ions as molecular calipers. *Biophysical Journal*, 68(1), 111–120. DOI: 10.1016/S0006-3495(95)80165-7.
- Töyräs, J., Nieminen, M. T., Kröger, H., & Jurvelin, J. S. (2002). Bone mineral density, ultrasound velocity, and broadband attenuation predict mechanical properties of trabecular bone differently. *Bone*, 31(4), 503–507. DOI: 10.1016/s8756-3282(02)00843-8.
- Vasava, P. R., Jani, R. G., Goswami, H. V., Rathwa, S. D., & Tandel, F. B. (2016). Studies on clinical signs and biochemical alteration in pregnancy toxemic goats. *Veterinary World*, 9(8), 869–874. DOI: 10.14202/vetworld.2016.869-874.
- Velykyi, M. M., Apukhovska, L. I., Khomenko, A. V., Shymanskyi, I. O., Vasilevska, V. M., Lototska, O. Y., Makarova, O. O. (2013). Osoblyvosti hipokaltsiemiichnoi dii prednizolonu za riznoi zabezpechenosti orhanizmu shchuriv vitaminom D3 [Peculiarities of hypocalcaemic effect of prednisolone in rats with different vitamin D3 supply]. *Medicinal chemistry*, 13(3). DOI: 10.11603/1681-2557.2011.v13.i3.268 (in Ukrainian).
- Vergote, I. B., Ábeler, V. M., Børmer, O. P., Stigbrand, T., Trope, C., & Nustad, K. (1992). CA125 and Placental Alkaline Phosphatase as Serum Tumor Markers in Epithelial Ovarian Carcinoma. *Tumor Biology*, 13(3), 168–174. DOI: 10.1159/000217761.
- Vimalraj, S. (2020). Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene*, 754, 144855. DOI: 10.1016/j.gene.2020.144855.
- Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., Ratych, I. B. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnystvi ta veterynarnii medytsyni: dovidnyk [Laboratory methods of testing in biology, veterinary medicine and veterinary medicine: an introduction] Handbook. Lviv: SPOLOM (in Ukrainian).
- Wilkins, M. R., & Muscher-Banse, A. S. (2020). Review: Regulation of gastrointestinal and renal transport of calcium and phosphorus in ruminants. *Animal*, 14, s29—s43. DOI: 10.1017/S1751731119003197.
- Yang, X.-Y., Chen, J.-P., & Zhang, F.-X. (2009). Research on the chemical composition of Saanen goat colostrum. *International Journal of Dairy Technology*, 62(4), 500–504. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2009.00515.x.
- Yuskiv, L. L., & Vlizlo, V. V. (2013). Metabolični profil krovi koriv, khvorykh na pisliarodovu hipokaltsiemiuiu [Metabolic blood profile of cows with postpartum hypocalcaemia]. *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, 2, 76–80. DOI: 10.31210/visnyk2013.02.20 (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/nvlvet11516
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:615.86:615.271.3

Investigation of the specific toxicity of a non-steroidal anti-inflammatory veterinary drug based on celecoxib

M. L. Kondratyuk✉

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

Article info

Received 17.06.2024
Received in revised form
22.07.2024
Accepted 23.07.2024

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-0697-609-05-95
E-mail: cztvvet@ukr.net

Kondratyuk, M. L. (2024). Investigation of the specific toxicity of a non-steroidal anti-inflammatory veterinary drug based on celecoxib. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 112–118. doi: 10.32718/nvlvet11516

Laboratory studies were conducted to determine the subacute toxicity of the veterinary drug Celexib on white rats and dogs. The drug “Celexib,” based on celecoxib, is used in sports horses, dogs, fallow deer, red deer, wild pigs, and cats for the treatment of acute and chronic diseases of the musculoskeletal system (arthritis, myositis, laminitis, etc.), pain syndrome (post-operative and post-traumatic), symptomatic therapy for diseases accompanied by animal fever. When administered subcutaneously to rats, the drug “Celexib” (solution for injections) under the conditions of a subacute toxicological experiment in doses of 0.1–1.0 ml/kg does not cause hemo-, hepato- and nephrotoxic effects on the body of laboratory animals. However, 3-day administration of the drug, in the indicated doses, led to a probable ($P < 0.05$) decrease in the number of leukocytes by 14.6, 13.1, and 13.4 %, respectively. After 7 days, after stopping the administration of the drug, a tendency to decrease these indicators was observed. The exception was the tendency to increase the activity of the hepatospecific enzymes ALT and AST one and 3 days after the start of the administration of the drug, at a dose of 1.0 ml/kg of body weight, which 7 days after the cessation of subcutaneous administration of the drug, did not differ from those in the control group. When administered subcutaneously to dogs, the drug “Celexib” (solution for injections) under the conditions of a subacute toxicological experiment in doses of 0.1–1.0 ml/kg does not cause hemo-, hepato- and nephrotoxic effects on the body of laboratory animals, although a 3-day administration of the drug in the indicated doses led to a probable ($P < 0.05$) decrease in the number of leukocytes by 20.3; 19.5 and 19.8 %, respectively, which began to decrease 7 days after stopping the administration of the drug. The exception was the tendency to increase the activity of the hepatospecific enzymes ALT and AST and the concentration of urea one and 3 days after the start of administration of the drug at a dose of 1.0 ml/kg of body weight, which did not differ from those after 7 days after the cessation of subcutaneous administration of the drug in the control group. Further studies will be the next stage of pre-registration tests aimed at studying the embryotoxic and carcinogenic effect of “Celexib,” which is mandatory material of the “Safety and residue studies” section of the dossier for this medicinal product.

Key words: Celexib, rats, dogs, subacute toxicity, dose, lethality, toxicity.

Дослідження специфічної токсичності нестероїдного протизапального ветеринарного препарату на основі целекоксибу

М. Л. Кондратюк✉

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

Проведено лабораторні дослідження з визначення підгострої токсичності ветеринарного препарату “Целексіб” на білих щурах і собаках. Препарат “Целексіб” на основі целекоксибу застосовують спортивним коням, собакам, ланям європейським, оленям благородним, диким свиням і котам для лікування гострих та хронічних захворювань опорно-рухового апарату (артрити, міозити,

ламініти, тощо), больового синдрому (постопераційного та посттравматичного), симптоматичної терапії при захворюваннях, які супроводжуються гарячкою тварин. При підшкірному введенні щурам препарат “Целексіб” (розчин для ін’єкцій), за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,1–1,0 мл/кг не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин. Однак 3-добове введення препарату, у зазначених дозах, призводило до вірогідного ($P < 0,05$) зниження кількості лейкоцитів на 14,6; 13,1 та 13,4 % відповідно. Через 7 діб після припинення введення препарату спостерігалася тенденція до зниження цих показників. А також виняток складали тенденції до підвищення активності гепатоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ через одну та 3 доби від початку введення препарату, в дозі 1,0 мл/кг маси тіла, що вже через 7 діб після припинення підшкірного введення препарату не відрізнялись від таких у групі контролю. При підшкірному введенні собакам препарат Целексіб (розчин для ін’єкцій) за умов підгострого токсикологічного експерименту в дозах 0,1–1,0 мл/кг не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин, хоча 3-добове введення препарату у зазначених дозах призводило до вірогідного ($P < 0,05$) зниження кількості лейкоцитів на 20,3; 19,5 та 19,8 % відповідно, що через 7 діб після припинення введення препарату набувала тенденції до зниження. А також виняток складали тенденції до підвищення активності гепатоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ та концентрації сечовини через одну та 3 доби від початку введення препарату в дозі 1,0 мл/кг маси тіла, що вже через 7 діб після припинення підшкірного введення препарату не відрізнялись від таких у групі контролю. Подальші дослідження будуть черговим етапом передресстраційних випробувань, спрямованих на вивчення ембріотоксичної та канцерогенної дії “Целексіб”, що є обов’язковим матеріалом розділу “Дослідження щодо безпеки і залишків” досьє на даний лікарський засіб.

Ключові слова: “Целексіб”, щури, собаки, підгостра токсичність, доза, летальність, токсичність.

Вступ

Найпотужнішим інструментом анальгетичної терапії у ветеринарній медицині є НПЗП (нестероїдні протизапальні препарати). Препарати цієї групи мають відомий механізм дії, доведену ефективність, зручні у застосуванні й доступні. Проте поряд з доступністю та високою клінічною ефективністю сучасні НПЗП мають певні недоліки, зумовлені їх побічними реакціями (Anderson et al., 1996).

В останні роки особливу увагу звернено на розробку препаратів нового покоління, що зберігають такі позитивні якості сучасних НПЗП, як висока протизапальна, анальгетична та жарознижувальна активність, проте є менш токсичні без побічних реакцій (Anderson et al., 1996; Penning et al., 1997).

Целекоксіб – синтетичний препарат, що є представником коксибів та належить до групи нестероїдних протизапальних препаратів. Механізм дії препарату, як і інших представників групи нестероїдних протизапальних препаратів, полягає в інгібуванні ферменту циклооксигенази, яка забезпечує перетворення арахідонової кислоти у простагландини (Anderson et al., 1996; Bąk & Krupa, 2023). Але особливістю фармакологічних властивостей целекоксибу є те, що він є першим представником селективних інгібіторів ізоформи циклооксигенази ЦОГ-2, яка утворюється виключно у вогнищах запалення (Kim et al., 2014). Інші лікарські препарати, які до цього вважались селективними інгібіторами ЦОГ-2, а саме: мелоксикам, німесулід, етодолак, набуметон, натепер вважаються переважними інгібіторами ЦОГ-2. Тобто їх селективність до ЦОГ-2 є нижчою, ніж у коксибів (Penning et al., 1997; Kim et al., 2014). Саме відсутність впливу на ЦОГ-1 при застосуванні целекоксибу значно знижує ризик серйозних побічних ефектів з боку травної системи (порівняно з більшістю нестероїдних протизапальних засобів) (Kim et al., 2022).

У фармацевтичному портфелі лікарів ветеринарної медицини присутні лікарські препарати, що належать до групи протизапальні та протиревматичні ветеринарні препарати, нестероїдні з групи коксибів, з сильною протизапальною, анальгетичною та жарознижувальною дією – “Сімалджекс” (діюча речовина – сімі-

коксіб), препарат у вигляді таблеток. Препарат застосовується для лікування собак за больового синдрому, гострих та хронічних захворювань опорно-рухового апарату запального характеру (остеоартриті), для анальгезії та як протизапальний засіб у періопераційний період.

Спеціалістами ТОВ “ДЕВІЕ” створено новий ветеринарний лікарський засіб з торговою назвою “Целексіб”. 1 мл препарату містить діючу речовину целекоксіб – 100 мг, фармацевтична форма – розчин для ін’єкцій препарат “Целексіб” на основі целекоксибу застосовують спортивним коням, собакам, ланям європейським, оленям благородним, диким свиням і котам для лікування гострих та хронічних захворювань опорно-рухового апарату (артрити, міозити, ламініти, тощо), больового синдрому (постопераційного та посттравматичного), симптоматичної терапії при захворюваннях, які супроводжуються гарячкою тварин (Sachuk et al., 2022).

Обов’язковою характеристикою ветеринарного лікарського препарату, поряд з вивченням фармакологічних властивостей, є визначення підгострої токсичності, що визначається за стандартними методиками рекомендованими постановою Кабінету Міністрів України від 21 листопада 2007 р. № 1349 “Про затвердження положень про державну реєстрацію ветеринарних препаратів, кормових добавок, преміксів та готових кормів” зі змінами і доповненнями, внесеними постановою Кабінету Міністрів України від 3 березня 2020 року № 210 при державній реєстрації (Sachuk et al., 2023; 2024).

Отже, метою досліджень було надати токсикологічну (доклінічну) оцінку ветеринарного лікарського засобу “Целексіб” шляхом визначення його підгострої токсичності на лабораторних тваринах.

Мета дослідження

Мета роботи – проведення токсикологічної оцінки ветеринарного препарату “Целексіб”, виробництва ТОВ “ДЕВІЕ” (сmt. Літин, Україна), за умов підгострого токсикологічного експерименту на моделі білих щурів і собак.

Матеріал і методи досліджень

Доклінічне вивчення нестероїдного ветеринарного препарату на основі целекоксибу, з протизапальним та анагетичним ефектом для тварин, проведене на базі лабораторії з контролю якості, безпечності та реєстрації ветеринарних лікарських засобів і кормових добавок ТОВ “ДЕВІЕ”. Препарат застосовують спортивним коням, собакам, ланям європейським, оленям благородним, диким свиням і котам для лікування гострих та хронічних захворювань опорно-рухового апарату (артрити, міозити, ламініти, тощо), больового синдрому (постопераційного та посттравматичного), симптоматичної терапії при захворюваннях, які супроводжуються гарячкою тварин. Фармакологічні дослідження проведені в об’ємі, що визначається за стандартною методикою випробувань (Kotsiumbas et al., 2006; Koreneva et al., 2023; Kushnir et al., 2023; Lavryshyn et al., 2023; Zazharskyi et al., 2023).

Дослідження проведено у віварії ТОВ “ДЕВІЕ”. Приміщення загальною площею 50 м², де під контролем спеціалістів ТОВ “ДЕВІЕ” здійснюється утримання порівняно невеликої кількості тварин з науковою метою. Раціон харчування включає всі необхідні інгредієнти. Лабораторні тварини містилися в звичайних клітках (8 кліток) з площею підлоги 40×60 см, тобто з достатньою площею для вільного пересування та двох клітках розміром 20×40 см, де площа для пересування була зменшена в 3 рази.

Підгостру токсичність препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) досліджували на 96 лабораторних статевозрілих щурах-самках, масою 230,0–240,0 г. Препарат “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) вводили підшкірно протягом трьох діб, потім введення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для дослідів було сформовано одну контрольну та три дослідні групи по 24 щура у кожній (n = 24): тваринам контрольної групи підшкірно вводили воду для ін’єкцій, I дослідна група – тварини, яким підшкірно вводили препарат “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) у дозі 0,1 мл/кг маси тіла (терапевтична, розрахована відповідно до листівки-вкладки), II дослідна група – 0,5 мл/кг (п’ятикратна) та III дослідна група – 1,0 мл/кг (десятикратна) маси тіла відповідно.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у щурів вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму), а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загальноприйнятих методів.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили за умов тотального знекровлення під легким хлороформним наркозом до введення препарату, на першу, 4-ту і 11-ту добу експерименту відповідно.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у щурів вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму), а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загальноприйнятих методів.

Оцінювання функціонального стану організму дослідних тварин, порівняно з контрольними впродовж експерименту, проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загальноприйнятими методиками.

У стабілізованій крові тварин визначали: рівень гематокриту, кількість еритроцитів, лейкоцитів та вміст загального гемоглобіну; у сироватці крові – активність індикаторних ензимів аланінамінотрансферази (АЛТ) і аспартатамінотрансферази (АСТ), рівень загальних протеїнів, сечовини та креатиніну відповідно.

На наступному етапі досліджень вивчали підгостру токсичність препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) на 20 безпорідних собаках масою тіла (6,1–6,9) кг. Препарат “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) вводили підшкірно протягом трьох діб, потім введення завершували і спостерігали за тваринами ще 7 діб.

Для дослідів було сформовано одну контрольну та три дослідні групи по 5 собак у кожній (n = 5): тваринам контрольної групи підшкірно вводили воду для ін’єкцій, I дослідна група – тварини, яким підшкірно вводили препарат Целексиб (розчин для ін’єкцій) у дозі 0,1 мл/кг маси тіла (терапевтична, розрахована відповідно до листівки вкладки), II дослідна група – 0,5 мл/кг (п’ятикратна) та III дослідна група – 1,0 мл/кг (десятикратна) маси тіла відповідно.

У динаміці підгострого експерименту (щоденно) у собак вивчали інтегральні показники (поведінка тварин, зовнішній вигляд, реакції на зовнішні подразники, споживання води та корму), а також показники, які характеризують функції органів і систем, з використанням загальноприйнятих методів.

Відбір проб крові для гематологічних та біохімічних досліджень проводили натщесерце з підшкірної вени передпліччя до введення препарату, на першу, 4-у і 11-у добу експерименту відповідно.

Оцінювання функціонального стану організму дослідних тварин, порівняно з контрольними, впродовж експерименту проводили за визначенням клініко-біохімічних показників у крові за загальноприйнятими методиками.

У стабілізованій крові тварин визначали: кількість еритроцитів, лейкоцитів, рівень гематокриту та вміст загального гемоглобіну; у сироватці крові – активність індикаторних ензимів аланінамінотрансферази (АЛТ) і аспартатамінотрансферази (АСТ), рівень загальних протеїнів, а також вміст кінцевих продуктів протеїнового розкладу – сечовини та креатиніну відповідно.

Маніпуляції над лабораторними тваринами здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів (European convention, 1986; Council Directive 86/609/EEC, 1986; Statia 26 Zakonu Ukrainy № 5456-VI, 2012), що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Strasbourg, 1986).

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм

StatPlus 7.6.5.0. Дані демонстрували у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням за рівнем довірчої ймовірності 95 %, вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Фішера.

Результати та їх обговорення

Установлено, що під час дослідження загального клінічного стану щурів усіх дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено

порівняно з контролем. Протягом усього терміну спостереження (11 діб) тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість; порушення дихання, сечовиділення та дефекації не виявляли.

Результати дослідження рівня гематологічних показників у крові щурів, у динаміці підшкірного введення препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій), наведено в [таблиці 1](#).

Таблиця 1

Рівень гематологічних показників периферичної крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату Целексиб (розчин для ін’єкцій) ($M \pm m$; $n = 6$)

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	перша доба	4-а доба	7-а доба після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм ³				
Контроль	97,55 ± 0,65	97,78 ± 0,89	98,12 ± 0,58	97,09 ± 0,75
0,1 мл/кг	96,89 ± 0,56	97,19 ± 0,94	98,36 ± 0,72	97,71 ± 0,65
0,5 мл/кг	96,49 ± 0,60	96,97 ± 0,95	97,83 ± 0,85	97,33 ± 0,92
1,0 мл/кг	97,28 ± 0,75	97,32 ± 0,95	97,68 ± 0,79	97,41 ± 0,91
Еритроцити (RBC), 10 ¹² /дм ³				
Контроль	7,55 ± 0,14	7,52 ± 0,21	7,63 ± 0,19	7,35 ± 0,26
0,1 мл/кг	7,66 ± 0,14	7,72 ± 0,21	7,79 ± 0,25	7,27 ± 0,27
0,5 мл/кг	7,50 ± 0,16	7,57 ± 0,24	7,85 ± 0,21	7,39 ± 0,22
1,0 мл/кг	7,51 ± 0,18	7,55 ± 0,30	7,97 ± 0,24	7,49 ± 0,23
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	46,45 ± 0,39	46,35 ± 0,50	47,27 ± 0,31	46,91 ± 0,41
0,1 мл/кг	46,98 ± 0,31	46,81 ± 0,39	47,40 ± 0,33	46,73 ± 0,35
0,5 мл/кг	46,22 ± 0,43	46,36 ± 0,31	47,09 ± 0,60	46,85 ± 0,24
1,0 мл/кг	46,64 ± 0,26	46,76 ± 0,34	47,52 ± 0,37	47,10 ± 0,41
Лейкоцити (WBC), 10 ⁹ /дм ³				
Контроль	13,01 ± 0,21	13,11 ± 0,19	13,25 ± 0,0,29	12,98 ± 0,19
0,1 мл/кг	13,07 ± 0,22	12,94 ± 0,26	11,32 ± 0,21*	11,67 ± 0,23
0,5 мл/кг	13,16 ± 0,23	13,08 ± 0,25	11,51 ± 0,16*	11,79 ± 0,23
1,0 мл/кг	12,97 ± 0,15	12,89 ± 0,21	11,47 ± 0,16*	11,76 ± 0,20

Примітка: * – $P < 0,05$ – щодо контролю

З результатів, наведених у [таблиці 1](#), виявляється, що під час визначення гематологічних показників крові дослідних щурів патологічних змін, які свідчать про гемотоксичний вплив препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій), у тварин не зареєстровано. Вміст загального гемоглобіну, рівень гематокриту та кількість еритроцитів у крові щурів до та після підшкірного введення за значенням статистично не змінювались. А в усіх дослідних групах через 3 доби введення препарату спостерігали вірогідне ($P < 0,05$) зниження кількості лейкоцитів на 14,6; 13,1 та 13,4 % відповідно, що через 7 діб після припинення введення препарату набувала тенденції до зниження.

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові щурів у динаміці підшкірного введення препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) наведено в [табл. 2](#). З даних таблиці видно, що значення біохімічних показників крові щурів як контрольної, так і дослідних груп в динаміці введення та через 7 діб після припинення застосування препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) у дозах 0,1, 0,5 і 1,0 мл/кг перебували в межах фізіологічної норми та вірогідно не відрізнялися між собою. Виняток складали тенденції до підви-

щення активності гепатоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ через одну та 3 доби від початку введення препарату в дозі 1,0 мл/кг маси тіла, що вже через 7 діб після припинення підшкірного введення препарату не відрізнялись від таких у групі контролю.

На даному етапі досліджень можна зробити висновок, що підшкірне введення щурам препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту.

На наступному етапі експерименту встановлено, що під час дослідження загального клінічного стану собак усіх дослідних груп суттєвих змін у поведінці та зовнішньому вигляді не виявлено порівняно з контролем. Протягом всього терміну спостереження (11 діб) тварини були активними, мали задовільний апетит, добре реагували на звукові та світлові подразники, у них зберігалась рефлекторна збудливість; порушення дихання, сечовиділення та дефекації не виявляли.

Результати дослідження гематологічних показників крові собак наведено в [таблиці 3](#).

Таблиця 2

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові щурів за підгострого підшкірного введення препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) ($M \pm m$; $n = 6$)

Дослідні групи	Терміни дослідження, доба			
	до введення	перша доба	4-а доба	7-а доба після припинення введення
Активність АЛТ, мкмоль/год×см ³				
Контроль	2,76 ± 0,07	2,73 ± 0,05	2,83 ± 0,07	2,73 ± 0,06
0,1 мл/кг	2,79 ± 0,06	2,76 ± 0,10	2,84 ± 0,08	2,68 ± 0,09
0,5 мл/кг	2,73 ± 0,08	2,78 ± 0,10	2,86 ± 0,09	2,77 ± 0,07
1,0 мл/кг	2,79 ± 0,08	2,79 ± 0,09	2,89 ± 0,12	2,78 ± 0,09
Активність АСТ, мкмоль/год×см ³				
Контроль	3,13 ± 0,10	3,09 ± 0,09	3,24 ± 0,11	2,96 ± 0,07
0,1 мл/кг	3,17 ± 0,09	3,23 ± 0,10	3,29 ± 0,14	2,92 ± 0,09
0,5 мл/кг	3,07 ± 0,16	3,12 ± 0,14	3,38 ± 0,13	3,04 ± 0,15
1,0 мл/кг	3,21 ± 0,13	3,28 ± 0,15	3,47 ± 0,15	3,06 ± 0,10
Загальні протеїни, г/дм ³				
Контроль	57,32 ± 0,81	57,27 ± 0,57	57,23 ± 0,50	57,41 ± 0,53
0,1 мл/кг	57,60 ± 0,52	57,62 ± 0,79	57,79 ± 0,66	57,68 ± 0,54
0,5 мл/кг	57,43 ± 0,49	57,39 ± 0,60	57,82 ± 0,58	57,51 ± 0,57
1,0 мл/кг	57,51 ± 0,66	57,58 ± 0,73	57,85 ± 0,56	57,43 ± 0,67
Креатинін, мкмоль/дм ³				
Контроль	97,76 ± 0,82	97,82 ± 0,75	97,73 ± 0,71	97,56 ± 0,76
0,1 мл/кг	97,39 ± 0,85	97,46 ± 0,86	97,52 ± 0,73	97,47 ± 0,81
0,5 мл/кг	97,42 ± 0,75	97,51 ± 0,64	97,64 ± 0,81	97,68 ± 0,79
1,0 мл/кг	97,84 ± 0,80	97,92 ± 0,82	98,12 ± 0,69	97,73 ± 0,95
Сечовина, ммоль/дм ³				
Контроль	6,51 ± 0,12	6,56 ± 0,13	6,63 ± 0,12	6,40 ± 0,13
0,1 мл/кг	6,45 ± 0,14	6,52 ± 0,13	6,69 ± 0,11	6,31 ± 0,11
0,5 мл/кг	6,53 ± 0,14	6,58 ± 0,17	6,75 ± 0,10	6,43 ± 0,15
1,0 мл/кг	6,49 ± 0,11	6,55 ± 0,10	6,79 ± 0,19	6,46 ± 0,14

Таблиця 3

Рівень гематологічних показників у периферичній крові собак за підгострого підшкірного введення препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) ($M \pm m$; $n = 5$)

Дослідні групи	Терміни дослідження, діб			
	до введення	перша доба	4-а доба	7-а доба після припинення введення
Загальний гемоглобін (HGB), г/дм ³				
Контроль	159,54 ± 1,26	159,75 ± 0,90	163,24 ± 1,37	166,57 ± 1,13
0,1 мл/кг	158,28 ± 2,07	158,53 ± 1,43	164,39 ± 1,70	167,19 ± 1,37
0,5 мл/кг	159,79 ± 1,03	159,82 ± 1,63	164,86 ± 1,55	167,63 ± 1,82
1,0 мл/кг	158,12 ± 1,31	158,35 ± 0,93	162,73 ± 1,66	165,89 ± 1,46
Еритроцити (RBC), 10 ¹² /дм ³				
Контроль	6,73 ± 0,13	6,76 ± 0,12	6,91 ± 0,12	6,79 ± 0,13
0,1 мл/кг	6,69 ± 0,12	6,73 ± 0,12	6,94 ± 0,12	6,83 ± 0,13
0,5 мл/кг	6,67 ± 0,11	6,70 ± 0,13	7,00 ± 0,14	6,81 ± 0,14
1,0 мл/кг	6,71 ± 0,13	6,78 ± 0,12	6,85 ± 0,12	6,84 ± 0,17
Гематокрит (HCT), %				
Контроль	34,28 ± 0,49	34,32 ± 0,57	34,58 ± 0,40	34,17 ± 0,33
0,1 мл/кг	34,63 ± 0,41	34,69 ± 0,37	34,62 ± 0,37	34,13 ± 0,49
0,5 мл/кг	34,36 ± 0,39	34,43 ± 0,36	34,79 ± 0,37	34,24 ± 0,31
1,0 мл/кг	34,42 ± 0,34	34,48 ± 0,38	34,86 ± 0,41	34,28 ± 0,42
Лейкоцити (WBC), 10 ⁹ /дм ³				
Контроль	10,31 ± 0,17	10,35 ± 0,15	10,46 ± 0,15	10,42 ± 0,16
0,1 мл/кг	10,28 ± 0,18	10,21 ± 0,15	8,34 ± 0,17*	10,17 ± 0,14
0,5 мл/кг	10,23 ± 0,14	10,18 ± 0,18	8,42 ± 0,13*	10,21 ± 0,12
1,0 мл/кг	10,30 ± 0,16	10,24 ± 0,13	8,39 ± 0,13*	10,24 ± 0,16

Установлено, що вміст загального гемоглобіну, рівень гематокриту та кількість еритроцитів у крові собак до та після підшкірного введення за значенням статистично не змінювались. А в усіх дослідних групах через 3 доби введення препарату спостерігали

вірогідне ($P < 0,05$) зниження кількості лейкоцитів на 20,3; 19,5 та 19,8 % відповідно, що через 7 діб після припинення введення препарату набувала тенденції до зниження. Тобто патологічних змін рівня гематологічних показників, що свідчать про гемотоксичний

вплив препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій), у собак дослідних груп не виявлено.

Результати дослідження рівня показників функціонального стану печінки та нирок у сироватці крові собак у динаміці підшкірного введення препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) наведено в табл. 4. Установлено, що рівень основних біохімічних показників у сироватці крові собак за підшкірного введення препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) протягом

трьох діб та через 7 діб після припинення введення за значенням статистично не змінювались та перебували у межах їх фізіологічних значень. Виняток складали тенденції до підвищення активності гепатоспецифічних ензимів АЛТ і АСТ та концентрації сечовини через одну та 3 доби від початку введення препарату в дозі 1,0 мл/кг маси тіла, що вже через 7 діб після припинення підшкірного введення препарату не відрізнялись від таких у групі контролю.

Таблиця 4

Динаміка рівня основних біохімічних показників сироватки крові собак за підгострого підшкірного введення препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) ($M \pm m$; $n = 5$)

Дослідні групи	Терміни дослідження, діб			
	до введення	перша доба	4-та доба	7-ма доба після припинення введення
Активність АЛТ, мкмоль/год $\times$ см ³				
Контроль	0,92 $\pm$ 0,04	0,94 $\pm$ 0,04	0,90 $\pm$ 0,07	0,96 $\pm$ 0,06
0,1 мл/кг	0,91 $\pm$ 0,06	0,93 $\pm$ 0,06	0,94 $\pm$ 0,05	0,90 $\pm$ 0,05
0,5 мл/кг	0,93 $\pm$ 0,08	0,96 $\pm$ 0,07	0,97 $\pm$ 0,06	0,94 $\pm$ 0,07
1,0 мл/кг	0,91 $\pm$ 0,07	0,99 $\pm$ 0,06	1,01 $\pm$ 0,07	0,97 $\pm$ 0,03
Активність АСТ, мкмоль/год $\times$ см ³				
Контроль	1,45 $\pm$ 0,08	1,48 $\pm$ 0,08	1,40 $\pm$ 0,07	1,51 $\pm$ 0,07
0,1 мл/кг	1,41 $\pm$ 0,07	1,44 $\pm$ 0,07	1,46 $\pm$ 0,06	1,45 $\pm$ 0,06
0,5 мл/кг	1,49 $\pm$ 0,08	1,52 $\pm$ 0,09	1,50 $\pm$ 0,08	1,48 $\pm$ 0,07
1,0 мл/кг	1,42 $\pm$ 0,07	1,57 $\pm$ 0,10	1,54 $\pm$ 0,07	1,53 $\pm$ 0,09
Загальні протеїни, г/дм ³				
Контроль	61,24 $\pm$ 0,35	61,33 $\pm$ 0,41	61,24 $\pm$ 0,38	61,65 $\pm$ 0,43
0,1 мл/кг	61,43 $\pm$ 0,47	61,45 $\pm$ 0,42	61,11 $\pm$ 0,45	61,72 $\pm$ 0,44
0,5 мл/кг	61,18 $\pm$ 0,39	61,28 $\pm$ 0,32	61,02 $\pm$ 0,40	61,58 $\pm$ 0,34
1,0 мл/кг	61,65 $\pm$ 0,33	61,86 $\pm$ 0,37	61,97 $\pm$ 0,54	61,87 $\pm$ 0,46
Креатинін, мкмоль/дм ³				
Контроль	112,62 $\pm$ 0,71	112,70 $\pm$ 0,79	112,89 $\pm$ 0,82	112,46 $\pm$ 0,83
0,1 мл/кг	112,74 $\pm$ 0,77	112,81 $\pm$ 0,66	112,72 $\pm$ 0,61	112,52 $\pm$ 0,72
0,5 мл/кг	112,81 $\pm$ 0,94	112,93 $\pm$ 0,76	113,04 $\pm$ 0,78	112,79 $\pm$ 0,90
1,0 мл/кг	112,89 $\pm$ 0,84	113,02 $\pm$ 0,82	113,37 $\pm$ 0,71	112,95 $\pm$ 0,77
Сечовина, ммоль/дм ³				
Контроль	5,15 $\pm$ 0,12	5,20 $\pm$ 0,14	5,22 $\pm$ 0,10	5,28 $\pm$ 0,16
0,1 мл/кг	5,16 $\pm$ 0,10	5,21 $\pm$ 0,12	5,25 $\pm$ 0,15	5,30 $\pm$ 0,13
0,5 мл/кг	5,20 $\pm$ 0,11	5,23 $\pm$ 0,16	5,32 $\pm$ 0,14	5,33 $\pm$ 0,12
1,0 мл/кг	5,18 $\pm$ 0,12	5,29 $\pm$ 0,14	5,38 $\pm$ 0,12	5,35 $\pm$ 0,15

Отже, підшкірне введення собакам препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) у дозах 0,1; 0,5 і 1,0 мл/кг маси тіла протягом трьох діб загалом не впливає на клініко-біохімічні показники крові та не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту.

Висновки

1. Підшкірне введення щурам препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм лабораторних тварин за умов підгострого токсикологічного експерименту.

2. Підшкірне введення собакам препарату “Целексиб” (розчин для ін’єкцій) у дозах 0,1; 0,5 і 1,0 мл/кг маси тіла протягом трьох діб загалом не впливає на клініко-біохімічні показники крові та не спричинює гемо-, гепато- та нефротоксичної дії на організм тва-

рин за умов підгострого токсикологічного експерименту.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть черговим етапом передреєстраційних випробувань, спрямованих на вивчення ембріотоксичної дії “Целексиб”, що є обов’язковим матеріалом розділу “Дослідження щодо безпеки і залишків” досяє на даний лікарський засіб.

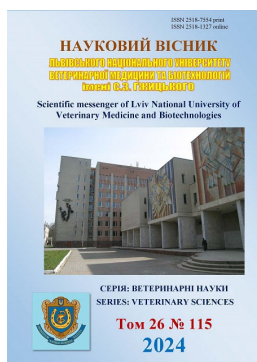
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Anderson, G. D., Hauser, S. D., McGarity, K. L., Bremer, M. E., Isakson, P. C., & Gregory, S. A. (1996). Selective inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *The Journal of*

- clinical investigation, 97(11), 2672–2679. DOI: 10.1172/JCI118717.
- Bak, U., & Krupa, A. (2023). Challenges and Opportunities for Celecoxib Repurposing. *Pharmaceutical research*, 40(10), 2329–2345. DOI: 10.1007/s11095-023-03571-4.
- Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Communities L 358*. 1986. P. 1-29.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. 53 p.
- Kim, J., Seo, B. B., Hong, K. H., Kim, S. E., Kim, Y. M., & Song, S. C. (2022). Long-term anti-inflammatory effects of injectable celecoxib nanoparticle hydrogels for Achilles tendon regeneration. *Acta biomaterialia*, 144, 183–194. DOI: 10.1016/j.actbio.2022.03.033.
- Kim, S. J., Toma, H., Shah, R., Kompella, U. B., Vooturi, S. K., & Sheng, J. (2014). The safety, pharmacokinetics, and efficacy of intraocular celecoxib. *Investigative ophthalmology & visual science*, 55(3), 1409–1418. DOI: 10.1167/iov.13-13667.
- Koreneva, Y. M., Orobchenko, O. L., Romanko, M. Y., Malova, N. G., Sachuk, R. M., Gutj, B. V., & Radzykhovskiy, M. L. (2023). Influence of high-bromine poultry products on clinical-biochemical blood parameters of white rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(1), 125–130. DOI: 10.15421/022319.
- Kotsiumbas, I. Ia., Malyk, O. H., Patereha, I. P. ta in. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv* [Preclinical studies of veterinary medicinal products]. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Kushnir, V., Kushnir, I., Gutj, B., Kutsan, O., Nychyk, S., Simonov, M., & Guta, Z. (2023). Comparative assessment of different methods of studying skin toxicity of powder for wounds. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(109), 13–18. DOI: 10.32718/nvlvet10903.
- Lavryshyn, Y., Gutj, B., Verveha, B., Kutsan, O., Hunchak, V., Khariv, I., Kushnir, V., Vasiv, R., Leskiv, K., & Guta, Z. (2023). Definition of Acute Toxicity and Cumulative Properties of the Drug “Lipointersil”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(112), 83–89. DOI: 10.32718/nvlvet11214.
- Penning, T. D., Talley, J. J., Bertenshaw, S. R., Carter, J. S., Collins, P. W., Docter, S., Graneto, M. J., Lee, L. F., Malecha, J. W., Miyashiro, J. M., Rogers, R. S., Rogier, D. J., Yu, S. S., AndersonGD, Burton, E. G., Cogburn, J. N., Gregory, S. A., Koboldt, C. M., Perkins, W. E., Seibert, K., ... Isakson, P. C. (1997). Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib). *Journal of medicinal chemistry*, 40(9), 1347–1365. DOI: 10.1021/jm960803q.
- Sachuk, R. M., Gutj, B. V., Radzyhovskiy, M. L., Velesyk, T. A., Lyko, S. M., Katsaraba, O. A., Pepko, V. O., & Yakuta, O. O. (2023). Research on the embryotoxic effect and carcinogenicity of the drug “BTF plus” – a means for normalizing metabolic processes in animals and poultry. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 6(3), 17–23. DOI: 10.32718/ujvas6-3.04.
- Sachuk, R. M., Gutj, B. V., Velesyk, T. A., Katsaraba, O. A., Pepko, V. O., Barylo, B. S., Orikhivskiy, T. V., Zhyhalyuk, S. V., Sachuk, R. M., Bodnar, P. V., & Bodnaruk, V. Y. (2024). The current state of development and veterinary support of pheasant farming in Ukraine. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 7(1), 9–14. DOI: 10.32718/ujvas7-1.02.
- Sachuk, R. M., Tverdyi, Yu. M., & Kondratiuk M. L. (2022). *Tekhnichni umovy Ukrainy 21.2-40781800-043:2024 “Tseleksyb”*. DNDKI vetpreparativ ta kormovykh dobavok, Lviv (in Ukrainian).
- Sachuk, R., Gutj, B., Stravskyy, Y., Katsaraba, O., Dyshkant, O., & Kalynovska, L. (2023). Research on the specific toxicity of the drug “BTF plus” – a means for normalizing metabolic processes in animals and poultry. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(111), 33–42. DOI: 10.32718/nvlvet11106.
- Sachuk, R., Gutj, B., Velesyk, T., Lyko, S., Katsaraba, O., Pepko, V., Portukhai, O., & Yakuta, O. (2023). Experimental evaluation of the acute toxicity and irritant effect of “BTF plus” – a veterinary medicinal product for the normalization of metabolic processes in animals and poultry. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural Sciences*, 25(99), 14–21. DOI: 10.32718/nvlvet-a9903.
- Stattia 26 Zakonu Ukrainy № 5456-VI vid 16.10.2012 r. “Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia” (in Ukrainian).
- Zazharskyi, V. V., Bigdan, O. A., Parchenko, V. V., Karpenko, Y. V., Zazharska, N. M., Mykhailiuk, Y. O., Kulishenko, O. M., Davydenko, P. O., Kulish, S. M., & Gutj, B. V. (2024). Toxicity parameters of a new 1,2,4-triazole derivative when subcutaneously injected to guinea pigs. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 15(1), 166–170. DOI: 10.15421/022424.



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/nvlvet11517
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:636.7:616.34-002:616.993.192.1

Cryptosporidiosis in puppies: clinical and epizootical characteristics

O. A. Dubova[✉], D. V. Feshchenko, A. A. Dybovyi, V. V. Zakharin

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 20.06.2024
Received in revised form
22.07.2024
Accepted 23.07.2024

Polissia National University,
Sary Blvd., 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.
Tel.: +38-093-394-40-09
E-mail: oxdubova@gmail.com

Dubova, O. A., Feshchenko, D. V., Dybovyi, A. A., & Zakharin, V. V. (2024). Cryptosporidiosis in puppies: clinical and epizootical characteristics. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 119–125. doi: 10.32718/nvlvet11517

Gastrointestinal diseases of puppies aged 2–6 months account for 62% of all pathologies of these animals registered in the clinic. The lifestyle of dogs is associated with close tactile contact with the environment. The presence of protozoa in the digestive tract causes the inclusion of its representatives in the pathological process, which leads to the complication of disorders that have arisen due to various etiological factors. The study aimed to determine the role of the ubiquitous protozoa *Cryptosporidium* spp. in the pathogenesis of digestive tract diseases in puppies. General clinical, laboratory tests of blood (haematological, biochemical), faeces (coprogram, parasitological), statistical processing were performed. It was found that protozoa were detected in 52 % of sick animals with digestive disorders. The protozoan fauna included *Cryptosporidium* spp. (100 %), *Isospora* spp. (29 %), *Giardia lamblia* (21 %). Animals with cryptosporidium were examined without associations. The manifestation of the disease was noted most often in puppies with weak immune system functions, especially in the age group of 4–5 months, which is associated with the period of tooth change and a decrease in the overall immunological reactivity of the body. Clinically, the disease is characterized by enteritis development with accompanying symptoms. A characteristic clinical sign that should guide further diagnostic search is watery diarrhoea with an unpleasant odour, foamy, mucus, sometimes blood streaks. Laboratory findings include hypoalbuminemia with a decrease in the albumin-globulin ratio, hyperbilirubinaemia due to conjugated bilirubin, hyperfermentation of indicator enzymes of the liver and pancreas, and uremia. Such indicators indicate concomitant insufficiency of the digestive glands – the liver and pancreas, and a general inflammatory reaction. In coprological diagnostics, the qualitative data of the coprogramme confirm the lesions of the small intestine, liver and pancreas. Examination of fecal smears stained by the Ziehl-Nielsen method revealed cryptosporidium oocysts. The average intensity of invasion was 786.4 ± 23.1 oocysts per gram of feces.

Key words: cryptosporidiosis, coprological diagnosis, clinical and laboratory diagnosis, *Cryptosporidium* spp.

Криптоспоридіоз цуценят: клініко-епізоотична характеристика

О. А. Дубова[✉], Д. В. Фещенко, А. А. Дубовий, В. В. Захарін

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

Шлунково-кишкові захворювання цуценят вікової групи 2–6 міс. займають 62 % від усіх патологій цих тварин, зареєстрованих у клініці. Спосіб життя собак пов'язаний з тісним тактильним контактом із зовнішнім середовищем. Присутність протозоофауни в травному тракті спричиняє включення її представників у патологічний процес, що призводить до ускладнення розладів, які виникли в силу різних етіологічних факторів. Мета роботи – визначення ролі повсюдно поширених найпростіших *Cryptosporidium* spp. у патогенезі захворювань травного тракту у цуценят. Проводили загальні клінічні, лабораторні дослідження крові (гематологічні, біохімічні), фекалій (копрограма, паразитологічні), статистичну обробку. З'ясовано, що найпростіші були виявлені у 52 % хворих тварин з розладами травлення. Протозойна фауна включала *Cryptosporidium* spp. (100 %), *Isospora* spp. (29 %), *Giardia lamblia* (21 %). Досліджували тварин з криптоспоридіями, без асоціацій. Маніфестація хвороби виявлена найбільше у цуценят зі слабкими функціями імунної системи, особливо у віковій категорії 4–5 місяців, що пов'язано з періодом зміни зубів і падінням

загальної імунологічної реактивності організму. Клінічно хвороба характеризується розвитком ентериту з симптомами, що його супроводжують. Характерною клінічною ознакою, що має спрямовувати подальший пошук в діагностиці, є водяниста діарея неприємного запаху, піниста, зі слизом, інколи прожилками крові. Лабораторно визначено гіпоальбумінемію зі зниженням альбумін-глобулінового співвідношення, гіпербілірубінемію за рахунок кон'югованого білірубину, гіперферментацію індикаторних ферментів печінки та підшлункової залози, уремію. Такі показники вказують на супутню недостатність дігестивних залоз – печінки та підшлункової залози, загальну запальну реакцію. За копрологічної діагностики якісні дані копрограми підтверджують ураження тонкого відділу кишечника, печінки та підшлункової залози. Шляхом дослідження мазків фекалій, зафарбованих за методом Ціля-Нільсена, виявляються ооцисти криптоспоридій. Середня інтенсивність інвазії $786,4 \pm 23,1$ ооцист в грамі фекалій.

Ключові слова: криптоспоридіоз, копрологічна діагностика, клініко-лабораторна діагностика, *Cryptosporidium* spp., ентерит, цуценята

Вступ

Криптоспоридіоз цуценят є захворюванням, що спричиняє значну шкоду здоров'ю тварин (Rosanowski et al., 2018; Piekara- Stępińska et al., 2021; Murnik et al., 2022). Будучи по суті опортуністичною інфекцією, хвороба часто супроводжує шлунково-кишкові розлади іншого генезу (Sannella et al., 2019).

Збудником є *Cryptosporidium* spp. Tyzzer, 1912 – найпростіший організм, що належить до типу *Apicomplexa* Levine, 1970, класу *Conoidasida* Levine, 1988, субкласу *Coccidia* Leukart, 1879. Цей організм розвивається за кокцидійним циклом, але, на відміну від кишкових кокцидій інших видів, є екстраплазматичним паразитом. Він втручається в клітину, але перебуває між клітинною оболонкою та цитоплазмою (Deshpande et al., 2015; Ayinmode et al., 2018).

Можливість інвазії собак криптоспоридіями існує повсюдно (Fehlberg et al., 2021; Cao et al., 2022). Це багато в чому пов'язане з тим, що деякі види цих найпростіших мають низьку видоспецифічність і надзвичайно поширені в навколишньому середовищі, а завдяки формуванню цисти їм притаманна значна стійкість до екстремальних умов доколишнього середовища (Khan et al., 2018; Guo et al., 2021; Barbosa et al., 2023; Barbosa et al., 2024). Відомо, що спосіб життя собак пов'язаний з тісним тактильним контактом із зовнішнім середовищем. Отже, ймовірність інвазії надто висока (Kostopoulou et al., 2017; Costa et al., 2020). За звичайних умов адекватного функціонування імунної системи криптоспоридії можуть перебувати в організмі тварин як слабопатогенна паразитофауна (Feng et al., 2018; Guo et al., 2021). Однак за умов розвитку захворювань шлунково-кишкового тракту, до прикладу, незаразної етіології або харчових отруєнь, створюються умови для активізації збудників і переходу їх зі статусу слабопатогенних у статус збудника захворювання з подальшою маніфестацією (Feng et al., 2018; Wang et al., 2018; Guo et al., 2021).

У структурі захворювань цуценят ураження шлунково-кишкового тракту складають близько 63 % від усіх захворювань цієї вікової категорії (Mateo et al., 2017; Piekara-Stępińska, 2021; Murnik et al., 2022). У більшості випадків діагностика травних розладів проводиться з використанням загального клінічного дослідження. Також застосовують клінічний аналіз крові. Така діагностика в більшості випадків дає уявлення про загальний стан організму, функціонування окремих його систем, ступінь ураження органів та визначає загальне розуміння щодо стану обмінних проце-

сів. Однак такі дослідження в своїй масі не визначають причини виявлених розладів.

Для розширення уявлення про процеси, що відбуваються в шлунково-кишковому тракті, потрібно проводити розгорнуті копрологічні дослідження, до складу яких входить визначення копрограми, а також паразитологічні методи визначення діагностичних критеріїв гельмінтозів і протозоозів. У разі необхідності проводяться мікробіологічні дослідження. Такий комплексний підхід дозволяє виявити роль паразитичних організмів у патогенезі гастроентероколітів (Alves et al., 2018; Mirshekari et al., 2019).

Мета дослідження

Мета роботи – встановлення ролі криптоспоридіозу в розвитку захворювань шлунково-кишкового тракту у цуценят.

Для досягнення мети поставлені завдання:

- вивчити поширення криптоспоридіозу в структурі захворювань шлунково-кишкового тракту цуценят;
- дослідити клінічні ознаки, лабораторні зміни крові та критерії діагностики криптоспоридіозу;
- провести аналіз впливу криптоспоридій на перебіг захворювань шлунково-кишкового тракту цуценят.

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом дослідження були цуценята віком 2–6 міс., пацієнти клініки ветеринарної медицини Поліського національного університету, м. Житомир.

Дослідна група – цуценята, хворі на гастроентероколіти, у кількості 20 тварин.

Контрольна група – здорові цуценята, 20 тварин.

В обидві групи для проведення досліджень включили тварин, які дегельмінтизовані, з метою виключення додаткового впливу гельмінтів (*Toxocara canis* Werner, 1782, *Tocascaris leonine* Linstow, 1902, *Dipylidium caninum* Linnaeus, 1758), що найчастіше трапляються у даної вікової категорії собак, на патогенез розладів, що вивчаються. Також всі цуценята були вакциновані проти вірусних захворювань.

Проводили клінічне дослідження загальними методами.

Лабораторні дослідження виконували з використанням гематологічного аналізатора *Abacus Vet 5* (Diatron, Австрія) та біохімічного аналізатора *Chem 7* (Erba, Німеччина). Визначали уміст гемоглобіну в крові, кількість формених елементів, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ). Серед біохімічних параметрів обрали показники кількості загального білка,

альбумінів, уміст загального та прямого білірубину, активність індикаторних ферментів аспартатамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансамінази (АлАТ), γ -ГГТ (γ -гамаглутамілтранспептидази), ферментів підшлункової залози α -амілази, ліпази, концентрацію креатиніну та сечовини у сироватці крові.

Копрологічне дослідження проводили з використанням свіжих фекалій, не пізніше двох годин після їх відбору. Досліджували нативні мазки, які забарвлювали метиленовим синім для встановлення загальної структури і конфігурації калових мас. Фарбування розчином Люголя проводили з метою встановлення зерен крохмалю. Забарвлення розчином судану III здійснювали з метою визначення нейтрального жиру в структурі фекалій.

Для визначення ооцист кокцидій застосовували метод флотації у насиченому розчині цукру, а підрахунок інтенсивності інвазії проводили за методом Стола. Окрім того, виготовляли мазки фекалій, фіксували та фарбували розчинами карбол-фуксину і метиленового синього за методом Циля-Нільсена для встановлення ооцист *Cryptosporidium* spp.

Статистичні методи обчислення отриманих результатів включали в себе визначення достовірності різниці між вибірковими дисперсіями за F-критерієм Фішера. Розрахунки проводили з використанням ІТ-застосунку *Statistica Professional 13.3*. Достовірність різниці оцінювали на довірчому рівні $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

За даними статистичної звітності клініки ветеринарної медицини Поліського національного університету, за 2023 рік було зареєстровано 1170 випадків захворювань цуценят віком 2–6 міс., з яких на частку розладів шлунково-кишкового тракту припав 731 випадок (62,2 %). Основними клінічними ознаками були: температура тіла у межах референтних значень або субфебрильна лихоманка в межах 39,3–39,6 °С, апетит відсутній у 67 % випадків, погіршений, а у 7 % випадків збережений. Споживання води в більшості випадків збережене. За проведення поверхневої та глибокої пальпації черева виявляли болючість та напруженість черева майже в усіх випадках. Блювота як симптом зареєстрована у 65 % випадків. Діарея супроводжувала 57 % випадків, причому в 34 % мала профузний характер, а структура фекалій була за консистенцією від кашкоподібної до водянистої, в окремих випадках з домішками слизу та прожилками крові.

Ми створили окрему підгрупу в кількості 100 собак, в якій проводили дослідження фекалій з використанням експрес-тестів для виявлення найпростіших (криптоспоридії, гіардії, ізоспори). У 52 цуценят (52 % досліджених тварин) виявили протозойну фауну, склад якої включав *Isospora* spp. Schneider, 1881, *Giardia lamblia* (Lambl, 1859) Kof & Christiansen, 1915, *Cryptosporidium* spp. Tyzzer, 1912 (рис. 1).

Таким чином, в дослідженій групі цуценят з виявленою протозойною фауною криптоспоридії були встановлені в усіх випадках. Інші найпростіші могли

створювати асоціації в різних співвідношеннях, але вивчення патогенетичних особливостей асоціацій є предметом наших наступних досліджень.

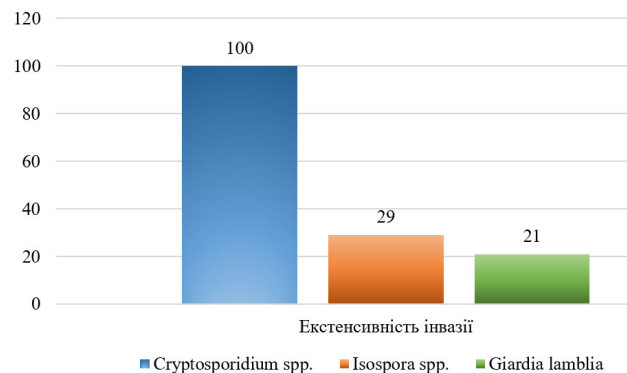


Рис. 1. Діаграма екстенсивності протозойної інвазії у цуценят з гастроентеритом за участі найпростіших

Об'єктом нашої уваги стали тварини, хворі на гастроентерити, які були уражені *Cryptosporidium* spp. Ми припустили, що саме ці найпростіші організми стали етіологічним фактором у розвитку розладів шлунково-кишкового тракту цуценят.

Середня інтенсивність інвазії становила $786,4 \pm 23,1$ ооцист в грамі фекалій.

Клінічні ознаки цуценят, у яких було виявлено збудників криптоспоридіозу, включали діареї, інколи профузного характеру. Калові маси водянисті, зеленувато-коричневого або жовтувато-коричневого кольору, з піною, в більшості випадків вкриті слизом, інколи містять прожилки крові. Вони завжди мають неприємний запах. Отже, незважаючи на неспецифічний характер ознак діареї, водянистість, наявність слизу і піни вважається діагностичним критерієм, який повинен спрямовувати дослідника на пошук збудника *Cryptosporidium* spp. (Rosanowski et al., 2018; Guo et al., 2021; Murnik et al., 2022).

Апетит тварин може бути погіршений, а може бути збережений.

Внаслідок дегідратації організму цуценят швидко худнуть, згодом розвиваються ознаки інтоксикації.

За проведення аналізу вікової приуроченості захворювання встановлено (рис. 2), що найчастіше клінічно проявлений криптоспоридіоз трапляється у тварин віком 4–5 місяців.

Відомо, що криптоспоридіоз є опортуністичною інфекцією. Маніфестація її відбувається на фоні зниження природної резистентності, викликаного різними факторами (Bouazid et al., 2013; Sannella et al., 2019). Враховуючи те, що гельмінтози та вірусні інфекції виключені за умовами дослідження, послаблення імунологічного стану може бути пов'язано з тим, що в цей час у цуценят змінюються зуби (Piekara-Stępińska et al., 2021; Murnik et al., 2022). Це надає можливість криптоспоридіям активізуватися і брати участь в перебігу розладів шлунково-кишкового тракту, ускладнюючи їх.

Лабораторні показники крові зазнають певних змін (табл. 1).

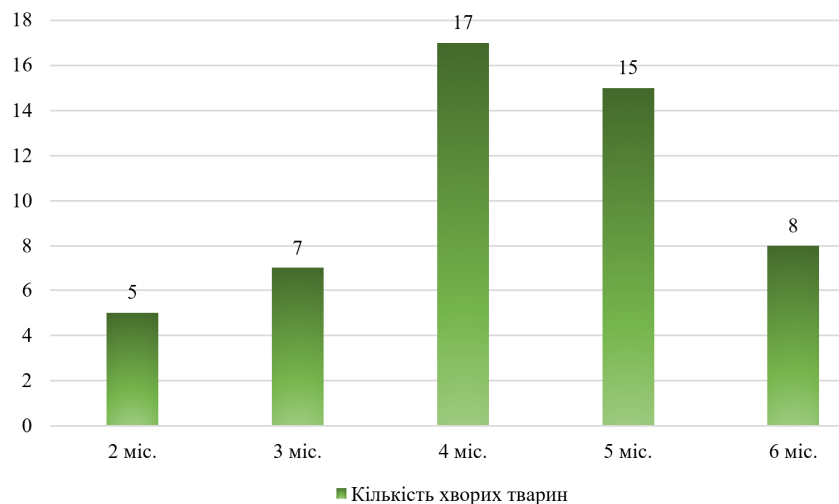


Рис. 2. Вікова динаміка криптоспоридіозу цуценят

Таблиця 1

Лабораторні показники крові хворих на криптоспоридіоз цуценят ($M \pm m$, $n = 20$)

Показники	Дослідна група	Контрольна група
Гематологічні показники		
Уміст гемоглобіну, г/л	$95,4 \pm 6,1$	$112,6 \pm 4,3$
Кількість еритроцитів, Т/л	$4,2 \pm 0,4$ *	$5,8 \pm 0,2$
Кількість лейкоцитів, Г/л	$19,4 \pm 2,3$ *	$10,8 \pm 0,7$
Швидкість осідання еритроцитів, мм/год	$22,4 \pm 3,3$ ***	$3,2 \pm 0,2$
Біохімічні показники		
Загальний білок, г/л	$58,2 \pm 4,3$	$67,2 \pm 2,3$
Альбуміни, г/л	$17,3 \pm 3,4$ ***	$33,7 \pm 1,2$
Глобуліни, г/л	$40,6 \pm 2,7$	$33,6 \pm 1,7$
Загальний білірубін, мкмоль/л	$9,35 \pm 1,85$ ***	$4,0 \pm 0,5$
Кон'югований білірубін, мкмоль/л	$6,4 \pm 1,8$ ***	$1,0 \pm 0,02$
АлАТ, од/л	$96,6 \pm 3,8$ ***	$23,8 \pm 3,2$
АсАТ, од/л	$97,3 \pm 5,2$ ***	$17,8 \pm 2,4$
γ -ГГТ, од/л	$15,4 \pm 2,7$ ***	$3,6 \pm 0,6$
α -амілаза, од/л	$1977 \pm 25,3$ ***	$1015 \pm 17,3$
Ліпаза, од/л	$126 \pm 10,6$ *	$70,3 \pm 10,2$
Креатинін, мкмоль/л	$113,7 \pm 6,3$	$84,7 \pm 7,3$
Сечовина, ммоль/л	$13,7 \pm 2,7$ *	$6,2 \pm 1,1$

Примітка: * – $P < 0,5$; *** – $P < 0,001$

У хворих на криптоспоридіоз цуценят виявлено загальний запальний процес, відобразниками якого в гематологічному профілі виступають лейкоцитоз та значне збільшення ШОЕ.

Тенденція до анемії вказує на те, що процеси інтоксикації в організмі активізовані.

У біохімічних показниках встановлено тенденцію до гіпопротеїнемії, достовірну гіпоальбумінемію. Таким чином, відбувається перерозподіл співвідношення білкових фракцій у бік зростання кількості білків глобулінової фракції, що також вказує на розвиток запального процесу в організмі. Такий стан також опосередковано свідчить про порушення функцій та недостатність печінки і підшлункової залози.

Функціонування гепатобіліарної системи може бути оцінена за показниками рівня білірубину та активності індикаторних ферментів – трансаміназ. Виявлена гіпербілірубінемія, яка зумовлена, зокрема й значним зростанням показника кон'югованого білірубину свідчить про руйнування гепатоцитів.

Гіперферментація трансаміназ (АсАТ, АлАТ, γ -ГГТ) є додатковим підтвердженням ураження паренхіми печінки. Таким чином, сукупність перерахованих вище показників свідчить про гепатит реактивного характеру.

Значне зростання ферментної активності α -амілази і ліпази в сироватці крові визначає панкреатит, який може мати гострий або підгострий характер перебігу.

Показник рівню креатиніну в наших дослідженнях має тенденцію до збільшення, але перебуває у межах загальних референтних значень. Уміст сечовини водночас збільшений достовірно. Аналізуючи профіль зміни показників, що вказують на взаємообмін азотистих елементів, можна стверджувати, що уремія вказує на нездатність печінки повною мірою метаболізувати сечовину, а отже – додатково підтверджується печінкова недостатність.

Досить демонстративним виступає копрологічне дослідження. У цуценят, хворих на маніфестований криптоспоридіоз, в копрограмі виявляли нейтральний жир (++), зерна крохмалю (++), перетравну кліткови-

ну (+++). Такі якісні показники вказують на хронічну печінкову недостатність, підгострий панкреатит, а також на швидку евакуацію вмісту кишечника, що визначає розвиток ентериту.

Показовим є дослідження фіксованих мазків фекалій, забарвлених карбол-фуксином та метиленовим синім за методом Циля–Нільсена. Можна виявити не лише ооцисти криптоспоридій (рис. 3), а й у випадку асоціації також виявляються ооцисти ізоспор (рис. 4).

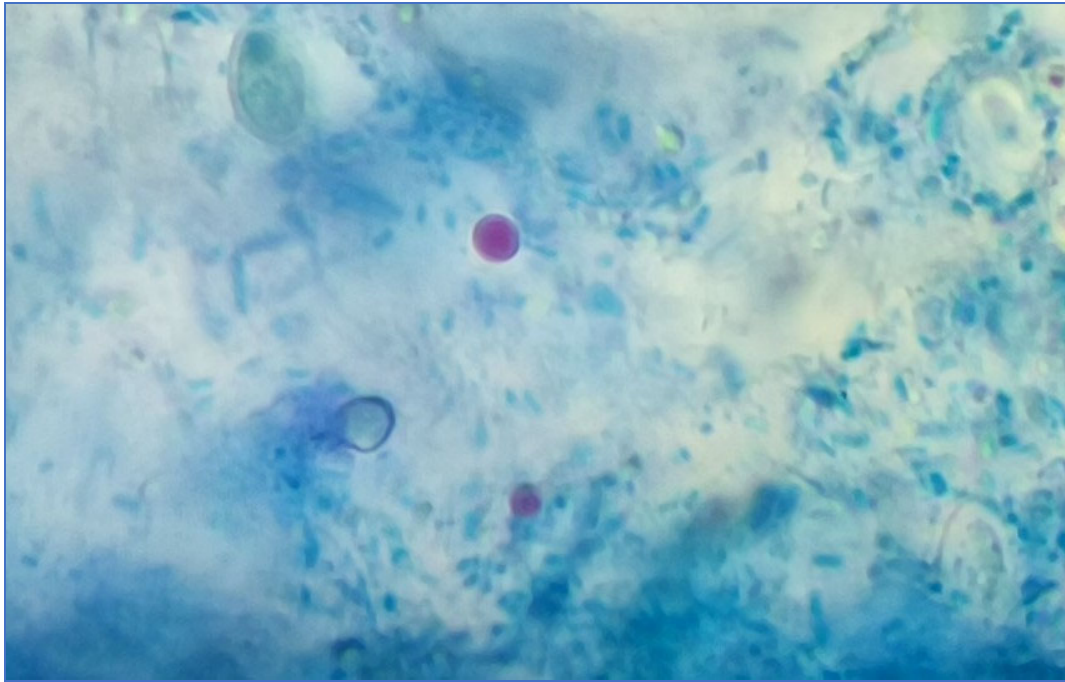


Рис. 3. Ооцисти *Cryptosporidium* у мазку фекалій цуценяти ($\times 150$, карбол-фуксин та метиленовий синій за Цилем–Нільсеном)

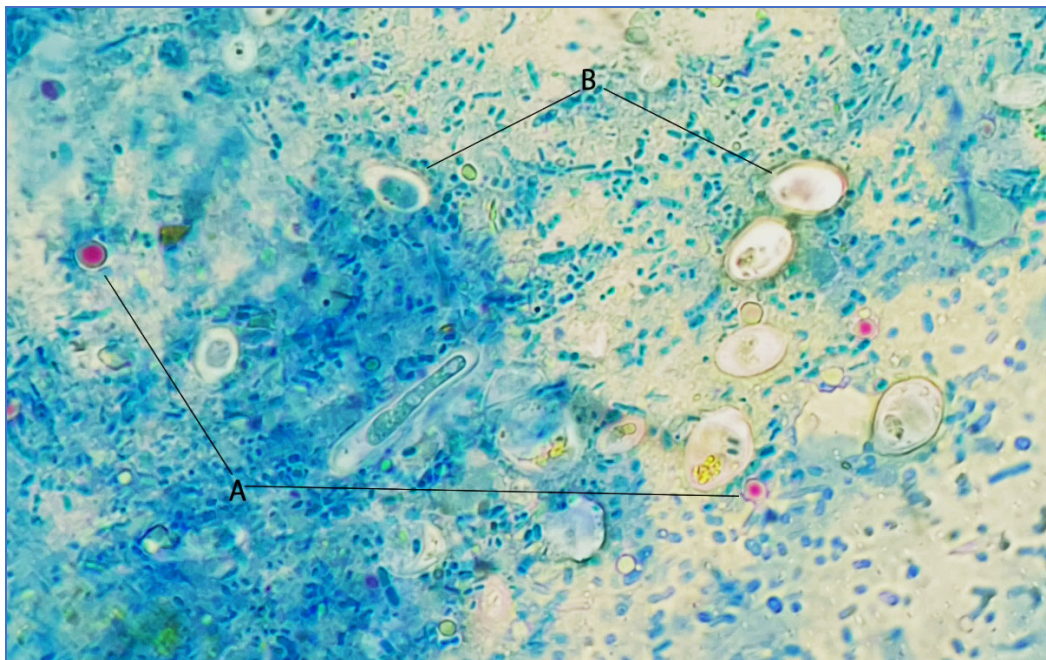


Рис. 4. Ооцисти *Cryptosporidium parvum* (A) та *Isospora* spp. (B) у мазку фекалій цуценяти ($\times 150$, карбол-фуксин та метиленовий синій за Цилем–Нільсеном)

Узагальнюючи отримані дані копрологічних досліджень, зазначимо, що якісні показники копрограми додатково підтверджують розвиток печінкової недостатності, запалення підшлункової залози, що були встановлені за проведення досліджень крові. Крім того, окремі показники (наявність елементів перетра-

вної клітковини) дозволяють визначитися з переважною локалізацією запального процесу в тонкому кишечнику.

Таким чином, криптоспоридіоз цуценят є одним з етіологічних факторів розвитку ентериту. За принципом поширення запалення, виходом його на систем-

ний рівень, у процес втягуються такі дігестивні залози, як печінка та підшлункова залоза. Враховуючи те, що криптоспоридіоз є опортуністичною інфекцією, його маніфестація визначає падіння загальної імунологічної реактивності організму. Отже, виявлені нами патогенетичні закономірності розвитку захворювання дозволяють фахівцям ветеринарної медицини розробляти схеми лікування тварин, що включають не лише етіотропні засоби, а й засоби патогенетичної терапії, тобто терапія повинна мати комплексний характер.

Висновки

Найчастіше на маніфестований криптоспоридіоз хворіють цуценята віком 4–5 міс., що зумовлено падінням імунологічної резистентності внаслідок зміни зубів. Клінічні ознаки у цуценят характеризуються розвитком ентериту з проявами водянистої діареї зі слизом, піною, інколи домішками крові. Лабораторні показники крові визначають загальний запальний процес, розвиток печінкової недостатності та панкреатиту. Копрологічними дослідженнями підтверджено розвиток печінкової недостатності, панкреатиту, а також встановлено наявність ентериту. За забарвлення мазків фекалій з використанням методу Ціля–Нільсена виявляються ооцисти *Cryptosporidium* spp., а також ооцисти інших кокцидій за асоційованих паразитозів.

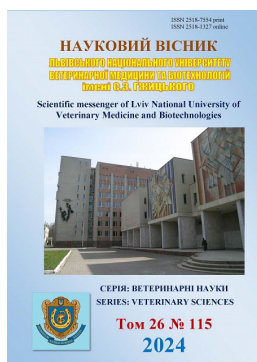
Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Alves, M. E. M., Martins, F. D. C., Bräunig, Pivoto, F. L., Sangioni, L. A., & Vogel, F. S. F. (2018). Molecular detection of *Cryptosporidium* spp. and the occurrence of intestinal parasites in fecal samples of naturally infected dogs and cats. *Parasitology Research*, 117, 3033–3038. DOI: 10.1007/s00436-018-5986-4.
- Ayinmode, A. B., Oliveira, B. C. M., Obebe, O. O., Dada-Adgebola, H. O., Ayede, A. I., Widmer, G. (2018). Genotypic characterization of *Cryptosporidium* species in humans and peri-domestic animals in Ekiti and Oyo States, Nigeria. *Journal of Parasitology*, 104(6), 639–644. DOI: 10.1645/17-74.
- Barbosa, A. D., Egan, S., Feng, Y. Y., Xiao, L. H., & Ryan, U. (2023) *Cryptosporidium* and *Giardia* in cats and dogs: What is the real zoonotic risk? *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, 4, 100158. DOI: 10.1016/j.crpvbd.2023.100158.
- Barbosa, A. D., Egan, S., Feng, Y., Xiao, L., Balogun, S., & Ryan, U. (2024). Zoonotic *Cryptosporidium* and *Giardia* in marsupials-an update. *Parasitology research*, 123(1), 107. DOI: 10/1007/s00436-024-08128-w.
- Bouزيد, M., Hunter, P. R., Chalmers, R. M., & Tyler, K. M. (2013). *Cryptosporidium* pathogenicity and virulence. *Clin Microbiol Rev*, 26(1), 115–134. DOI: 10.1128/CMR.00076-12.
- Cao, Y., Fang, C., Deng, J., Yu, F., Ma, D., Chuai, L., et al. (2022). Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in pet dogs in Xinjiang, China. *Parasitology Research*, 121(5), 1429–1435. DOI: 10.1007/s00436-022-07468-w.
- Costa, D., Razakandrainibe, R., Valot, S., Vannier, M., Sautour, M., Basmaciyan, L., et al. (2020). Epidemiology of *Cryptosporidiosis* in France from 2017 to 2019. *Microorganisms*, 8(9), 1358. DOI: 10.3390/microorganisms8091358.
- Deshpande, A. P., Jones, B. L., Connelly, L., Pollock, K. G., Brownlie, S., & Alexander, C. L. (2015) Molecular characterization of *Cryptosporidium parvum* isolates from human cryptosporidiosis cases in Scotland. *Parasitology*, 142(2), 318–325. DOI: 10.1017/S0031182014001346.
- Fehlberg, H. F., Matos Ribeiro, C., Brito Junior, P. A., Oliveira, B. C. M., dos Santos, C. A., Alvares, M. R. V., et al. (2021). Detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in small wild mammals in northeastern Brazil. *PloS one*, 16(8), e0256199. DOI: 10.1371/journal.pone.0256199.
- Feng, Y., Ryan, U. M., & Xiao, L. (2018) Genetic diversity and population structure of *Cryptosporidium*. *Trends Parasitol*, 34, 997–1011. DOI: 10.1016/j.pt.2018.07.009.
- Guo, Y., Li, N., Ryan, U., Feng, Y., & Xiao, L. (2021). Small ruminants and zoonotic cryptosporidiosis. *Parasitology research*, 120(12), 4189–4198. DOI: 10.1007/s00436-021-07116-9.
- Khan, A., Shaik, J., & Grigg, M. E. (2018) Genomics and molecular epidemiology of *Cryptosporidium* species. *Acta Trop*, 184, 1–14. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.10.023.
- Kostopoulou, D., Claerebout, E., Arvanitis, D., Ligda, P., Voutzourakis, N., Casaert, S., & Sotiraki, S. (2017). Abundance, zoonotic potential and risk factors of intestinal parasitism amongst dog and cat populations: The scenario of Crete, Greece. *Parasit Vectors*, 10, 43. DOI: 10.1186/s13071-017-1989-8.
- Mateo, M., de Mingo, M. H., de Lucio, A., Moreles, L., Balseiro, A., Espi, A., et al. (2017). Occurrence and molecular genotyping of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in wild mesocarnivores in Spain. *Veterinary parasitology*, 235, 86–93. DOI: 10.1016/j.vetpar.2017.01.016.
- Mirshakari, F., Natam-Nahavandi, K., Abdolahi-Khabisi, S., & Salimi-Khorashad, A. (2019) *Cryptosporidium parvum* in Children with Diarrhea in Zahedan, Iran. *Jundishapur J Microbiol*, 12(8), e95109. DOI: 10.5812/jjm.95109.
- Murnik, L. C., Dauschies, A., & Dellling, C. (2022) *Cryptosporidium* infection in young dogs from Germany. *Parasitol Res*, 121, 2985–2993. DOI: 10.1007/s00436-022-07632-2.
- Piekara-Stępińska, A., Piekarska, J., & Gorczykowski, M. (2021). *Cryptosporidium* spp. in dogs and cats in Poland. *Ann Agric Environ Med.*, 28(2), 345–347. DOI: 10.26444/aaem/120467.

- Rosanowski, S. M., Banica, M., & Ellis, E. (2018) The molecular characterization of *Cryptosporidium* species in relinquished dogs in Great Britain: a novel zoonotic risk? *Parasitol Res*, 117, 1663–1667. DOI: 10.1007/s00436-018-5857-z.
- Sannella, A. R., Suputtamonkol, Y., Wongsawat, E., & Cassio, S. M. (2019) A retrospective molecular study of *Cryptosporidium* species and genotypes in HIV-infected patients from Thailand. *Parasit Vectors*, 12(1), 91. DOI: 10.1186/s13071-019-3348-4.
- Wang, R. J., Li, J. Q., Chen, Y. C., Zhan, L. X., & Xiao, L. H. (2018) Widespread occurrence of *Cryptosporidium* infections in patients with HIV/AIDS: Epidemiology, clinical feature, diagnosis and therapy. *Acta Trop*, 187, 257–263. DOI: 10.1016/j.actatropica.2018.08.018.



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/nvlvet11518
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:636.085/.087:616.35:636.4

The effect of the feed supplement “Globigen jump start” on the morphometric parameters of the small intestinal mucosa of piglets

N. V. Boniuk^{1✉}, O. M. Shchebentovska²

¹Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

Article info

Received 26.06.2024

Received in revised form

29.07.2024

Accepted 30.07.2024

Institute of Animal Biology NAAS,
V. Stusa Str., 38, Lviv,
79034, Ukraine.
Tel.: +38-099-290-01-05
E-mail: nataliiboniuk@gmail.com

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

Boniuk, N. V., & Shchebentovska, O. M. (2024). The effect of the feed supplement “Globigen jump start” on the morphometric parameters of the small intestinal mucosa of piglets. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 126–134. doi: 10.32718/nvlvet11518

Early weaning of piglets from the sow with a rapid transition from milk to pelleted feed is a common practice in industrial pig farming. To mitigate the feed-related stress in piglets during this period, supplements are introduced into their diet aiming to boost immune response, reduce pathogenic microorganisms in the intestines, and stimulate digestion. This article presents the results of a research on the effect of the feed supplement “Globigen Jump Start”, which contains dried yeast and immunoglobulin-enriched egg powder, on the number of goblet cells and the morphometric parameters of the piglets' small intestine. It was found that the addition of this feed supplement to the piglets' diet significantly increased the height of the duodenal villi by 37.43 % ($P > 0.001$) by day 14 of the experiment and improved the villus-to-crypt depth ratio, indicating an increase in the surface area and the mucosa's improved ability to absorb nutrients. Additionally, feeding changes also affected the size of the villi in the jejunum and ileum, where a significant increase in size was also observed by day 14, by 12.79 % and 6.6 %, respectively, compared to the control group of piglets. Morphometric studies revealed a trend toward thickening of the muscular layer in both the jejunum and ileum during the first two weeks of consuming pelleted feed with the “Globigen Jump Start” supplement, likely due to changes in diet and the altered feed digestion rate. During the transition to a different type of feed, differences were also noted in the number of goblet cells in the small intestinal mucosa, which produce mucin that protects the body from endogenous and exogenous irritants, microbial adhesion, and aids nutrient transport. In the duodenum of the experimental group of piglets, the number of goblet cells was higher by 3.2 cells on day 14 compared to the control group, and by day 28, this difference decreased to 1.7 cells. A similar trend was observed in the jejunum at both day 14 and day 28, with a significant increase in goblet cell count in the experimental group by 11.6 ($P > 0.01$) and 13.1 ($P > 0.001$) compared to control animals. In the ileum of the experimental group, an advantage was also noted. On day 14, the goblet cell count was significantly higher by 6.4 cells ($P > 0.05$) and by 14.6 ($P > 0.001$) on day 28 compared to the control group.

Key words: piglets, weaning, feed supplements, yeast, intestinal villi, crypts, goblet cells, morphometry.

Вплив кормової добавки “Глобіген джамп старт” на окремі морфометричні показники слизової оболонки тонкого відділу кишечника поросят

Н. В. Бонюк^{1✉}, О. М. Щебенцовська²

¹Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

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

Раннє відлучення поросят від свиноматки зі швидким переходом їх від споживання молока до гранульованого корму є звичайною практикою у промисловому свинарстві. Для зменшення кормового стресу поросят в такий період до їхнього раціону вводять добавки, спрямовані на посилення імунної відповіді, зниження кількості патогенних мікроорганізмів у кишечнику та стимуляцію травлення. У статті наведені результати дослідження впливу кормової добавки “Глобіген джамп старт”, до складу якої входять сухі дріжджі та ячний порошок, збагачений імуноглобулінами на кількість келихоподібних клітин та окремі морфометричні параметри тонкого кишечнику поросят. Встановлено, що додавання до основного раціону поросят кормової добавки сприяло достовірному збільшенню на 37,43 % ($P > 0,001$) висоти ворсинок дванадцятипалої кишки поросят на 14 добу дослідів та підвищення показника відношення висоти ворсинок до глибини крипти, що вказує на збільшення площі та краю здатність слизової оболонки до абсорбції поживних речовин. Водночас зміна годівлі вплинула також і на розміри ворсинок порожньої та клубової кишки, де також виявляли достовірне їхнє підвищення на 14 добу експерименту на 12,79 % та 6,6 % відповідно порівняно з контрольною групою поросят. Морфометричними дослідженнями встановлено, що у перші два тижні споживання поросятами гранульованого корму з додаванням добавки “Глобіген джамп старт” виявляли й тенденційне потовщення м’язової оболонки як порожньої, так і клубової кишки, спричинене зміною раціону, а також зміною швидкості перетравлення корму. При переході поросят на інший тип годівлі у слизовій оболонці тонкого відділу кишечнику було встановлено й відмінності у кількості келихоподібних клітин, які продукують муцин, що захищає слизову від ендогенних та екзогенних подразників, мікробної адгезії та сприяє транспортуванню поживних речовин. У дванадцятипалій кишці поросят дослідної групи на 14 добу дослідів кількість келихоподібних клітин була більшою на 3,2 клітини порівняно з контрольною групою, а на 28 добу – на 1,7 клітини. У порожній кишці зберігалась подібна тенденція як на 14, так і на 28 добу, де встановлено достовірне збільшення кількості келихоподібних клітин у дослідній групі відповідно на 11,6 ($P > 0,01$) та 13,1 ($P > 0,001$) порівняно з контрольними тваринами. У клубовій кишці поросят дослідної групи також виявляли перевагу. На 14 добу кількість келихоподібних клітин була достовірно вищою на 6,4 клітини ($P > 0,05$) та на 14,6 ($P > 0,001$) на 28 добу дослідів порівняно з контролем.

Ключові слова: поросята, відлучення, кормові добавки, дріжджі, кишкові ворсинки, крипти, келихоподібні клітини, морфометрія.

Вступ

За умов сучасного вирощування свиней з метою підвищення їхньої продуктивності упродовж багатьох років технологіями різних країн розроблялись різноманітні стратегії годівлі з використанням кормових добавок, які сприяють стимуляції травлення та розвитку кишечнику (Moore et al., 1988; van der Aar et al., 2017; Nowak et al., 2019). Значний прогрес досягнуто саме у використанні змішаних схем годівлі поросят, особливо у період їхнього відлучення від свиноматки та переходу від молока до гранульованого корму. Упродовж останніх десятиліть досліджено та продемонстровано позитивний вплив на організм свиней кормових добавок, які спрямовані на посилення імунної відповіді (наприклад, імуноглобулін, ω -3 жирні кислоти, дріжджові β -глюкани), добавки, що впливають на зниження кількості патогенних мікроорганізмів у кишечнику поросят (органічні та неорганічні кислоти, ефірні олії та спеції, деякі типи пребіотиків та пробіотиків), речовин, що стимулюють функцію травлення (масляна кислота, молочна, глютамін, треонін, цистеїн) (Waititu et al., 2016; Prudius et al., 2023). Проте вченими було доведено, що окремі кормові добавки можуть бути ефективними *in vitro*, але неефективними *in vivo* (Carver & Walker, 1995).

Шлунково-кишковий тракт усіх хребетних побудований за принципом каналу, рухаючись яким поживні речовини кормів розщеплюються ферментами до простих сполук. Основним органом травлення є тонкий кишечник, де майже повністю завершується перетравлення та всмоктування екзогенних харчових субстратів. Проте тонкий кишечник виконує ще низку інших функцій, серед яких – метаболічна, секреторна, транспортно-евакуаторна, депонуюча, гормональна. Всі ці функції тією чи іншою мірою забезпечують реалізацію двох провідних процесів гідролізу та всмоктування нутрієнтів. Будучи проміжною ланкою між організмом та зовнішнім середовищем, тонкий кишечник виконує ще й захисно-адаптивну функцію, здійснюючи роль селективного бар’єру.

Поверхня тонкої кишки представлена ворсинками – основними структурними одиницями слизової оболонки. Біля основи ворсинок епітеліальний пласт утворює пальцеподібні вип’ячування – крипти. Кишкові ворсинки – це мікроорганні структури зі своїм судинним, м’язовим та нервовим апаратом, які відіграють важливу роль у всмоктуванні поживних речовин корму. Відомо, що деякі кормові добавки значно підсилюють скорочення ворсинок за рахунок впливу на метасимпатичну нервову систему. Саме такими властивостями, за твердженнями авторів (Kogan & Kocher, 2007; Shen et al., 2009; Sauer et al., 2011), володіють екстракти дріжджів, амінокислоти, аланін, лейцин, жовчні кислоти, глюкоза та інші. У раціон свиней дріжджі додають у кількох формах – цілі живі дріжджові клітини, термічно оброблені дріжджові клітини, мелені дріжджові клітини, очищені дріжджові клітинні культури та дріжджові екстракти. Дослідження окремих учених (Kogan & Kocher, 2007; Shen et al., 2009; Sauer et al., 2011; Jiang et al., 2015) свідчать про позитивний вплив продуктів на основі дріжджів на продуктивність поросят, підвищення імунітету слизової оболонки, адсорбції мікотоксинів, зменшення проявів діареї після відлучення та модулювання кишкової мікрофлори.

Підготовка поросят до відлучення та зміни раціону передбачає поступову адаптацію кишечнику, адже зміна форми раціону часто викликає атрофію ворсинок і зменшує заміну ентероцитів, що перешкоджає засвоєнню поживних речовин (Kenworthy, 1976; Jiang et al., 2015). Дослідниками встановлено, що додавання гомогенізованих дріжджових клітин призводило до збільшення висоти ворсинок і співвідношення ворсинок до крипти (Bontempo et al., 2006; Jiang et al., 2015). Подібні результати були отримані для продуктів бродіння дріжджів (Shen et al., 2009). Крім того, проведені наукові дослідження (Bontempo et al., 2006) свідчать про те, що додавання живих дріжджів збільшує проліферацію кишкових клітин та підвищує концентрацію глікокон’югатів у муцині свиней, збільшуючи

їх стійкість до патогенної мікрофлори (van der Peet-Schwering et al., 2007).

Варто зазначити, що більшість експериментів, проведених на свинях і птиці, були спрямовані на вивчення тої чи іншої кормової добавки на показники продуктивності. Основні акценти при виробничих дослідках ставились на покращення конверсії корму та збільшення маси тіла тварин (Amad et al., 2011). Відомо, що на морфологічну структуру травної системи та формоутворюючі процеси в ній значно впливає саме тип годівлі тварин. Кормові фактори викликають адаптаційні зміни в органах і тканинах, які можуть кваліфікуватись як дія екзогенного подразника кормового характеру. Тому до вивчення морфології органів травлення донині є особливий інтерес (Cera et al., 1988; Hall & Byrne, 1989; Jin et al., 1994; Melo et al., 2016; Boniuk & Shchebentovska, 2024).

Інформації щодо впливу кормових добавок на морфометричні параметри слизової оболонки кишечника поросят є недостатньо. Крім того, залишається відкритим питання, чи мають кормові добавки прямий вплив на стимулювання споживання корму і отже – продуктивність росту, чи опосередкований – через поліпшення фізіологічного стану слизової оболонки кишечника та його функції.

Мета дослідження

Мета роботи полягає у вивченні впливу кормової добавки “Глобіген джамп старт” на окремі морфометричні параметри тонкого відділу кишечника поросят та кількість келихоподібних клітин у різні періоди неонатального та постнатального онтогенезу.

Матеріали і методи досліджень

Вивчення ефективності застосування кормової добавки “Глобіген джамп старт” проводили на поросятах, що утримувались в господарстві “Барком” Львівської області. З цієї метою було сформовано дві групи поросят-аналогів, породи велика біла – по десять голів у кожній групі, яким з 7 по 28 доби життя до основного раціону додавали кормову добавку. Поросята контрольної групи упродовж експерименту отримували стандартний збалансований за поживними речовинами раціон, а поросят II групи до основного корму додавали 2 кг на 1 т корму кормової добавки “Глобіген джамп старт”, до складу якої входять сухі дріжджі та яєчний порошок, збагачений імуноглобулінами (виробник EW Nutrition GmbH, Німеччина). Основний корм поросят задавали у формі гранули, що забезпечувало потреби у всіх поживних речовинах. Упродовж дослідів поросята утримувались в однакових умовах з вільним доступом до корму та води. Відлучення проводили у 28-денному віці. На 14 та 28 доби по три тварини з кожної групи піддавали евтаназії з відбором матеріалу для гістологічного дослідження.

Для вивчення гістоархітеконики тонкого кишечника фрагменти тканин фіксували в 10 % нейтральному водному розчині формаліну та рідині Буена,

зневоднювали через висхідний ряд спиртів та після I і II хлороформів поміщували у парафінові блоки. З отриманих блоків на мікротомі MC-2 виготовляли зрізи товщиною 7 мкм, які монтували на предметне скло, а після висихання фарбували гематоксиліном та еозином (Mulisch & Welsch, 2015).

Для виявлення келихоподібних клітин застосовували PAS- реакцію за Мак-Манусом. Зрізи депарафінували та доводили до води. Окислювали 0,5 % водним розчином йодної кислоти 2 хв з подальшим промиванням у дистильованій воді. Обробляли реактивом Шиффа протягом 10 хв, промивали в проточній воді упродовж 10 хв. Дофарбовували ядра гематоксиліном Майєра 3 хв, ретельно промивали проточною водою. Зневоднювали у спиртах, просвітлювали у ксилолі та заключали в бальзам. Мукопротеїди і нейтральні мукополісахариди інтенсивно забарвлювалися в пурпурно-червоний колір (Mulisch & Welsch, 2015).

За допомогою програмного забезпечення Aperio Image Scope на гістологічних препаратах визначали висоту ворсинок та глибину крипт, товщину циркулярного та поздовжнього м'язового шару, кількість келихоподібних клітин на площі 0,45 мм² у 5 полях зору. Статистичне опрацювання результатів проводили з використанням однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. Для цього використовували програму StatPlus (AnalystSoft Inc., USA). Результати наведено як Mean ± SD. Відмінності між групами тварин вважалися статистично значущими при P > 0,05, P > 0,01, P > 0,001. Готові гістологічні препарати фотографували з використанням мікроскопу Leica DM-2500 (Switzerland) з камерою Leica DFC450C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4. Під час досліджень повністю дотримувались вимог етичного ставлення до тварин, що використовувались під час експериментальних досліджень (Стразбург, 1986; Київ, 2002), а саму методику проведення досліджень схвалено біоетичною комісією Інституту біології тварин НААН (протокол №93-01 від 3 червня 2021 року).

Результати та їх обговорення

При світлооптичному дослідженні препаратів тонкого кишечника поросят встановлено його типову морфологічну будову з чітко диференційованими межами: слизову оболонку, підслизовий шар, м'язовий та серозну оболонку. Слизова оболонка представлена кишковими ворсинками, які вкриті епітеліоцитами. Крім того, добре візуалізувались келихоподібні клітини. Гістологічно поверхню кишкових ворсинок формує одношаровий циліндричний епітелій з вираженою полярністю клітин, основну масу яких складають ентероцити з характерною облямівкою, що утворюють мікроворсинки апікальної плазматичної мембрани. Основна функція цих клітин є всмоктування. Другий за кількістю пул епітеліальних клітин слизової оболонки тонкого кишечника представлений келихоподібними екзокриноцитами (рис. 1–4). В глибині крипт розташовувались екзокриноцити з ацидофільними гранулами – клітини Панета. Крім цих основних епітеліоцитів і стовбурових клітин

крипт, до складу епітеліального шару входять лімфоцити, які проникають зі стромы ворсинок через базальну мембрану. Відомо, що у процеси всмоктування в тонкому кишечнику задіяно обмежена кількість епітеліальних клітин, тому реальна поверхня всмоктування і площа, на якій відбувається мембранний гідроліз, завжди будуть меншими. Найінтенсивніша адсорбція відбувається на верхівці та у верхній третині ворсинок і значно зменшується в базальному на-

прямку. До основи ворсинок і в зону крипт нутрієнти проникають повільно або взагалі не проникають.

Власне пластинка слизової оболонки сформована елементами пухкої сполучної тканини, в глибині якої розміщувались крипти, а підслизова основа містила дуоденальні залози. М'язова пластинка слизової оболонки тонкого кишечника побудована із гладких міоцитів, які щільно прилягали одні до одних.

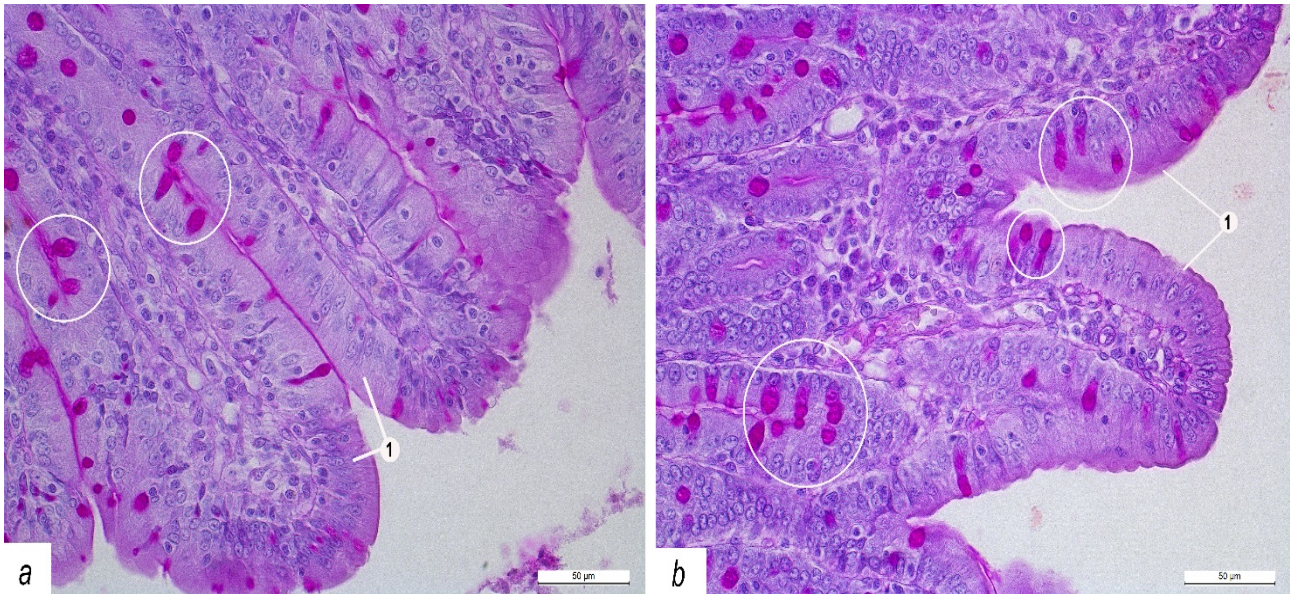


Рис. 1. Ворсинки дванадцятипалої кишки поросят на 14 добу дослідю: *a* – контрольна група, *b* – II дослідна група: ентероцити (1), келихоподібні клітини (позначені в колі). PAS- реакція за Мак-Манусом

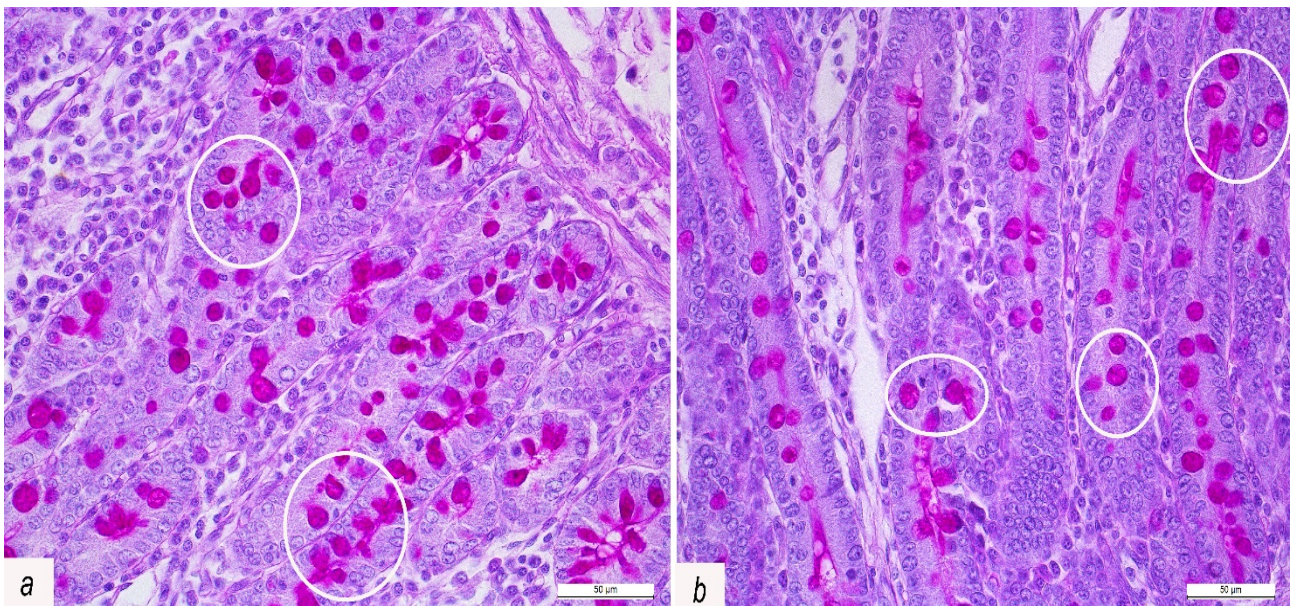


Рис. 2. Крипти дванадцятипалої кишки поросят на 28 добу дослідю: *a* – контрольна група, *b* – дослідна група: келихоподібні клітини (позначені в колі). PAS- реакція за Мак-Манусом

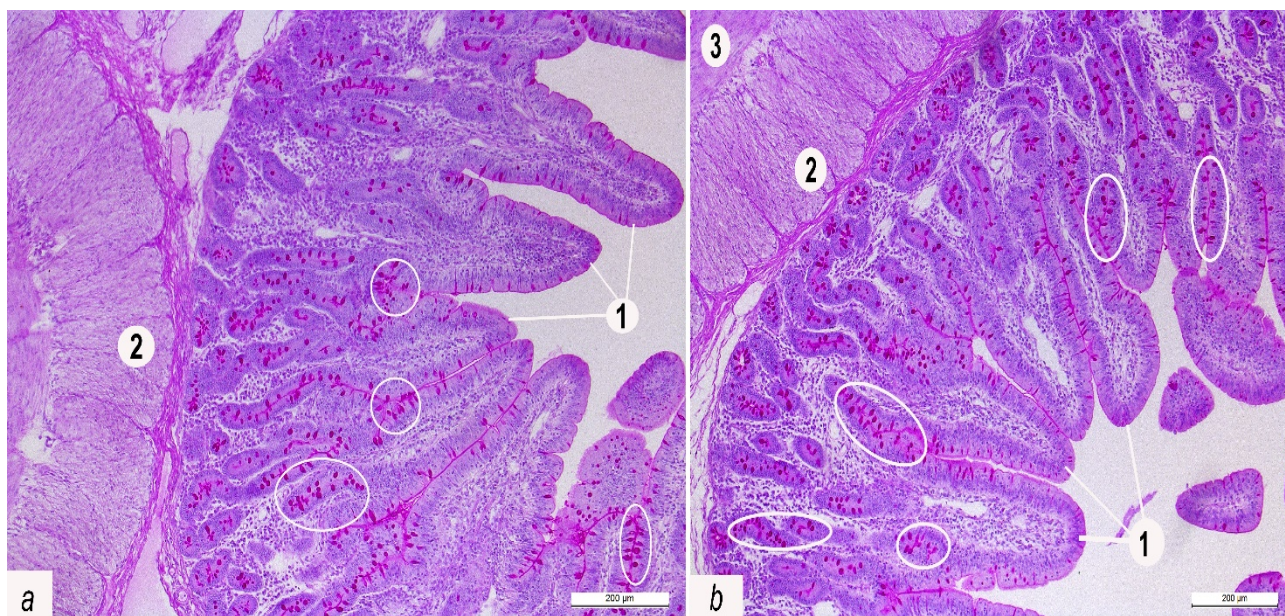


Рис. 3. Клубова кишка поросят на 28 добу дослідю: *a* – контрольна група, *b* – дослідна група: ворсинки (1), поздовжній шар м'язів (2), циркулярний шар м'язів (3), яскраво малинового кольору келихоподібні клітини (позначені в колі). PAS- реакція за Мак-Манусом

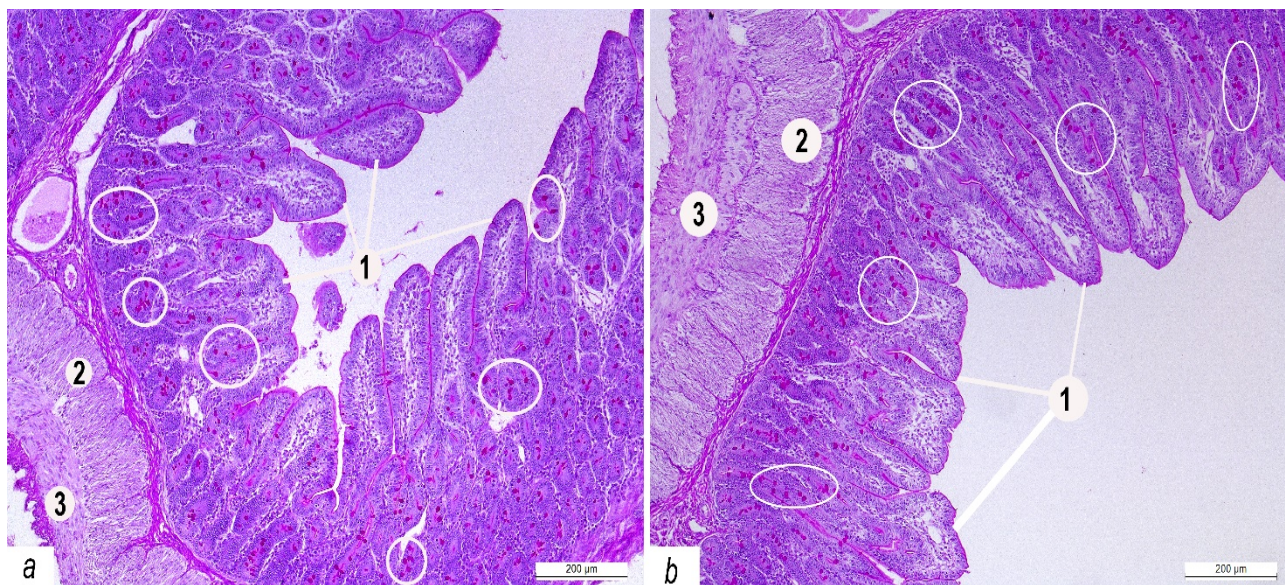


Рис. 4. Порожня кишка поросят на 28 добу дослідю: *a* – контрольна група, *b* – дослідна група: ворсинки (1), циркулярний шар м'язів (2), поздовжній шар м'язів (3), яскраво малинового кольору келихоподібні клітини (позначені в колі). PAS- реакція за Мак-Манусом

У процесі морфометричних досліджень слизової оболонки тонкого відділу кишечника поросят за умов зміни годівлі та застосування кормової добавки “Глобінген джамп старт” нами встановлено деякі відмінності у показниках контрольної і дослідної груп як на 14, так і на 28 добу дослідю. Встановлено, що на 7 добу життя поросят до згодовування кормів висота ворсинок дванадцятипалої кишки була достатньо високою і перебувала на рівні $696,35 \pm 43,94$ мкм, глибина крипт становила $240,72 \pm 11,49$ мкм, відношення висоти ворсинок до глибини крипт дорівнювало $2,89 \pm 0,75$. Товщина м'язового шару корелювала в межах $327,21 \pm 2,12$ мкм, де циркулярний шар м'язів займав $180,25 \pm 2,45$ мкм, а зовнішній поздовжній $146,96 \pm 1,97$ мкм.

На 14 добу дослідю у поросят II дослідної групи, яким до основного корму додавали кормову добавку “Глобінген джамп старт”, виявляли достовірне збільшення висоти ворсинок дванадцятипалої кишки на 37,43 % ($P > 0,001$) порівняно з контрольною групою з поступовим вирівнюванням цього показника на 28 добу експерименту. Щодо глибини крипт, то виявлено подібну тенденцію. На 14 добу дослідю в поросят II групи встановлено їх достовірне збільшення на 31,48 % ($P > 0,001$). На 28 добу глибина крипт у дванадцятипалій кишці поросят дослідної групи була меншою на 105,93 мкм, ніж у контрольній, що свідчить про сприятливіші умови її функціонування. Показник висоти ворсинок і глибини крипт також корелював у процесі дослідю: на 14 добу в контрольній

групі поросят він становив $1,56 \pm 0,84$, а у дослідній – $1,63 \pm 0,47$, тимчасом як на 28 добу експерименту встановлено поступове зниження цього показника в обох групах поросят: у контрольній групі до $1,24 \pm 0,93$ та II дослідній – $1,59 \pm 0,42$ (табл. 1). Відомо, що площа слизової оболонки тонкої кишки визначає здатність всього кишечника до абсорбції поживних речовин (Nabuurs et al., 1993). Збільшення висоти і ширини ворсинок збільшує площу поверхні поглинання поживних речовин та сприяє інтенсивності росту тварин, що було виявлено в поросят дослідної групи.

Таблиця 1

Морфометричні показники дванадцятипалої кишки поросят за згодовування кормової добавки “Глобіген джамп старт”, $n = 5$, $M \pm SD$

Морфологічні структури	7 доба	14 доба		28 доба	
	До згодовування кормів	Контрольна група	II група	Контрольна група	II група
Висота ворсинок, мкм	$696,35 \pm 43,94$	$490,67 \pm 30,22$	$674,31 \pm 25,05^{***}$	$654,51 \pm 14,81$	$675,32 \pm 12,44$
Глибина крипт, мкм	$240,72 \pm 11,49$	$314,13 \pm 21,54$	$413,02 \pm 10,03^{***}$	$528,96 \pm 20,12$	$423,03 \pm 18,35$
Висота ворсинок: глибина крипт	$2,89 \pm 0,75$	$1,56 \pm 0,84$	$1,63 \pm 0,47$	$1,24 \pm 0,93$	$1,59 \pm 0,42$
Товщина зовнішнього поздовжнього шару м'язової оболонки, мкм	$146,96 \pm 1,97$	$143,27 \pm 2,09$	$194,02 \pm 6,97^{**}$	$166,31 \pm 3,90$	$160,08 \pm 3,07$
Товщина внутрішнього циркулярного шару м'язової оболонки, мкм	$180,25 \pm 2,45$	$184,66 \pm 3,34$	$210,42 \pm 4,94^{**}$	$260,45 \pm 12,76$	$245,17 \pm 10,54$
Товщина м'язової оболонки, мкм	$327,21 \pm 2,12$	$327,93 \pm 2,07$	$404,44 \pm 4,23^{***}$	$426,76 \pm 7,24$	$405,25 \pm 5,23$

Примітка: * $P > 0,05$, ** $P > 0,01$, *** $P > 0,001$ порівняно з контрольною групою

Зміна годівлі вплинула також і на розміри ворсинок порожньої та клубової кишки поросят. На 7 добу до згодовування комбікорму висота ворсинок порожньої кишки дорівнювала $589,47$ мкм, клубової кишки – $579,18$ мкм., тимчасом як у період зміни корму виявлено зменшення висоти ворсинок в обох групах поросят. Висота ворсинок порожньої кишки поросят контрольної групи на 14 добу становила $470,11$ мкм, дослідної – $530,27$ ($P > 0,01$), на 28 добу – відповідно $514,15$ мкм та $531,59$ мкм. Подібну тенденцію спостерігали і у клубовій кишці, де на 14 добу експерименту висота ворсинок у дослідній групі поросят була на $6,6\%$ ($P > 0,05$) вищою, ніж у контрольній, а на 28 добу, відповідно на $7,2\%$ ($P > 0,05$). Крім того, у перші два тижні споживання поросятами гранульованого корму виявляли пряму залежність у вигляді тенденційного потовщення м'язової оболонки як порожньої, так і клубової кишки. Так, товщина м'язової оболонки порожньої кишки на 14 добу досліді в контрольній групі поросят дорівнювала $246,76$ мкм, у дослідній – $297,42$ ($P > 0,05$), на 28 добу – відповідно $255,76$ мкм та $373,9$ мкм у дослідній групі, що на $46,19\%$ більше, ніж у контрольній групі поросят. Товщина м'язової оболонки клубової кишки контрольної групи на 14 добу становила $518,93$ мкм, дослідної групи – $502,73$ мкм, тимчасом як на 28 добу виявляли значне зменшення цього показника – у контрольній групі він дорівнював $384,03$ мкм, дослідній – $397,47$ мкм. Ре-

У проведених нами дослідженнях встановлено і достовірне збільшення товщини м'язової оболонки дванадцятипалої кишки поросят II групи на 14 добу досліді порівняно з контрольними тваринами відповідно на $23,33\%$ ($P > 0,001$) за рахунок потовщення як зовнішнього поздовжнього шару на $50,75$ мкм, так і внутрішнього циркулярного шару м'язової оболонки на $25,76$ мкм. Проте на 28 добу досліді товщина м'язового шару дванадцятипалої кишки поросят контрольної групи була на $21,51$ мкм більшою, ніж у II групі.

зультати кореляційного аналізу щодо впливу кормової добавки на морфологічні показники тонкого відділу кишечника поросят подані у таблиці 2.

Отримані нами кореляційні зміни у морфологічній характеристиці тонкого відділу кишечника на 7,14 та 28 доби експерименту були викликані найперше зміною раціону, що, ймовірно, спричинив зміни в перетравленні кормів, а також використанні поживних речовин в організмі тварин, а це своєю чергою вплинуло й на продуктивність поросят.

Отже, за результатами наших досліджень було встановлено, що на 7 добу в поросят-сисунів морфометричні показники висоти ворсинок були найбільшими по всьому тонкому відділу кишечника. Найвищими залишалось і співвідношення висоти ворсинок до глибини крипт. Навпаки, у поросят контрольної групи, яким почали згодовувати повнораціонний гранульований корм на 14 добу досліді, виявляли певну тенденцію щодо збільшення глибини крипт зі зменшенням висоти ворсинок по всьому тонкому відділу кишечника та поступовим вирівнюванням цих показників вже на 28 добу експерименту. Проте варто зазначити, що жодних запальних реакцій у слизовій оболонці кишечника не виявляли. Зміни у висоті ворсинок, які були встановлені, дещо зменшують абсорбційну площу всмоктування тонкого кишечника, що частково пояснює незначну затримку росту поросят у період після відлучення.

Таблиця 2

Морфометричні показники порожньої та клубової кишки поросят за згодовування кормової добавки “Глобіген джамп старт” (n = 5, M ± SD)

Морфологічні структури	7 доба	14 доба		28 доба	
	До згодовування кормів	Контрольна група	II група	Контрольна група	II група
Порожня кишка					
Висота ворсинок, мкм	589,47 ± 29,82	470,11 ± 11,7	530,27 ± 21,38**	514,15 ± 25,05	531,59 ± 12,94
Глибина крипт, мкм	260,5 ± 21,65	232,39 ± 20,34	270,27 ± 5,93	210,26 ± 10,76	214,61 ± 12,28
Висота ворсинок: глибина крипт	2,26 ± 0,64	2,0 ± 0,32	1,96 ± 0,28	2,44 ± 0,38	2,47 ± 0,21
Товщина зовнішнього поздовжнього шару м'язової оболонки, мкм	121,54 ± 3,0	94,37 ± 5,98	119,49 ± 5,68	101,97 ± 3,57	133,53 ± 4,35
Товщина внутрішнього циркулярного шару м'язової оболонки, мкм	159,98 ± 3,20	152,39 ± 3,25	177,93 ± 4,59	153,79 ± 4,19	240,37 ± 4,27
Товщина м'язової оболонки, мкм	281,52 ± 9,86	246,76 ± 12,2	297,42 ± 9,54	255,76 ± 7,33	373,9 ± 9,12
Клубова кишка					
Висота ворсинок, мкм	579,18 ± 18,56	452,76 ± 7,78	482,7 ± 4,15*	543,3 ± 23,10	582,27 ± 10,12*
Глибина крипт, мкм	262,47 ± 10,89	233,61 ± 12,50	233,12 ± 8,14	265,93 ± 23,09	281,17 ± 30,33
Висота ворсинок: глибина крипт	2,20 ± 0,23	1,94 ± 0,26	2,07 ± 0,18	2,04 ± 0,36	2,07 ± 0,34
Товщина зовнішнього поздовжнього шару м'язової оболонки, мкм	193,46 ± 19,67	202,01 ± 4,87	200,9 ± 7,17	150,79 ± 7,30	164,85 ± 3,71*
Товщина внутрішнього циркулярного шару м'язової оболонки, мкм	164,23 ± 2,30	316,92 ± 6,79	301,83 ± 5,79	233,24 ± 3,50	229,62 ± 8,22
Товщина м'язової оболонки, мкм	357,69 ± 2,25	518,93 ± 4,35	502,73 ± 4,71	384,03 ± 2,48	394,47 ± 2,42**

Примітка: * P > 0,05, ** P > 0,01, *** P > 0,001 порівняно з контрольною групою

Додавання поросят II групи до основного корму добавки “Глобіген джамп старт”, до складу якої входять сухі дріжджі та яєчний порошок, збагачений імуноглобулінами, сприяло збільшенню морфометричних параметрів цитоархітекτονіки кишкового епітелію тонкого кишечника при зміні годівлі та відлученні поросят із достовірним збільшенням висоти ворсинок дванадцятипалої, порожньої та клубової кишок, особливо на 14 добу експерименту порівняно з контрольною групою з позитивним впливом на показники росту тварин.

Основним структурним і зв'язуючим компонентом пристінкового шару кишкового епітелію є слиз, який у великій кількості постійно секретується келихоподібними екзокриноцитами епітеліального шару. Саме слиз значною мірою визначає будову і властивості пристінкового шару та його проникність, виконує протекторну (механічну і хімічну), буферну, травну і транспортну функцію (Lea et al., 2012). Протекторна функція проявляється у механічному захисті епітелію від шкідливої дії кормів та агресивних токсичних елементів. При різкій зміні годівлі з переходом від молока до гранульованих кормів у ШКТ поросят починає секретуватись більше слизу, що зменшує механічний вплив на поверхню епітелію. Фактори, що впливають на структуру і функцію пристінкового шару, можуть впливати і на транспорт речовин через цей шар. Транспортні функції пристінкового шару зв'язані також і з потоком речовин, які секретуються у просвіт кишки. Саме в цьому процесі відіграють важливу роль келихоподібні екзокриноцити, які продукують слиз і виступають в ролі каналу секреції або екскреції деяких субстратів.

У процесі нашого дослідження було встановлено відмінності в кількості келихоподібних клітин ворсинок у тонкому відділі кишечника поросят при переході на інший тип годівлі та за застосування кормової добавки (табл. 3). Так, у дванадцятипалій кишці поросят II дослідної групи на 14 добу експерименту кількість келихоподібних клітин була більшою на 3,2 клітини порівняно з контрольною групою, а на 28 добу – на 1,7 клітини. У порожній кишці як на 14, так і на 28 добу в II дослідній групі виявляли достовірне збільшення кількості келихоподібних клітин відповідно на 11,6 (P > 0,01) та 13,1 (P > 0,001) порівняно з контрольними тваринами. У клубовій кишці поросят II групи, яким застосовували кормову добавку “Глобіген джамп старт”, за кількістю келихоподібних клітин також спостерігали перевагу. На 14 добу кількість келихоподібних клітин була достовірно вищою на 6,4 клітини (P > 0,05) та на 14,6 (P > 0,001) на 28 добу досліді порівняно з контролем.

У поросят розвиток шлунково-кишкового тракту є специфічним і динамічним процесом, оскільки кишковий епітелій постійно піддається впливу мікроорганізмів, а також змінних типів кормів, таких як молоко свиноматки та тверда дієта, що містить різні інгредієнти. Раціон різко змінюється з рідкого на твердий, з нижчими смаковими якість та засвоюваністю. Цей період адаптації є однією з причин, чому фаза відлучення вважається найбільш критичною стадією під час розведення свиней (Smith et al., 2010). Крім того, раннє швидке відлучення призводить до морфологічних і фізіологічних змін кишечника, таких як атрофія ворсинок і гіперплазія крипт, і, як наслідок, знижується здатність кишечника перетравлювати і поглинати поживні речовини (Tucci et al., 2011).

Таблиця 3

Середня кількість келихоподібних клітин слизової оболонки тонкого відділу кишечника поросят за згодовування кормової добавки “Глобіген джамп старт” (n = 5, M ± SD)

Доби	Групи	Кількість келихоподібних клітин		
		Дванадцятипала к-ка	Порожня к-ка	Клубова к-ка
7 доба	До згодовування кормів	80,0 ± 5,47	52,0 ± 2,38	59,0 ± 4,3
14 доба	Контрольна	67,8 ± 5,38	41,2 ± 3,51	75,8 ± 3,16
	II група	71,0 ± 4,73	52,8 ± 2,35**	82,2 ± 1,24*
28 доба	Контрольна	94,6 ± 8,35	62,5 ± 2,59	68,0 ± 3,36
	II група	96,3 ± 5,36	75,6 ± 2,21***	82,6 ± 3,34***

Примітка: * P > 0,05, ** P > 0,01, *** P > 0,001 порівняно з контрольною групою

Шлунково-кишкові муцини, які виробляються келихоподібними клітинами, становлять основні структурні компоненти слизу. Муцини відіграють роль у підтримці гомеостазу слизової оболонки і відповідають за диференційні ефекторні та регуляторні реакції щодо різних видів мікроорганізмів, в тому числі й патогенів. Глікопротеїди муцинового типу вважаються одними з найважливіших компонентів неспецифічних бар’єрних механізмів кишечника. Саме тому поросят слід поступово привчати до твердих кормів ще в період до відлучення.

Висновки

Встановлено, що застосування поросят кормової добавки “Глобіген джамп старт” у різні періоди неонатального та постнатального онтогенезу позитивно впливало на морфологічно-функціональний стан слизової оболонки дванадцятипалої, порожньої та клубової кишок, сприяючи поліпшенню травної та всмоктувальної функції, генерації келихоподібних клітин, які синтезують глікопротеїни муцинового типу, забезпечуючи неспецифічні бар’єрні механізми слизової оболонки, що є важливим фактором для підвищення продуктивності поросят.

Перспективи подальших досліджень: вивчити вплив кормової добавки “Глобіген джамп старт” на морфометричні параметри ентерохлафінних клітин шлунково-кишкового тракту поросят.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

Amad, A. A., Männer, K., Wendler, K. R., Neumann, K., & Zentek, J. (2011). Effects of a phytogenic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 90(12), 2811–2816. DOI: 10.3382/ps.2011-01515.

Boniuk, N. V., & Shchebentovska, O. M. (2024). Morphometric features of the duodenal wall in piglets during different periods of postnatal and neonatal ontogeny under the influence of the ‘Globigen Jump Start’ feed additive. *The animal biology*, 26(2), 3–10. DOI: 10.15407/animbiol26.02.003.

Bontempo, V., Di Giancamillo, A., Savoini, G., Dell’Orto, V., & Domeneghini, C. (2006). Live yeast

dietary supplementation acts upon intestinal morpho-functional aspects and growth in weanling piglets. *Animal Feed Science and Technology*, 129(3-4), 224–236. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.12.015.

Carver, J. D., & Walker, W. A. (1995). The role of nucleotides in human nutrition. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 6(2), 58–72. DOI: 10.1016/0955-2863(94)00019-i.

Cera, K. R., Mahan, D. C., Cross, R. F., Reinhart, G. A., & Whitmoyer, R. E. (1988). Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. *Journal of animal science*, 66(2), 574–584. DOI: 10.2527/jas1988.662574x.

Hall, G. A., & Byrne, T. F. (1989). Effects of age and diet on small intestinal structure and function in gnotobiotic piglets. *Research in veterinary science*, 47(3), 387–392. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2512599>.

Jiang, Z., Wei, S., Wang, Z., Zhu, C., Hu, S., Zheng, C., Chen, Z., Hu, Y., Wang, L., Ma, X., & Yang, X. (2015). Effects of different forms of yeast *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, intestinal development, and systemic immunity in early-weaned piglets. *Journal of animal science and biotechnology*, 6, 47. DOI: 10.1186/s40104-015-0046-8.

Jin, L., Reynolds, L. P., Redmer, D. A., Caton, J. S., & Crenshaw, J. D. (1994). Effects of dietary fiber on intestinal growth, cell proliferation, and morphology in growing pigs. *Journal of animal science*, 72(9), 2270–2278. DOI: 10.2527/1994.7292270x.

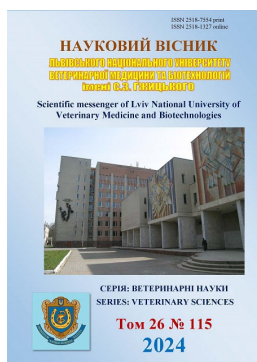
Kenworthy, R. (1976). Observations on the effects of weaning in the young pig. Clinical and histopathological studies of intestinal function and morphology. *Research in veterinary science*, 21(1), 69–75. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/951529>.

Kogan, G., & Kocher, A. (2007). Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science*, 109(1-3), 161–165. DOI: 10.1016/j.livsci.2007.01.134.

Lea, H., Spring, P., Taylor-Pickard, J., & Burton, E. (2012). A natural carbohydrate fraction Actigen™ from *Saccharomyces cerevisiae* cell wall: effects on goblet cells, gut morphology and performance of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Nutrition*, 1(9), 1–7. DOI: 10.1017/jan.2013.6.

Melo, A. D., Silveira, H., Luciano, F. B., Andrade, C., Costa, L. B., & Rostagno, M. H. (2016). Intestinal Alkaline Phosphatase: Potential Roles in Promoting Gut Health in Weanling Piglets and Its Modulation by Feed Additives -

- A Review. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 29(1), 16–22. DOI: 10.5713/ajas.15.0120.
- Moore, R. J., Kornegay, E. T., Grayson, R. L., & Lindemann, M. D. (1988). Growth, nutrient utilization and intestinal morphology of pigs fed high-fiber diets. *Journal of animal science*, 66(6), 1570–1579. DOI: 10.2527/jas1988.6661570x.
- Mulisch, M. & Welsch, U. (2015). *Romeis – Mikroskopische Technik*. Springer Spektrum Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-55190-1.
- Nabuurs, M. J., Hoogendoorn, A., van der Molen, E. J., & van Osta, A. L. (1993). Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circumstances in The Netherlands. *Research in veterinary science*, 55(1), 78–84. DOI: 10.1016/0034-5288(93)90038-h.
- Nowak, P., Kasprzowicz-Potocka, M., Zaworska, A., Nowak, W., Stefańska, B., Sip, A., Grajek, W., Grajek, K., & Frankiewicz, A. (2019). The Effect of Combined Feed Additives on Growing Pigs' Performance and Digestive Tract Parameters. *Annals of Animal Science*, 19(3), 807–819. DOI: 10.2478/aoas-2019-0030.
- Prudyus, T. Y., Shchegentovska, O., Salyha, Y. T., & Vorobel, M. I. (2023). Morphological changes in the immune system organs of piglets fed with different feed additives. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(4), 687–694. DOI: 10.15421/022398.
- Sauer, N., Mosenthin, R., & Bauer, E. (2011). The role of dietary nucleotides in single-stomached animals. *Nutrition research reviews*, 24(1), 46–59. DOI: 10.1017/S0954422410000326.
- Shen, Y. B., Piao, X. S., Kim, S. W., Wang, L., Liu, P., Yoon, I., & Zhen, Y. G. (2009). Effects of yeast culture supplementation on growth performance, intestinal health, and immune response of nursery pigs. *Journal of animal science*, 87(8), 2614–2624. DOI: 10.2527/jas.2008-1512.
- Smith, F., Clark, J. E., Overman, B. L., Tozel, C. C., Huang, J. H., Rivier, J. E., Blikslager, A. T., & Moeser, A. J. (2010). Early weaning stress impairs development of mucosal barrier function in the porcine intestine. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 298(3), 352–363. DOI: 10.1152/ajpgi.00081.2009.
- Tucci, F. M., Thomaz, M. C., Nakaghi, L. S. O., Hannas, M. I., Scandolera, A. J., Budiño, F. E. L. (2011). The effect of the addition of trofic agents in weaned piglet diets over the structure and ultrastructure of small intestine and over performance. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 63(4), 931–940. DOI: 10.1590/S0102-09352011000400019.
- Van der Aar, P. J., Molist, F., & Van der Klis, J. D. (2017). The central role of intestinal health on the effect of feed additives on feed intake in swine and poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 233, 64–75. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2016.07.019.
- van der Peet-Schwering, C. M., Jansman, A. J., Smidt, H., & Yoon, I. (2007). Effects of yeast culture on performance, gut integrity, and blood cell composition of weanling pigs. *Journal of animal science*, 85(11), 3099–3109. DOI: 10.2527/jas.2007-0110.
- Waititu, S. M., Heo, J. M., Patterson, R., & Nyachoti, C. M. (2016). Dietary yeast-based nucleotides as an alternative to in-feed antibiotics in promoting growth performance and nutrient utilization in weaned pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 96(3), 289–293. DOI: 10.1139/cjas-2015-0067.



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/nvlvet11519
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619.615.5

Determination of the toxicity of a disinfectant by dermal application

V. I. Kushnir[✉]

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

Article info

Received 01.07.2024
Received in revised form
01.08.2024
Accepted 02.08.2024

State Scientific-Research Control
Institute of Veterinary Medicinal
Products and Feed Additives,
Donetska Str., 11,
Lviv, 79019, Ukraine.
Tel.: +38-098-966-30-20
E-mail: wolodjak@gmail.com

Kushnir, V. I. (2024). Determination of the toxicity of a disinfectant by dermal application. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 135–139. doi: 10.32718/nvlvet11519

The article presents the results of studying the subacute toxicity of a disinfectant made on the basis of meta-cresol by the classical method and according to the methodology of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). The study of the subacute toxicity of the disinfectant by the classic method did not cause significant changes in the body weight of animals and the weight coefficients of the weight of internal organs, as well as changes in hematological indicators. In the animals of the II and III experimental groups, which were administered the drug under study in doses of 2500 and 5000 mg/kg body weight, a slight increase in the content of total protein, the level of creatinine, urea, and the activity of ALT and AST were noted. When studying the effect of the tested agent on the organism of laboratory animals in accordance with the methodology of the OECD № 410, it was established that in the animals of the II experimental group, which were administered the tested agent at a dose of 2500 mg/kg body weight, the mass of the spleen, heart, and kidneys slightly increased against the background of a decrease in animal body weight by 9.8 % ($P < 0.05$) and liver weight coefficients by 10.1 % ($P < 0.01$). During the blood test, there was a probable decrease in the number of leukocytes by – 33.5 % ($P < 0.01$), total protein content by – 7.4 % ($P < 0.05$), creatinine by – 5.0 % ($P < 0.05$), urea by – 25.6 % ($P < 0.001$). In the animals of the III research group, which received the tested agent at a dose of 5000 mg/kg body weight, an increase in the mass of the spleen, heart, and kidneys was noted, respectively, by –12.9 %, 14.4 %, and 20.7 % ($P < 0.05$). An increase in creatinine and urea was also established, respectively, by – 13.9 % ($P < 0.05$), 27.9 % ($P < 0.001$). In addition, against the background of an increase in the number of erythrocytes, the concentration of hemoglobin, the average content of hemoglobin in an erythrocyte, the average volume of an erythrocyte, and the average concentration of hemoglobin in an erythrocyte slightly decreased.

Key words: laboratory rats, subacute toxicity, hematological indicators, biochemical indicators, OECD test, GHS.

Вивчення токсичності дезінфікуючого засобу за нашкірного застосування

В. І. Кушнір[✉]

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

У статті наведені результати вивчення підгострої токсичності дезінфікуючого засобу, виготовленого на основі метакрезолу класичним методом та згідно з методикою організації економічного співробітництва та розвитку (ОЕСД). Вивчення підгострої токсичності дезінфікуючого засобу класичним методом не викликало суттєвих змін маси тіла тварин та вагових коефіцієнтів маси внутрішніх органів, а також змін у гематологічних показниках. У тварин II та III дослідних груп, яким застосовували досліджуваний засіб у дозах 2500 та 5000 мг/кг м. т. виявляли незначне зростання вмісту загального білка, рівня креатиніну, сечовини та активності АлАТ і АсАТ. При вивченні впливу досліджуваного засобу на організм лабораторних тварин згідно з методикою ОЕСД № 410 було встановлено, що у тварин II дослідної групи, яким застосовували досліджуваний засіб у дозі 2500 мг/кг м. т. незначно зростала маса селезінки, серця та нирок на тлі зниження маси тіла тварин на 9,8 % ($P < 0.05$) та вагових коефіцієнтів маси печінки на 10,1 % ($P < 0.01$). При дослідженні гематологічних показників було встановлено вірогідне зниження кількості лейкоцитів на 33,5 % ($P < 0.01$), вмісту загального білка та креатиніну відповідно на 7,4 та 5,0 % ($P < 0.05$), а сечовини

– на 25,6 % ($P < 0,001$). У тварин III дослідної групи, яким застосовували досліджуваний засіб у дозі 5000 мг/кг м. т., виявляли зростання маси селезінки, серця, нирок відповідно на 12,9 %, 14,4 % та 20,7 % ($P < 0,05$). Також встановлено зростання рівня креатиніну та сечовини відповідно на 13,9 ($P < 0,05$), 27,9 % ($P < 0,001$). Крім того, на тлі підвищення кількості еритроцитів встановили незначне зниження концентрації гемоглобіну, середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті, середнього об'єму еритроцита та середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті.

Ключові слова: лабораторні щури, підгостра токсичність, гематологічні показники, біохімічні показники, тест ОЕСД, УГС.

Вступ

Ефективність проведення дезінфекційних заходів залежить від вибору біоциду. Основними факторами, що впливають на дієвість та ефективність дезінфікуючих засобів є широкий спектр антимікробної дії (активність проти вірусів та бактерій за різних температур і рН середовища), безпечність (відсутність емпіотоксичних, тератогенних, канцерогенних, алергенних і кумулятивних властивостей), низька корозійна активність, висока проникна здатність тощо (Tenzin et al., 2019; Wales et al., 2021). Проте сьогодні немає універсального засобу, який би відповідав вищеперахованим властивостям, це пов'язано з сучасними вимогами до біологічної та екологічної безпеки (Titova, 2018), а також із формуванням резистентності мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів за рахунок довготривалого використання біоцидів із однієї хімічної групи, використання занижених концентрацій робочих розчинів, порушення правил зберігання, приготування та використання дезінфекційних засобів (Kasianenko et al., 2019). Варто зазначити, що проблемі резистентності мікроорганізмів до дезінфікуючих засобів, незважаючи на її актуальність та епізоотологічне значення в Україні, досліджено недостатньо (Ordynska et al., 2023).

Тому актуальним є пошук ефективних деззасобів, при цьому особливої уваги заслуговують дезінфікуючі засоби, виготовлені на основі крезолу. Крезоли – це органічні сполуки, похідні фенолу, які є у вигляді трьох ізомерів: мета-(m-), орто-(o-) і пара-(p-). В основному крезоли отримують із вугілля, нафти, кам'яновугільної смоли шляхом піролізу (Yan et al., 2022). У хімічній промисловості крезоли використовують для виробництва фенольних смол, інсектицидів та консервантів (Liu & Zhang, 2022). Крім того, вони можуть використовуватися як прекурсори для багатьох полімерів, фармацевтичних препаратів, пестицидів і барвників (Fiege, 2000). Також крезоли використовують для виробництва дезінфікуючих засобів, а деякі ізомери крезолу – у парфумерній промисловості (Judis, 1962; Boatto et al., 2004).

Особливої уваги серед ізомерів крезолу заслуговує m-крезол, який використовується як консервант та дезінфікуючий засіб (Lambert et al., 2003; Meyer et al., 2007; Abd-Elsalam et al., 2011). Також m-крезол використовується в ліках від кашлю та застуди, синтетичних піретроїдних інсектицидах та як місцевий стоматологічний антисептик. Однак варто зазначити, що m-крезол – це фенольна сполука з сильним подразнюючим і корозійним впливом на шкіру та слизові оболонки, яка може спричинити ушкодження печінки, нирок, підшлункової залози та інших органів (Paiva et al., 2016).

Мета досліджень

Метою досліджень було визначити у порівняльному аспекті підгостру нашкодженість токсичність дезінфікуючого засобу, виготовленого на основі m-крезолу, національним методом (класичним) та згідно з тест-методом ОЕСД № 410 (OECD, 1981).

Матеріал і методи досліджень

При вивченні впливу досліджуваного засобу на організм лабораторних тварин за тривалого нашкодженого застосування класичним методом було сформовано за принципом аналогів 4 групи тварин по 5 в кожній. Тваринам контрольної групи на підготовлену ділянку тіла наносили воду, а тваринам дослідних груп – 1 % досліджуваний засіб у дозах 500, 2500 та 5000 мг/кг м. т. (Kotsiumbas et al., 2006; Gutty et al., 2017; Todoruk et al., 2018; Kushnir et al., 2022; Martyschuk et al., 2022).

При вивченні нашкодженості досліджуваного засобу за тривалого застосування згідно з методикою ОЕСД № 410 (OECD, 1981) було сформовано за принципом аналогів 4 групи тварин по 5 в кожній. Досліджуваний засіб витримували в контакт з шкірою за допомогою пористої марлевої пов'язки та неподразливої стрічки упродовж 6 годин. Тваринам контрольної групи на попередньо підготовлену ділянку тіла наносили воду, тваринам дослідних груп – 1 % досліджуваний засіб у дозах 500, 2500 та 5000 мг/кг м. т. Після закінчення періоду експозиції залишки досліджуваного препарату видаляли. Досліджуваний засіб наносили на шкіру щоденно упродовж 28 днів.

На наступну добу після закінчення нанесення досліджуваного засобу лабораторних тварин за легкого ефірного наркозу декапітували, відбирали проби крові для гематологічних і біохімічних досліджень та визначали вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів.

Для гематологічних досліджень використовували кров стабілізовану ЕДТА, а для біохімічних досліджень – сироватку крові. В стабілізованій крові визначали: вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, гематокрит, кількість лейкоцитів, MCH, MCV, MCHC – за допомогою гематологічного аналізатора Mythic-18. У сироватці крові визначали: загальний білок за допомогою рефрактометра ІРФ-22, активність ферментів (АлАТ, АсАТ), вміст креатиніну, сечовини за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора HumaLyzor 3000 з використанням стандартних наборів фірми Human.

Результати та їх обговорення

Тривале 28-добове нашкоджене застосування досліджуваного засобу класичним методом не викликало запальних процесів шкіри, захворювань чи загибелі

лабораторних тварин. При цьому у тварин II та III дослідних груп виявляли незначне зростання вагових коефіцієнтів маси серця та нирок на тлі незначного зниження маси печінки (табл. 1).

При вивченні впливу досліджуваного засобу на гематологічні показники (табл. 2) у тварин усіх дослідних груп не встановлено суттєвих змін у концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів, лейкоцитів, величини гематокриту, середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС), середньому об'ємі

еритроцита (MCV), середньому вмісті гемоглобіну в еритроциті (MCH) та кількості тромбоцитів.

Аналізуючи біохімічні показники сироватки крові, встановлено, що застосування досліджуваного засобу в тварин I дослідної групи (табл. 3) викликало незначне зростання рівня креатиніну, сечовини та активності АлАТ і АсАТ на тлі зниження вмісту загального білка.

Водночас у тварин II та III дослідних груп виявляли незначне зростання вмісту загального білка, рівня креатиніну, сечовини та активності АлАТ і АсАТ.

Таблиця 1

Вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 29-у добу досліді (M ± m, n = 5)

Внутрішні органи	Групи тварин			
	Контроль	I група	II група	III група
Печінка	35,3 ± 1,88	35,8 ± 1,68	33,9 ± 0,87	34,1 ± 1,66
Селезінка	2,52 ± 0,09	2,6 ± 0,05	2,68 ± 0,14	2,5 ± 0,21
Серце	3,68 ± 0,16	3,56 ± 0,20	3,73 ± 0,15	3,94 ± 0,06
Легені	8,06 ± 0,59	9,67 ± 0,86	8,59 ± 0,47	7,33 ± 0,57
Нирки	7,64 ± 0,19	7,84 ± 0,25	8,04 ± 0,28	7,76 ± 0,34
Маса тіла	210,8 ± 7,49	209,2 ± 6,08	213,6 ± 5,11	211,4 ± 5,09

Таблиця 2

Гематологічні показники білих щурів на 29-у добу досліді (M ± m, n = 5)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	I група	II група	III група
Гемоглобін, г/л	156,0 ± 3,45	155,2 ± 3,27	157,4 ± 4,76	160,2 ± 2,24
Еритроцити, Т/л	7,05 ± 0,08	6,9 ± 0,19	7,22 ± 0,37	7,11 ± 0,14
Лейкоцити, г/л	9,98 ± 0,55	9,6 ± 1,29	8,66 ± 0,59	8,78 ± 1,05
Гематокрит, %	38,7 ± 0,69	39,8 ± 0,56	39,9 ± 0,74	38,8 ± 0,54
МСН, пг	22,1 ± 0,38	22,6 ± 0,85	21,9 ± 0,72	22,5 ± 0,26
МСНС, г/дл	40,2 ± 0,36	39,1 ± 1,32	39,5 ± 1,66	41,3 ± 0,79
MCV, мкм ³	54,9 ± 0,49	57,9 ± 2,08	55,9 ± 3,64	54,6 ± 1,48
Тромбоцити, Г/л	771,6 ± 74,5	753,6 ± 59,6	780,4 ± 44,3	759,8 ± 58,8

Таблиця 3

Біохімічні показники сироватки крові білих щурів на 29-у добу досліді (M ± m, n = 5)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	I група	II група	III група
Загальний білок, г/л	73,1 ± 2,32	71,3 ± 2,54	74,2 ± 2,72	76,7 ± 1,39
Креатинін, мкмоль/л	62,3 ± 3,12	63,0 ± 3,54	64,9 ± 3,57	65,7 ± 3,69
Сечовина, ммоль/л	9,04 ± 0,49	9,68 ± 0,99	10,4 ± 0,41	10,6 ± 0,91
АсАТ, Од/л	205,1 ± 9,28	206,7 ± 13,2	209,6 ± 11,7	211,4 ± 12,4
АлАТ, Од/л	72,5 ± 4,79	73,2 ± 5,01	75,6 ± 3,83	76,5 ± 3,15

Отже, при вивченні підгострої нашкоїрної токсичності досліджуваного засобу класичним методом суттєвих змін у вагових коефіцієнтах внутрішніх органів, гематологічних та біохімічних показниках сироватки крові не виявляли, що дає підставу стверджувати про відсутність токсичного впливу на організм лабораторних тварин.

При дослідженні деззасобу методом OECD № 410 встановлено, що його 28-добове нашкоїрне застосування не викликало загибелі чи захворювань лабораторних тварин. Тварини були активними, охоче поїдали корми, шерсть була блискучою, густою, добре прилягала до тіла. Слизова оболонка ротової та носо-

вої порожнини блідо-рожевого кольору, блискуча, секретія збережена.

Однак при визначенні вагових коефіцієнтів маси внутрішніх органів білих щурів (табл. 4) у тварин I, II та III дослідних груп зростала маса селезінки відповідно на 2,4 %, 9,7 % та 12,9 % (P < 0,05), серця – на 3,0 %, 5,1 % та 14,4 % (P < 0,05), нирок – на 3,2 %, 9,7 % та 20,7 % (P < 0,05). Такі процеси відбувалися на тлі зниження вагових коефіцієнтів маси печінки на 10,3 % (P < 0,05), 10,1 % (P < 0,01) і 8,9 % (P < 0,01) та маси тіла тварин на 5,8 %, 5,5 % і 9,8 % (P < 0,05).

При визначенні гематологічних показників отримали дані, що наведені в таблиці 5.

Таблиця 4

Вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 29-у добу досліду ($M \pm m$, $n = 5$)

Внутрішні органи	Групи тварин			
	Контроль	I група	II група	III група
Печінка	35,8 $\pm$ 0,57	32,6 $\pm$ 0,48**	32,2 $\pm$ 0,61**	31,5 $\pm$ 1,48*
Селезінка	2,48 $\pm$ 0,07	2,54 $\pm$ 0,09	2,72 $\pm$ 0,17	2,80 $\pm$ 0,11*
Серце	3,69 $\pm$ 0,21	3,80 $\pm$ 0,16	3,88 $\pm$ 0,15	4,22 $\pm$ 0,07*
Легені	8,35 $\pm$ 0,54	8,78 $\pm$ 0,88	7,56 $\pm$ 0,31	8,32 $\pm$ 0,90
Нирки	7,11 $\pm$ 0,32	7,34 $\pm$ 0,19	7,8 $\pm$ 0,40	8,58 $\pm$ 0,39*
Маса тіла	212,0 $\pm$ 4,36	199,8 $\pm$ 8,06	200,4 $\pm$ 7,39	191,2 $\pm$ 4,79

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$

Таблиця 5

Гематологічні показники білих щурів на 29-у добу досліду ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	I група	II група	III група
Гемоглобін, г/л	153,0 $\pm$ 2,07	155,2 $\pm$ 0,86	151,6 $\pm$ 2,94	144,6 $\pm$ 6,62
Еритроцити, Т/л	7,07 $\pm$ 0,16	6,97 $\pm$ 0,07	7,18 $\pm$ 0,12	7,02 $\pm$ 0,24
Лейкоцити, г/л	11,1 $\pm$ 0,38	8,5 $\pm$ 0,41**	8,26 $\pm$ 0,72**	7,38 $\pm$ 0,95**
Гематокрит, %	39,6 $\pm$ 0,42	40,2 $\pm$ 0,35	39,7 $\pm$ 0,77	38,02 $\pm$ 1,73
МСН, пг	21,7 $\pm$ 0,53	22,3 $\pm$ 0,25	21,1 $\pm$ 0,29	20,6 $\pm$ 0,41
МСНС, г/дл	38,7 $\pm$ 0,17	38,6 $\pm$ 0,15	38,1 $\pm$ 0,12	38,3 $\pm$ 0,24
MCV, мкм ³	56,1 $\pm$ 1,31	57,7 $\pm$ 0,77	55,4 $\pm$ 0,89	53,7 $\pm$ 0,79
Тромбоцити, Г/л	825,4 $\pm$ 22,9	816,2 $\pm$ 29,1	800,4 $\pm$ 116,8	693,8 $\pm$ 87,1

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$

При нашкірному 28-добовому застосуванні досліджуваного засобу (табл. 5), у тварин усіх дослідних груп відбувалося вірогідне зниження лейкоцитів, зокрема у I групі на 23,4 % ($P < 0,01$), II – 25,6 % ($P < 0,01$), у III – на 33,5 % ($P < 0,01$). Усі решта гематологічні показники суттєво не змінювалися.

При визначенні біохімічних показників сироватки крові (табл. 6) встановили, що застосування досліджуваного засобу в тварин I дослідної групи викликало вірогідне зростання вмісту загального білка на 7,3 % ($P < 0,05$), рівня креатиніну на 4,5 %

($P < 0,05$) на тлі вірогідного зниження рівня сечовини на 15,5 % ($P < 0,01$). При цьому вірогідних змін у активності ензимів сироватки крові не було виявлено.

У тварин II та III дослідних груп виявляли вірогідне зниження вмісту загального білка відповідно на 5,8 % ($P < 0,05$) та 7,4 % ($P < 0,05$), при цьому вірогідно зростав рівень креатиніну відповідно на 5,0 % ($P < 0,05$) та 13,9 % ($P < 0,05$), сечовини – на 25,6 % ($P < 0,001$) та 27,9 % ($P < 0,001$). За цих умов встановили незначне зростання активності АсАТ та АлАТ.

Таблиця 6

Біохімічні показники крові білих щурів на 29-у добу досліду ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	I група	II група	III група
Загальний білок, г/л	72,5 $\pm$ 1,27	77,8 $\pm$ 1,92*	68,3 $\pm$ 0,89*	67,1 $\pm$ 1,14*
Креатинін, мкмоль/л	57,6 $\pm$ 0,74	60,2 $\pm$ 0,81*	60,5 $\pm$ 1,01*	65,6 $\pm$ 2,78*
Сечовина, ммоль/л	8,52 $\pm$ 0,06	7,2 $\pm$ 0,43*	10,7 $\pm$ 0,24***	10,9 $\pm$ 0,23***
АсАТ, Од/л	205,2 $\pm$ 4,83	209,1 $\pm$ 13,9	210,3 $\pm$ 6,19	216,4 $\pm$ 13,3
АлАТ, Од/л	72,1 $\pm$ 2,74	69,3 $\pm$ 3,64	77,6 $\pm$ 4,95	81,1 $\pm$ 4,04

Примітка: * – $P < 0,05$, *** – $P < 0,001$

Висновки

Дослідження підгострої нашкірної токсичності дезінфікуючого засобу класичним методом не дало змоги встановити токсичний вплив на організм тварин, оскільки не виявляли суттєвих змін у гематологічних, біохімічних показниках та вагових коефіцієнтах маси внутрішніх органів лабораторних тварин.

Довготривале нашкірне застосування досліджуваного засобу, проведене тест-методом ОЕСД № 410, спричинювало зростання коефіцієнтів маси внутрішніх органів, зміни біохімічних показників сироватки

крові білих щурів, зокрема вмісту загального білка, рівня креатиніну, сечовини, активності АсАТ, АлАТ та зниження кількості лейкоцитів.

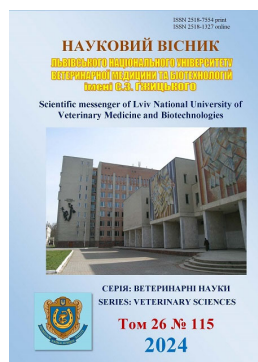
Перспективи подальших досліджень: визначення токсичності у порівняльному аспекті різних хіміотерапевтичних засобів.

Відомості про конфлікт інтересів

Автор стверджує про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abd-Elsalam, M., Abdoon, N., & Al-Ahaidib, M. (2011). What is the optimum concentration of m-cresol in anti-venoms? *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 17(1), 12–22. URL: <https://www.scielo.br/j/jvatitd/a/XTCL8khFkZMqgJWG3YymCpq/?format=pdf&lang=en>.
- Boatto, G., Nieddu, M., Carta, A., Pau, A., Lorenzoni, S., Manconi, P., & Serra, D. (2004). Determination of phenol and o-cresol by GC/MS in a fatal poisoning case. *Forensic science international*, 139(2-3), 191–194. DOI: 10.1016/j.forsciint.2003.10.023.
- Fiege, H. (2000). Cresols and xlenols. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. DOI: 10.1002/14356007.a08_025.
- Gutyj, B., Grymak, Y., Drach, M., Bilyk, O., Matsjuk, O., Magrelo, N., Zmiya, M., & Katsaraba, O. (2017). The impact of endogenous intoxication on biochemical indicators of blood of pregnant cows. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(3), 438–443. DOI: 10.15421/021768.
- Judis, J. (1962). Studies on the mechanism of action of phenolic disinfectants. I. Release of radioactivity from carbon-14-labeled *Escherichia coli*. *Journal of pharmaceutical sciences*, 51, 261–265. DOI: 10.1002/jps.2600510317.
- Kasianenko, O. I., Berezovskyi, A. V., Kasianenko, S. M., & Dolbonosova, R. V. (2019). Analiz rynku dezinfikuiuchykh zasobiv v Ukraini. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu veterynarnykh preparativ ta kormovykh dobavok i Instytutu biolohii tvaryn*, 20(2), 439–445. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt_2019_20_2_58 (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ia., Malyk, O. H., & Patereha, I. P. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv. L.: Triada plius* (in Ukrainian).
- Kushnir, V. I., Kushnir, I. M., Patereha, I. P., Kutsan, O. T., Zhovnir, O. M., & Gutyj, B. V. (2022). Comparative assessment of various methods of studying the skin toxicity of a wound-healing drug. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 5(2), 3–7. DOI: 10.32718/ujvas5-2.01.
- Lambert, R. J., Johnston, M. D., Hanlon, G. W., & Denyer, S. P. (2003). Theory of antimicrobial combinations: biocide mixtures - synergy or addition?. *Journal of applied microbiology*, 94(4), 747–759. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2003.01908.x.
- Liu, Q., & Zhang, X. (2022). Highly efficient separation of phenolic compounds from low-temperature coal tar by composite extractants with low viscosity. *Journal of Molecular Liquids*, 360, 119417. DOI: 10.1016/j.molliq.2022.119417.
- Martyshuk, T., Gutyj, B., Vyshchur, O., Paterega, I., Kushnir, V., Bigdan, O., Bushueva, I., Parchenko, V., Mykhailiuk, E., Aleksieiev, O., & Tkachenko, N. (2022). Study of Acute and Chronic Toxicity of “Butaselmavit” on Laboratory Animals. *Archives of Pharmacy Practice*, 13(3), 70–75. DOI: 10.51847/XHwVCyfbZ3.
- Meyer, B. K., Ni, A., Hu, B., & Shi, L. (2007). Antimicrobial preservative use in parenteral products: past and present. *Journal of pharmaceutical sciences*, 96(12), 3155–3167. DOI: 10.1002/jps.20976.
- OECD (1981). Test No. 410 “Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study”. URL: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-410-repeated-dose-dermal-toxicity-21-28-day-study_9789264070745-en.
- OECD (2017). Test No. 402: Acute Dermal Toxicity, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. URL: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-402-acute-dermal-toxicity_9789264070585-en.
- Ordynska, D., Horbatiuk, O., Musiiets, I., Kravtsova, O., Karvatko, T., Prydiuk, O., & Pyskun, O. (2023). Rezystentnist mikroorhanizmiv do dii dezinfikuiuchykh zasobiv. *Materialy naukovo-praktychnoi onlain konferentsii «Bezpechnist ta yakist kharchovykh produktiv u kontseptsii «Iednye zdorovia»*. 1–2 chervnia 2023 r. m. Lviv, 50–51. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/conferences/article/view/4789/4901> (in Ukrainian).
- Paiva, T. O., Bastos, A. E. P., Marquês, J. T., Viana, A. S., Lima, P. A., & de Almeida, R. F. M. (2016). m-Cresol affects the lipid bilayer in membrane models and living neurons. *RSC Adv.*, 6, 105699–105712. DOI: 10.1039/C6RA20337J.
- Tenzin, S., Ogunniyi, A. D., Khazandi, M., Ferro, S., Bartsch, J., Crabb, S., Abraham, S., Deo, P., & Trott, D. J. (2019). Decontamination of aerosolised bacteria from a pig farm environment using a pH neutral electrochemically activated solution (Ecas4 anolyte). *PloS one*, 14(9), e0222765. DOI: 10.1371/journal.pone.0222765.
- Titova, T. V. (2018). *Veterynarno-tekhnichni kharakterystyky suchasnykh dezinfektsiinykh zasobiv. Visnyk Sumskoho natsionalnoho aharnoho universytetu. Seriiia “Veterynarna medytsyna”*, 1(42), 272–274. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_vet_2018_1_76 (in Ukrainian).
- Todoriuk, V., Hunchak, V., Gutyj, B., Gufriy, D., Hariv, I., Khomyk, R., & Vasiv, R. (2018). Preclinical research of the experimental preparation “Ferosel T”. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 1(1), 3–9. DOI: 10.32718/ujvas1-1.01.
- Wales, A. D., Gosling, R. J., Bare, H. L., & Davies, R. H. (2021). Disinfectant testing for veterinary and agricultural applications: a review. *Zoonoses Public. Health*, 68(5), 361–375. DOI: 10.1111/zph.12830.
- Yan, W., Wei, X., Li, J., Wang, M., Bai, H., & Zong, Z. (2022). Priority separation of phenols with deep eutectic solvents from an acetonitrile-extractable portion of a shale oil: experimental and computational. *Energy Fuels*, 36(11), 5657–5665. DOI: 10.1021/acs.energyfuels.2c00403.



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/nvlvet11520
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 57.083.1:611.34:577.115:636.5

Biodiversity of microorganisms in the duodenum of broiler chickens under the influence of short-chain fatty acids and monoglycerides

L. M. Tamchuk, D. M. Masiuk✉

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 04.07.2024

Received in revised form

05.08.2024

Accepted 06.08.2024

Dnipro State Agrarian and
Economic University, Serhiya
Yefremova Str., 25, Dnipro,
49000, Ukraine.
Tel.: +38-050-636-62-37
E-mail: dimasiuk@gmail.com

Tamchuk, L. M., & Masiuk, D. M. (2024). Biodiversity of microorganisms in the duodenum of broiler chickens under the influence of short-chain fatty acids and monoglycerides. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 140–144. doi: 10.32718/nvlvet11520

The clear understanding of the taxa composition of the intestinal bacterial community will allow beneficial manipulation of the gut flora to improve gut health and broiler productivity. However, the integrative impact of short chain fatty acids and monoglycerides (SCFA-M) on the microbiota biodiversity of the duodenum in broiler chickens has been overlooked by researchers, which underpins the relevance of our study. The study was conducted on Cobb 500 broiler chickens under industrial poultry farm conditions. The broilers in the experimental group were given the IP. Enterin C3 – C10 formulation (in a dose of 1.5 L/30 L of 1 % water) supplemented via drinking water. PCR results revealed only genetic material related to *Escherichia coli* in the duodenum of the broiler chickens. No evidence for colonization of *Clostridium perfringens* or other microorganisms from the *Eimeria* sp. family were found. The bacterial presence of *Eimeria acervulina* in the duodenum was established on 27 and 34 days of life, that is evidence of the coccidiosis progression in the poultry. In 29-day-old broilers in the control group, the extent of duodenal colonization by *E. acervulina* was 67 % with an intensity of $2.17 \times 10^5 \pm 3.21 \times 10^4$ g-e. The extent of colonization was the similar for both 29-th and 36-th days of life. However, the intensity of colonization was decreased to $1.41 \times 10^7 \pm 8.48 \times 10^6$ g-e. level. The extent of colonization decreased to 33% as well as the intensity decline was equal 3.37×10^5 g-e. The supplementation of SCFA-M induced the extent of duodenal colonization by *E. acervulina* about 17% decline in 29-day-old broilers in the experimental group. However, the rate of colonization intensity was significantly higher and equal $9.6 \times 10^6 \pm 4.7 \times 10^5$ g-e. The extent of colonization was increased to 100%, while the colonization intensity growth was rise to $2.9 \times 10^8 \pm 1.5 \times 10^7$ g-e. Contrary, there was no observed the genetic material of *E. acervulina* in the experimental group on 45-th day of life. Obtained data evidence that C3 – C10 formulation can be applied to manipulate microbiome community. Future research prospects include developing a SCFA-M administration scheme for broiler chickens to replace or minimize the use of antibacterial drugs in poultry farming.

Key words: broiler chickens, duodenum, SCFA-M, microbiome, biodiversity.

Біорізноманіття мікроорганізмів у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів за дії коротко ланцюгових жирних кислот та моногліцеридів

Л. М. Тамчук, Д. М. Масюк✉

Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Детальне розуміння таксономічного складу бактеріальної спільноти дозволить маніпулювати кишковою флорою для покращення здоров'я кишечника та продуктивності бройлерів. Однак, питання стосовно комплексного впливу коротко ланцюгових жирних кислот та моногліцеридів органічних кислот (КЖК-М) на біорізноманіття мікробіому дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів залишаються нерозкритими, що обумовлює актуальність таких досліджень в умовах обмеження використання антибіотиків. Дослід проведений на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 в умовах промислової птахофабрики. Курчатам дослідної групи з водою випоювали препарат IP. Enterin C-3 – C-10 (у дозі 1,5 л /30 л води 1 %). За результатами ПЛР-досліджень у дванадцятипа-

лій кишці курчат-бройлерів виявлено переважно генетичний матеріал *E. acervulina*. Ознак колонізації кишечника бактеріями *Clostridium perfringens* та іншими видами мікроорганізмів з родини *Eimeria* sp. не виявлено. Визначений вміст *Eimeria acervulina* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів на 27 та 34 добу життя вказує на активізацію кокцидіозу у промислової птиці. Екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* була 67% при інтенсивності колонізації $2,17 \times 10^5 \pm 3,21 \times 10^4$ з.-е. у 29-добових курчат-бройлерів контрольної групи. Екстенсивність колонізації з 29-ї до 36-ї доби життя курчат була однаковою, однак інтенсивність колонізації спадала на $1,41 \times 10^7 \pm 8,48 \times 10^6$ з.-е. за цей період. До 45-ї доби життя курчат відбулось зменшення екстенсивності колонізації до 33% та інтенсивності колонізації до $3,37 \times 10^5$ з.-е. За дії КЖК-М у 29-добових курчат-бройлерів дослідної групи екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* була меншою на 17% при значно більшій інтенсивності колонізації $9,6 \times 10^6 \pm 4,7 \times 10^5$ з.-е. З 29-ї до 36-ї доби життя курчат екстенсивність колонізації підвищується до 100% , а інтенсивності колонізації становить $2,9 \times 10^8 \pm 1,5 \times 10^7$ з.-е. Однак, у складі мікробіому 45-добових курчат дослідної генетичний матеріал *E. acervulina* не був виявлений. Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні схеми задавання КЖК-М курчатам-бройлерам, які замінять, або мінімізують застосування антибактеріальних препаратів у птахівництві.

Ключові слова: курчата-бройлери, дванадцятипала кишка, КЖК-М, мікробіом, біорізноманіття.

Вступ

Сучасні дослідження використовують технології секвенування для характеристики мікробних спільнот, що колонізують травний тракт курей, та для відстеження розвитку цих спільнот у ході вирощування (Glendinning et al., 2019). Відомо, що мікробіота впливає на розвиток і функціональну спроможність кишечника господаря. У свою чергу, здоровий кишечник є критичною складовою росту, продуктивності та загального стану здоров'я птахів. Різні фактори, такі як дієта та вік птиці, мають значний вплив на різноманітність і склад мікробіому курчат, який виявляє зростання біорізноманіття з віком (Rychlik, 2020). Кожен відділ травного тракту має власні функціональні особливості та унікальне мікробне біорізноманіття, яке динамічно змінюється в залежності від породи, віку, лінії, складу дієти та умов навколишнього середовища. Сприятливий вплив кишкової мікробіоти на фізіологічні, метаболічні, імунологічні функції, травлення та засвоєння поживних речовин у господаря був продемонстрований в останні роки (Shang et al., 2018). Молекулярні підходи, що включають вивчення структури бактеріальних спільнот шляхом аналізу мікробної ДНК, допомогли значно розширити наші уявлення про стан мікробіому у тварин (Fathima et al., 2022). Краще розуміння таксономічного складу бактеріального співтовариства дозволить маніпулювати кишковою флорою для покращення здоров'я кишечника та продуктивності курей (Al-Marzooqi, 2022).

На сьогодні актуальною проблемою птахівництва є заміна антимікробних засобів на безпечні аналоги із збереженням достатньої ефективності щодо патогенів і безпечності для здоров'я птахів (Abdelli et al., 2021). Одним з найбільш перспективних засобів пригнічення патогенів є комбіноване використання коротко ланцюгових жирних кислот та моногліцеридів органічних кислот (КЖК-М) (Masiuk et al., 2024).

Мета дослідження

Враховуючи вищезазначені виклики, метою представленого дослідження було встановлення ефектів фракціонованого випоювання КЖК-М курчатам-бройлерам протягом технологічного циклу на біорізноманіття їх дванадцятипалої кишки.

Матеріал і методи досліджень

Робота проведена на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 в умовах промислової птахофабрики. Для проведення дослідження було сформовано 2 групи курчат добового віку – дослідна (55000 курчат) та контрольна (36000 курчат), які знаходились в окремих ідентичних пташниках. Щільність посадки в контрольній та дослідній групах була однаковою і складала в середньому 21 курча/м². Контрольну групу бройлерів вирощували за стандартним протоколом підприємства. Вирощування птиці відбувалось за сучасними технологіями впровадженими на підприємстві з урахуванням та дотриманням основних вимог біологічної безпеки, що впроваджено на виробництві у вигляді відповідних робочих інструкцій по дотриманню ветеринарно-санітарних правил. Птиці дослідної групи на 16–18-, 22–29-, 32–37-у добу життя з водою випоювали препарат IP. Enterin C3 – C10 (у дозі 1,5л /30л води 1 %). Склад суміші: моногліцериди – 46 %, ди-гліцериди – 23 %, тригліцериди 2 %, вільний гліцерин – 21 %. Кислоти етерифіковані гліцерином – C3 – пропіонова, C4 – масляна, C8-C10 – каприлова і капринова кислоти. Для дослідження кишкового мікробіому у 16, 22, 29, 36 і 45 денному віці відбирали по 6 курчат-бройлерів. Від курчат відбирали зразки тканини дванадцятипалої кишки та зразки вмісту тонкого кишечника після евтаназії. Екстракцію нуклеїнових кислот з відібраних зразків проводили у декілька етапів. Спочатку біологічний матеріал поміщали у пробірку до якої додавали лізуючий буферний розчин ATL Buffer® (Biosellal, Франція) та кварцеві кульки. Пробірку поміщали у ротор гомогенізатору FastPrep-24, де відбувалась гомогенізація досліджуваних мазків. З отриманого гомогенату відбирали по 200 мкл, з якого екстрагували нуклеїнові кислоти (НК) за допомогою комерційного комплексу реактивів “BioExtract Premium Mag” на приладі для автоматичної екстракції нуклеїнових кислот “KingFisher Duo”. У екстрактах НК визначали наявність та розраховували кількість ДНК *Cl. perfringens*, *C. coli*, *C. jejuni*, *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. mitis*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. brunetti* та *E. tenella* за допомогою діагностичних тест-наборів виробництва Echorol (Іспанія). Ампліфікацію і детекцію результатів проводили на приладі “CFX 96” (BioRad, США). Схему термічних циклів обирали і проводили згідно настанов відповідних діагностичних тест-наборів. Усі зразки аналізували у технічній триразовій повторності, включаючи відповідні негативні

контролі (дистильована вода без ДНКаз/РНКаз). Межі чутливості виявлення застосованих ПЛР-тестів складала 10–100 копій ДНК проведеними трьома незалежними тестуваннями. Для перевірки лінійності та динамічного діапазону ПЛР криві стандартного зразку були побудовані шляхом 10-кратних серійних розведень позитивних контрольних зразків з відомою кількістю копій. Результати ПЛР обраховували та аналізували за допомогою програмного забезпечення “CFX Manager”, а ефективність ампліфікації (E) оцінювали за формулою $E = (10^{-1/\text{нахил}}) - 1$.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення GraphPad Prism 10. Вибіркові параметри, представлені в роботі, мали такі позначення: M – вибіркове середнє; SD – стандартне відхилення. Зміни показників вважали достовірними за $P < 0,05$ (у тому числі $P < 0,01$ і $P < 0,001$).

Всі процедури з птицею проводили з дотриманням вимог наведених у Законі України № 3447-IV від 21.02.06 р. “Про захист тварин від жорстокого пово-

дження”, узгоджені з основними принципами “Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1986), та затверджені комісією з біоетики експериментів на тваринах Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Результати

Біорізноманіття мікроорганізмів у вмісті кишечника курчат бройлерів визначали для виявлення ефектів кормової добавки на модуляцію корисних таксонів та патогенів. За результатами ПЛР-досліджень у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів, як контрольної так і дослідної групи, виявлено переважно генетичний матеріал *E. acervulina*. Ознак колонізації кишечника бактеріями *Cl. perfringens* та іншими видами мікроорганізмів з родини *Eimeria sp.* не виявлено, на що вказує негативний результат ПЛР за цільовими генами, специфічними до відповідних мікроорганізмів (табл. 1).

Таблиця 1

Наявність генетичного матеріалу мікроорганізмів у вмісті дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів

Групи тварин	Мікроорганізми									
	<i>Cl. perfringens</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>E. acervulina</i>	<i>E. praecox</i>	<i>E. mitis</i>	<i>E. maxima</i>	<i>E. necatrix</i>	<i>E. brunetti</i>	<i>E. tenella</i>
Контрольна	НВ	НВ	НВ	В	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ
Дослідна	НВ	НВ	НВ	В	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ	НВ

Примітка: НВ – генетичний матеріал не виявлено; В – генетичний матеріал виявлено.

Результати дослідження генетичного матеріалу *Campylobacter coli* у вмісті дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів різних вікових груп вказують на відсутність ознак колонізації, про що свідчить негативний результат ПЛР-аналізу (табл. 2). Поряд з цим генетичного матеріалу *C. jejuni* за результатами ПЛР-дослідження дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів контрольної та дослідної груп також не встановлено, що свідчить про відсутність ознак колонізації (табл. 3).

Поряд з цим, результати дослідження щодо бактеріального навантаження *E. acervulina* вказують на відсутність цих мікроорганізмів у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів 16-ти та 22-ти добового віку (табл. 4).

Однак, уже на 27 та 34 доби життя у вмісті дванадцятипалої кишки курчат-бройлерів контрольної і дослідної груп виявлено наявність ДНК *E. acervulina*, що вказує на активізацію у птиці кокцидіозу.

Екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* у 29-добових курчат-бройлерів контрольної групи сягає 67% при інтенсивності колонізації $2,17 \times 10^5 \pm 3,21 \times 10^4$ г.-е. Хоча, екстенсивність колонізації до 36-ї доби життя курчат не змінюється, встановлено збільшення інтенсивності колонізації до $1,41 \times 10^7 \pm 8,48 \times 10^6$ г.-е. Надалі, до 45-ї доби життя курчат контрольної групи відбувається зменшення екстенсивності колонізації до 33 % та інтенсивності колонізації до $3,37 \times 10^5$ г.-е.

Таблиця 2

Представництво та рівень бактеріального навантаження *Campylobacter coli* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів ($M \pm m$, $n = 6$)

Вік птиці, діб	Контрольна група		Дослідна група	
	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.
16	0	НВ	0	НВ
22	0	НВ	0	НВ
29	0	НВ	0	НВ
36	0	НВ	0	НВ
45	0	НВ	0	НВ

Примітка: НВ – генетичний матеріал *Campylobacter coli* не виявлено

Таблиця 3

Представництво та рівень бактеріального навантаження *Campylobacter jejuni* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів ($M \pm m$, $n = 6$)

Вік птиці, діб	Дванадцятипала кишка			
	Контрольна група		Дослідна група	
	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.
16	0	НВ	0	НВ
22	0	НВ	0	НВ
29	0	НВ	0	НВ
36	0	НВ	0	НВ
45	0	НВ	0	НВ

Примітка: НВ – генетичний матеріал *Campylobacter jejuni* не виявлено

Таблиця 4

Представництво та рівень бактеріального навантаження *Eimeria acervulina* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів ($M \pm m$, $n = 6$)

Вік птиці, діб	Контрольна група		Дослідна група	
	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.	Екстенсивність колонізації, %	Інтенсивність колонізації, г.-е.
16	0	НВ	0	НВ
22	0	НВ	0	НВ
29	67	$2,17 \times 10^5 \pm 3,21 \times 10^4$	50	$9,62 \times 10^6 \pm 4,69 \times 10^5$
36	67	$1,41 \times 10^7 \pm 8,48 \times 10^6$	100	$2,91 \times 10^8 \pm 1,47 \times 10^7$
45	33	$3,37 \times 10^5$	0	НВ

Примітка: НВ – генетичний матеріал *Eimeria acervulina* не виявлено

Екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* у 29-добових курчат-бройлерів дослідної групи була меншою на 17 % при значно більшій інтенсивності колонізації $9,6 \times 10^6 \pm 4,7 \times 10^5$ г.-е. Надалі до 36-ї доби життя курчат екстенсивність колонізації становить 100 %, а інтенсивності колонізації становить $2,91 \times 10^8 \pm 1,5 \times 10^7$ г.-е. Однак, уже у 45-добових курчат дослідної генетичний матеріал *Eimeria acervulina* не виявлено.

Обговорення

Отримані нами результати узгоджуються з наявними даними стосовно здатності КЖК-М модулювати мікробіом кишечника птиці, сприяє росту здорових бактерій і допомагаючи зменшити відносну кількість патогенних бактерій (Li et al., 2022). Маніпуляція мікробіомної спільноти давно використовується у птахівництві для збільшення темпів росту та конверсії корму, покращення здоров'я кишечника та зменшення тягаря патогенів і, зокрема, зменшення навантаження харчових зоонозних патогенів (Wigley, 2015). Результати дослідження щодо бактеріального навантаження *E. acervulina* вказують на наявність цих мікроорганізмів у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів з 29-ї доби життя, що вказує на прояви кокцидіозу. Сьогодні основною стратегією профілактики кокцидіозу у птахівництві є застосування кокцидіостатиків або вакцинація проти кокцидіозу (Rysman et al., 2023). Однак, ефективність цих методів може бути обмеженою через виникнення резистентності або інших факторів (de Andrade et al., 2022). Тому важливо вивчати нові методи лікування та профілактики кокцидіозу. Слід відмітити, що споживання КЖК-М групою 29-добових кур-

чат-бройлерів модулювала екстенсивність колонізації *E. acervulina*, яка була меншою на 17 % при більшій інтенсивності колонізації. Поряд з цим, генетичний матеріал *Eimeria acervulina* у 45-добових курчат дослідної групи не було виявлено.

Результати проведеного нами дослідження підтверджують наявні дані стосовно того, що моногліцериди із середнім ланцюгом виявляють антимікробну дію, сприяють підтримці інтестинальної функції і розглядаються як перспективний засіб для вирішення питань розробки ефективних антимікробних стратегій (Jackman et al., 2022). На додаток, отримані результати узгоджуються з недавно представленими в літературі даними про застосування суміші моногліцеридів в якості кормової добавки, що сприяло зниженню рівню смертності (Gharib-Naseri et al., 2021). Найбільш вагомим результатом проведеного дослідження є потенціальна спроможність суміші жирних кислот і моногліцеридів пригнічувати проліферацію патогенів, що також співвідноситься з результатами стосовно динаміки зараження ооцистами *Eimeria*, що були опубліковані за останній час. Суміш жирних кислот з моногліцеридами пригнічувала розвиток патогену так само, як і КЖК-М суміш в нашому дослідженні (Gharib-Naseri et al., 2021).

Представлені результати можуть бути корисними для ефективного застосування сучасних методів оцінки здоров'я кишечника, забезпечення вчасного реагування на потенційні виклики ушкоджень інтестинальних функцій. Актуальними задачами сталого птахівництва у пост-антибіотичну еру є дослідження мікробної екології та з'ясування способу взаємодії кишкового мікробіому птахів із геномом господаря (Ballou et al., 2016). Для вирішення таких задач необхідно

розробити відповідні методологічні засоби і стратегії спрямовані на інтегративне розуміння того, як мікробіом птахів розвивається за різних фізіологічних станів і методів управління.

Висновки

За результатами ПЛР-досліджень у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів ознак колонізації кишечнику бактеріями *Cl. perfringens* та іншими видами мікроорганізмів з родини *Eimeria sp.* не виявлено. Виявлено лише генетичний матеріал *E. acervulina*. Встановлено бактеріальне навантаження *E. acervulina* у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів на 27 та 34 добу життя, що вказує на активізацію у птиці кокцидіозу. У 29-добових курчат-бройлерів контрольної групи екстенсивність колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* була 67% при інтенсивності колонізації $2,17 \times 10^5 \pm 3,21 \times 10^4$ г.-е. Екстенсивність колонізації з 29-ї до 36-ї доби життя курчат не змінюється, однак зменшується інтенсивність колонізації до $1,41 \times 10^7 \pm 8,48 \times 10^6$ г.-е. До 45-ї доби життя курчат відбувається зменшення екстенсивності колонізації до 33 % та інтенсивності колонізації до $3,37 \times 10^5$ г.-е.

Застосування КЖК-М у якості кормової добавки індукувало зниження екстенсивності колонізації дванадцятипалої кишки *E. acervulina* на 17% при значно більшій інтенсивності колонізації $9,6 \times 10^6 \pm 4,7 \times 10^5$ г.-е. у 29-добових курчат-бройлерів дослідної групи. З 29-ї до 36-ї доби життя курчат екстенсивність колонізації підвищується до 100%, а інтенсивності колонізації становить $2,9 \times 10^8 \pm 1,5 \times 10^7$ г.-е. Про ефективність застосування КЖК-М через пригнічення росту патогенів свідчить той факт, що генетичний матеріал *E. acervulina* не виявлений у 45-добових курчат дослідної групи.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні схеми задавання КЖК-М курчатам-бройлерам, які замінять, або мінімізують застосування антибактеріальних препаратів у птахівництві.

Фінансування

Робота була виконана за фінансової підтримки Міністерства Освіти і Науки України (держбюджетна тема № 0122U001318, ID:188187 05.11.2021).

Подяки

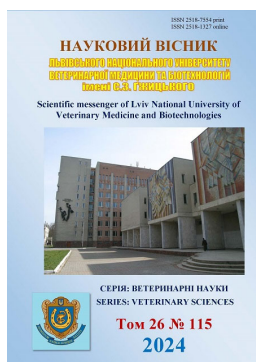
Автори вдячні за підтримку у проведенні дослідження згідно угоди між Продовольчою та сільськогосподарською організацією (FAO) Об'єднаних Націй та Дніпровським державним аграрно-економічним університетом (PO №: 355533, FAO код проєкта: IECAL002XTAS02).

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abdelli, N., Solà-Oriol, D., & Pérez, J. F. (2021). Phytogenic Feed Additives in Poultry: Achievements, Prospective and Challenges. *Animals*, 11(12), 3471. DOI: 10.3390/ANI11123471.
- Al-Marzooqi, W. (2022). Microbial Diversity and community dynamics in the intestines of broiler chicken raised in an open-sided house. In *Animal Husbandry*. IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.103815.
- Ballou, A. L., Ali, R. A., Mendoza, M. A., Ellis, J. C., Hassan, H. M., Croom, W. J., & Koci, M. D. (2016). Development of the Chick Microbiome: How Early Exposure Influences Future Microbial Diversity. *Frontiers in veterinary science*, 3, 2. DOI: 10.3389/fvets.2016.00002.
- de Andrade, R. M., Pagnussatt, H., Talian, L. E., Santo, A. D., Ribeiro, A. B., Leite, F., de Castro Tavernari, F. (2022). Interaction between live vaccines for coccidiosis and phytochemicals in the diet of broilers. *Parasitology International*, 89, 102584. DOI: 10.1016/J.PARINT.2022.102584.
- Fathima, S., Shanmugasundaram, R., Adams, D., & Selvaraj, R. K. (2022) Gastrointestinal Microbiota and Their Manipulation for Improved Growth and Performance in Chickens. *Foods*, 11, 1401. DOI: 10.3390/foods11101401.
- Gharib-Naseri, K., Kheravii, S. K., Li, L., & Wu, S.-B. (2021). Buffered formic acid and a monoglyceride blend coordinately alleviate subclinical necrotic enteritis impact in broiler chickens. *Poultry Science*, 100(8), 101214. DOI: 10.1016/j.psj.2021.101214.
- Glendinning, L., Watson, K. A., & Watson, M. (2019). Development of the duodenal, ileal, jejunal and caecal microbiota in chickens. *Animal Microbiome*, 1(1), 17. DOI: 10.1186/s42523-019-0017-z.
- Jackman, J. A., Laverne, T. A., & Elrod, C. C. (2022). Antimicrobial monoglycerides for swine and poultry applications. *Frontiers in Animal Science*, 3, 1019320. DOI: 10.3389/FANIM.2022.1019320.
- Li, L., Wang, H., Zhang, N., Zhang, T., & Ma, Y. (2022). Effects of α -glycerol monolaurate on intestinal morphology, nutrient digestibility, serum profiles, and gut microbiota in weaned piglets. *Journal of Animal Science*, 100(3), skac046. DOI: 10.1093/jas/skac046.
- Masiuk, D., Nedzvetsky, V., & Maksymchuk, Ya. (2024). The current state and prospects for the use of organic acids and their compositions in poultry feed: A literature review. *Scientific Horizons*, 27(7), 148–157. DOI: 10.48077/scihor7.2024.148.
- Rychlik, I. (2020). Composition and function of chicken gut microbiota. *Animals*, 10(1), 103. DOI: 10.3390/ani10010103.
- Rysman, K., Eeckhaut, V., Croubels, S., Maertens, B., & Van Immerseel, F. (2023). Iohexol is an intestinal permeability marker in broilers under coccidiosis challenge. *Poultry Science*, 102(6). DOI: 10.1016/J.PSJ.2023.102690.
- Shang, Y., Kumar, S., Oakley, B., & Kim, W. K. (2018). Chicken gut microbiota: importance and detection technology. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 254. DOI: 10.3389/fvets.2018.00254.
- Wigley, P. (2015). Blurred lines: Pathogens, commensals, and the healthy gut. *Frontiers in Veterinary Science*, 2, 164628. DOI: 10.3389/FVETS.2015.00040.



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/nvlvet11521
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 616.765:612.017

Study of acute and subacute toxicity of an immunostimulating drug based on the S-derivative of 1,2,4-triazole

O.-L. I. Labunska[✉], V. M. Hunchak, B. V. Gutyj, M. P. Soltys

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

Article info

Received 05.07.2024
Received in revised form
05.08.2024
Accepted 06.08.2024

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-093-737-27-57
E-mail: labywka@gmail.com

Labunska, O.-L. I., Hunchak, V. M., Gutyj, B. V., & Soltys, M. P. (2024). Study of acute and subacute toxicity of an immunostimulating drug based on the S-derivative of 1,2,4-triazole. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 145–152. doi: 10.32718/nvlvet11521

In the course of studies of the acute (subacute) toxicity of the newly created drug “Immunokor”, based on the thioderivative 1,2,4-triazole, it was found that with a single oral and intramuscular administration, the DL50 was over 5000 mg/kg b.w. According to the currently existing classification, the drug is classified as toxicity class IV or “low-toxic substances.” During clinical examination of animals, against the background of the action of the studied agent, it was found that the state of the central nervous system and other functional organs in the body of laboratory rats was preserved. Reflex and motor activity had a character appropriate for this type of animal. Significant fluctuations marked body temperature, heart rate (pulse), and respiratory movements but generally were within the reference values. The coats of white rats of the control and experimental groups had preserved color and shine. When applying the studied immunotropic agent to the skin and mucous membranes, there were no local or post-resorptive reactions. When studying the effect of the drug “Immunokor” on the body of laboratory animals, it was found that 28 daily intramuscular administration of the drug did not cause either the death of the experimental animals or the manifestation of clinical signs of the disease. At the same time, it was found that in animals of the 2nd and 3rd experimental groups (when administered 5 and 10 times the therapeutic doses of the studied agent), the weight coefficients of the spleen, heart, and kidneys slightly increased, and the liver mass decreased. The latter, especially in group D3, had a dark red color with spot and focal character inclusions upon macroscopic examination. In addition, it was found that the use of the drug “Immunokor” in a 10-fold therapeutic dose caused an increase in the number of platelets, the number of lymphocytes and monocytes in the blood, and the blood serum - the level of urea, creatinine, and the activity of AST and ALT, against the background of a tendency to decrease in the concentration of hemoglobin, the number of erythrocytes and leukocytes, the value of hematocrit, the average concentration of hemoglobin in the erythrocyte (MCHC), the average content of hemoglobin in the erythrocyte (MCH), the average volume of the erythrocyte (MCV), the number of granulocytes and the concentration of total protein. The identified individual minor changes in hematological and individual biochemical indicators of the blood, as well as changes in the weight coefficients of the liver, kidneys, spleen, and heart, were of a short-term and restorative nature and were, apparently, the result of the body's compensatory reaction to the intake of a significant volume and concentration of the studied substance into the body of laboratory animals.

Key words: “Immunokor”, acute (subacute) toxicity, active ingredient – thioderivative of 1,2,4-triazole, laboratory rats, morphological, biochemical blood parameters.

Дослідження гострої та підгострої токсичності імуностимулювального препарату на основі S-похідної 1,2,4-тріазолу

О.-Л. І. Лабунська[✉], В. М. Гунчак, Б. В. Гутий, М. П. Солтис

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

У процесі проведених досліджень гострої (підгострої) токсичності новоствореного препарату “Імунокор”, на основі тіопохідної 1,2,4-тріазолу, було встановлено, що за одноразового його перорального і внутрішньом’язового введення DL_{50} становила понад 5000 мг/кг м.т. За існуючою, на даний час, класифікацією препарат відносять до IV класу токсичності або “малотоксичних речовин”. За клінічного обстеження тварин, на тлі дії досліджуваного засобу, з’ясовано, що стан центральної нервової системи та інших функціональних органів в організмі лабораторних щурів був збереженим. Рефлекторна і рухова активність мала відповідний для даного виду тварин характер. Температура тіла, кількість серцевих скорочень (пульс) і дихальних рухів характеризувалися значними коливаннями, але в цілому, знаходилась в межах референтних величин. Шерстний покрив у білих щурів контрольної і дослідних груп мав збережений колір і блиск. За нанесення на шкіру і слизові оболонки досліджуваного імуноотропного засобу місцева чи пострезорбтивна реакції були відсутніми. При вивченні впливу препарату “Імунокор” на організм лабораторних тварин встановлено, що 28 добове внутрішньом’язове введення препарату не викликало ні загибелі піддослідних тварин, ні прояву клінічних ознак захворювання. При цьому було встановлено, що у тварин 2- і 3-ї дослідних груп (за введення їм 5 і 10 кратних, по відношенню до терапевтичної, доз досліджуваного засобу) децю зростали вагові коефіцієнти маси селезінки, серця і нирок а маса печінки зменшувалась. Остання, особливо в групі Дз за макроскопічного огляду мала темно-червоне забарвлення з наявними вкрапленнями крапкового і вогнищового характеру. Крім того встановлено, що застосування препарату “Імунокор” у 10-ти кратній, від терапевтичної, дозі викликало зростання в крові числа тромбоцитів, кількості лімфоцитів і моноцитів а в сироватці крові – рівня сечовини, креатиніну та активності АсАТ і АлАТ, на тлі тенденції до зниження концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів, і лейкоцитів, величини гематокриту, середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС), середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (МСН), середнього об’єму еритроцита (МСV), кількості гранулоцитів та концентрації загального протеїну. Виявлені окремі незначні зміни в гематологічних і окремих біохімічних показниках крові, як і зміна вагових коефіцієнтів печінки, нирок, селезінки і серця носили короточасовий і відновлювальний характер і були, очевидно, результатом компенсаторної реакції організму на поступлення в організм лабораторних тварин значної за об’ємом і концентрацією досліджуваної речовини.

Ключові слова: “Імунокор”, гостра (підгостра) токсичність, діюча речовина – тіопохідна 1,2,4-тріазолу, лабораторні щури, морфологічні, біохімічні показники крові.

Вступ

На сьогодні одним з пріоритетних завдань в галузі ветеринарної медицини є створення нових протигрибкових і протимікробних засобів. Це обумовлено, в першу чергу, актуальністю питання в зв’язку із значним поширенням серед тварин захворювань мікробної та грибкової етіології і постійно зростаючою резистентністю мікроорганізмів та грибів до різних хімічних засобів.

При цьому важливо відзначити, що в етіології таких захворювань визначальним є імунореактивність тварин. Тому, пошук нових діючих субстанцій, в тому числі хімічної природи, з вираженою імуноотропною дією є на часі, і вимагає швидкого практичного вирішення (Kaplaushenko, 2007; Patereha et al., 2019).

Серед синтетичних хімічних сполук, які за останні 20-років знайшли своє широке практичне примінення в гуманній і ветеринарній медицині, відзначаються ефективністю S-похідні 1,2,4-тріазолу. За повідомленням багатьох науковців препарати, створені на основі цих хімічних субстанцій, у своїй більшості відносяться до класу малотоксичних або практично нетоксичних сполук, при цьому володіють широким спектром унікальних біологічних властивостей. Експериментальними дослідженнями підтверджено, що тіазолові сполуки мають в організмі тварин виражені протимікробні, протигрибкові, антиоксидантні, гепатопротекторні та імуномодельовальні властивості (Kotsiumbas et al., 2006; Shcherbyna et al., 2010).

Науковцями кафедри неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету (місто Запоріжжя, Україна) створено та передано нам на кафедру фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С. З. Гжицького для дослідження хімічну сполуку з потенційно вираженою імуностимулювальною дією. Нами, на її основі було розроблено експериментальний варіант препарату (1 % розчин для

ін’єкцій), який отримав назву “Імунокор” та проведено його доклінічне дослідження.

Однією з важливих умов створення і виробництва нових ветеринарних препаратів та торгівлі ними є забезпечення якості, і в першу чергу, через впровадження принципів і правил належної виробничої практики (GMP) (Soltys et al., 2020; Varkholiak et al., 2022).

Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів є найважливішою і обов’язковою передумовою оцінки їх безпечності. Зазвичай, метою таких випробувань є визначення токсичного впливу і терапевтичної ефективності досліджуваного продукту, його дії на основні системи організму а також установлення можливих побічних ефектів. До схеми з’ясування загальнотоксичної дії нових ветеринарних лікарських засобів входить дослідження гострої, підгострої, хронічної токсичності, кумуляції, побічних властивостей та віддалених наслідків (Stefanov, 2001; Hunchak et al., 2020; Lavryshyn et al., 2023; Sachuk et al., 2023).

Визначення гострої і підгострої токсичності, як правило, є першим і обов’язковим етапом доклінічних випробувань, оскільки дає інформацію щодо безпечності хімічних сполук (субстанцій) для здоров’я тварин в умовах короткотривалої дії. Введення одноразових доз дає можливість встановити смертельні дози або концентрації досліджуваної речовини та характеризує симптоматику отруєння (Kravtsiv & Romanyshyn, 2001; Varkholiak & Gutyj, 2018; Katsaraba et al., 2022).

Основним завданням за одноразового введення досліджуваного засобу є встановлення середньої смертельної дози (DL_{50}). При цьому важливою є інформація щодо виявлених негативних ефектів залежно від дози (концентрації) препарату (діючої субстанції) та видові і статеві особливості реагування тварин на його дію (Nechyporenko et al., 2019; Kushnir et al., 2022). Зазвичай, при цьому важливим є визначення граничних мінімальних доз речовини при введенні

яких в організмі піддослідних тварин виникають незначні але статистично вірогідні зрушення будь-якого чутливого інтегрального чи специфічного показника. Отже, дослідження препарату “Імунокор”, в умовах гострого і підгострого досліду, дасть можливість встановити його параметри токсичності, толерантні, токсичні і летальні дози препарату та буде основою для продовження досліджень в хронічному експерименті та за визначення кумуляції досліджуваного засобу.

Мета дослідження

Метою роботи було дослідження гострої та підгострої токсичності імуностимулювального препарату на основі S-похідної 1,2,4-тріазолу

Матеріал і методи досліджень

Експериментальні дослідження щодо вивчення гострої і підгострої токсичності ін'єкційного препарату “Імунокор” проведено на базі віварію Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів і кормових добавок (м. Львів) і лабораторії кафедри ветеринарної фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького.

Дослідні та контрольна група тварин (лабораторні щури, 3–4-місячного віку, маса тіла 220–250 г) були сформовані за принципом аналогів. Їх утримання і годівля відповідали встановленим вимогам (температура повітря в приміщенні була на рівні 20–22 °С, вологість 50–60 %).

Добробут щурів контрольної і дослідних груп визначався комфортними умовами перебування в індивідуальних клітках (по 3 тварини в кожній), безперервним постійним доступом до корму і води, щоденним чищенням, провітрюванням приміщення. Основним в раціоні щурів був гранульований, збалансований за поживними і мінеральними речовинами, корм. Тварини, відповідно до вимог, проходили відповідний базовий період підготовки та своєрідної акліматизації. Він становив 5–7 діб. На цьому етапі проводився щоденний огляд тварин, оцінювали їх поведінку, рефлекторну активність, з'ясовували показники клінічного стану (температура тіла, пульс, частота дихальних рухів тощо).

Експериментальні дослідження з вивчення гострої і підгострої токсичності на лабораторних щурах відповідали вимогам “Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей” та методичних рекомендацій “Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин” (Yevropeiska konventsiia..., 1986).

В умовах гострого досліду визначали токсичність Імунокору за одноразового внутрішньошлункового та внутрішньом'язового введення. У першому випадку безпосередньо в шлунок препарат задавали за допомогою зонда. Його канюлю, змащену вазеліном, вводили до порожнини рота, проводили під язиком а даліше – до стравоходу і шлунка. На канюлю зонда

натягували шприц з досліджуваною рідиною і вводили її в порожнину шлунка. Досліджувану лікарську речовину задавали щурам дослідної групи через рот натще (не раніше 5–6 годин після годівлі), а доступ до корму і води відновлювали через 2,5 години після дачі препарату. Внутрішньошлункове введення досліджуваних засобів є важливим в його оцінці, оскільки дає впевненість у точному дозуванні та виключає місцевий подразнювальний вплив на слизові оболонки ротової порожнини та стравоходу.

За внутрішньом'язового введення шерсть у лабораторних щурів в ділянці стегна вистригали, обробляли місце ін'єкції 70 % розчином етилового спирту та вводили досліджувану речовину. Дослідження токсичності Імунокору за цим методом введення є обов'язковим і має дати уявлення про системну дію досліджуваного засобу.

Метою проведення гострого досліду було визначити ступінь токсичності препарату “Імунокор” та його орієнтовні дози для вивчення підгострої токсичності.

Параметри гострої токсичності досліджуваного препарату визначали у два етапи: орієнтовному та розгорнутому дослідках. В орієнтовному – досліджуваний засіб застосовували у дозах: 50, 500 та 5000 мг/кг на тварину. На кожну дозу препарату було використано по 3 лабораторні тварини. За проведення розгорнутого досліду препарат застосовували в діапазоні доз 5000 мг/кг маси тіла. Дослід було проведено у двох повторностях по 6 тварин у кожній.

Після внутрішньошлункового і внутрішньом'язового введення препарату, спостереження за лабораторними тваринами вели протягом 14 діб. При цьому враховували такі показники: зовнішній вигляд, поведінку тварин, стан шерсті, видимих слизових оболонок, відношення до корму, ритм і частоту дихання, час виникнення та характер наявної інтоксикації, її важкість, перебіг, час загибелі тварин або їх одужання (Stefanov, 2001; Kravtsiv & Romanyshyn, 2001).

При вивченні впливу препарату “Імунокор” за тривалого застосування (підгостра токсичність) керувалися результатами, отриманими під час з'ясування його гострої токсичності. Досліджуваний розчин вводили внутрішньом'язово, щоденно упродовж 28 діб. Дослідження підгострої токсичності препарату “Імунокор” проводили на білих щурах 3–4 місячного віку, масою тіла 320–340 г. Для проведення досліду було сформовано, за принципом аналогів, контрольну та 3 дослідні групи тварин, по 6 щурів в кожній. Тваринам контрольної групи (К) внутрішньом'язово вводили воду для ін'єкцій, І-ої дослідної групи (Д₁) – досліджуваний засіб у терапевтичній дозі (0,1 мл/кг маси тіла (м.т.)), ІІ-ої дослідної групи (Д₂) – у 5-кратній (0,5 мл/кг м.т.) і ІІІ-ої дослідної групи (Д₃) – у 10-кратній терапевтичній дозі (1 мл/кг м.т.).

На наступну добу після закінчення введення препарату лабораторних тварин декапітували (за легкого хлороформного наркозу) і відбирали проби крові для морфологічних і біохімічних досліджень. Крім того, проводили паталогоанатомічний розтин

тварин, досліджували макроскопічну характеристику окремих внутрішніх органів та визначали вагові коефіцієнти їх маси.

Для гематологічних досліджень використовували кров стабілізовану ЕДТА, а для біохімічних досліджень – сироватку крові. В стабілізованій крові визначали вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, гематокритну величину, кількість лейкоцитів (за допомогою гематологічного аналізатора Mythic-18). У сироватці крові визначали вміст загального протеїну (за допомогою рефрактометра РФ-22), активність ензимів (АлАТ, АсАТ), вміст креатиніну та сечовини –

за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора HumaLyzer 3000 з використанням стандартних наборів фірми Human (Vlizlo et al., 2012).

Результати та їх обговорення

При вивченні гострої токсичності препарату “Імунокор” було встановлено, що за одноразового, як внутрішньошлункового задавання так внутрішньом’язового введення досліджуваного засобу лабораторним щурам у дозах від 50 до 5000 мг/кг м.т. загибелі тварин не виявляли (табл. 1).

Таблиця 1

Показники токсичності препарату “Імунокор” на білих щурах

Кількість тварин у групі	Доза препарату, мг/кг	Число загиблих тварин	
		всього	у %
3	50	0	0
3	500	0	0
3	5000	0	0
12 (двічі по 6 тварин)	5000	0	0

Отже, відповідно до останньої класифікації хімічних речовин за ступенем небезпечності (ГОСТ 12.1.007-76) “Шкідливі речовини. Класифікація та загальні вимоги нешкідливості” препарат “Імунокор” відносять до IV класу токсичності – малотоксичні речовини. DL_{50} досліджуваного засобу за внутрішньошлункового і внутрішньом’язового введення лабораторним щурам є більшою за 5000 мг/кг м.т.

За клінічного обстеження тварин, на тлі дії

досліджуваного засобу, з’ясовано, що стан центральної нервової системи та інших функціональних органів був у них збереженим. Лабораторні щури контрольної і дослідних груп активно рухались, мали збережений апетит. Рефлекторна діяльність мала відповідний для даного виду тварин характер. Температура тіла, кількість серцевих скорочень і дихальних рухів мала значні коливання, але, в цілому, знаходилась в межах референтних величин (табл. 2).

Таблиця 2

Результати клінічних спостережень за використання препарату “Імунокор” лабораторним щурам в гострому (підгострому) досліді (М ± m, n = 21)

Показники	Дослідні			
	Контроль	Д ₁	Д ₂	Д ₃
Температура тіла, С	38,2 ± 0,2	38,8 ± 0,4	38,1 ± 0,2	38,5 ± 0,4
Частота дихання (дих.рух/хв)	160,0 ± 2,2	171,6 ± 2,8	172,2 ± 2,4	188,2 ± 3,6
Рухова активність (за 3 хв)				
“вертикальний”	16,0 ± 0,8	18,2 ± 0,4	15,2 ± 0,2	12,4 ± 0,4
“горизонтальний”	28,1 ± 0,3	30,3 ± 0,3	33,9 ± 0,6	22,4 ± 0,9
Спонтанна рухова активність (за 3 хв)	140,1 ± 2,2	130,6 ± 1,8	120,8 ± 2,2	110,2 ± 3,6
“Нірковий рефлекс” (за 3 хв)	12,8 ± 0,4	10,2 ± 1,0	9,6 ± 1,0	6,0 ± 1,0

Шерсть у білих щурів контрольної і дослідних груп мала збережений колір і блиск. За нанесення на шкіру і слизові оболонки, у вигляді компресу, досліджуваного імуноотропного засобу місцева чи пострезорбтивна реакція на дію препарату характерного прояву не мала. За консистенцією калових мас, кольором і кількістю сечі та частотою дефекації і діурезом можна стверджувати, що функціональні зміни з боку системи харчотравлення і виділення були, на тлі дії досліджуваного засобу, відсутні.

Поведінкові реакції тварин, їх рефлекторна активність були в цілому збережені (табл. 2). Хоч, необхідно відзначити, що в тварин групи Д₃ (за

найбільшої досліджуваної дози препарату), у другій половині періоду дослідження наступало незначне пригнічення загального стану, уповільнення рухової активності, збільшувалась кількість дихальних рухів. Однак, вже через добу після останнього введення препарату (внутрішньошлункового чи внутрішньом’язового) їхній функціональний стан нічим не відрізнявся від тварин групи контролю.

При оцінці наявного в препараті небажаного (побічного, токсичного) впливу на організм, особливо за тривалого його застосування, одним з важливих показників є дослідження приросту маси тіла, оскільки на тлі введення досліджуваного засобу тварин може знижуватись апетит, порушуватись

функціональний стан травної системи і метаболічних процесів в цілому. Важливим є не лише з'ясування маси тіла тварин до і після періоду досліджу, але й встановлення вагових коефіцієнтів маси окремих їх внутрішніх органів. Вважається, що зміна маси тіла тварин, залежно від введеної дози досліджуваного засобу, є цінним показником, оскільки відображає характер пошкоджень окремих органів і зміну певних функцій в організмі. Зазвичай, втрата маси тіла тварин за дії досліджуваних лікарських засобів є результатом порушення метаболічних процесів. Однак, такий стан

можливий і за енергетичних затрат на зв'язування і виділення ендо- і екзотоксинів з організму.

При вивченні впливу препарату “Імунокор” на організм лабораторних щурів було встановлено, що 28-ми добу внутрішньом'язове введення препарату не викликало ознак клінічного захворювання (інтоксикації).

На табл. 3 подано показники, які характеризують масу тіла та вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів контрольної і дослідних груп тварин, на тлі довготривалої дії Імунокору.

Таблиця 3

Маса тіла та вагові коефіцієнти маси внутрішніх органів білих щурів на 29-ту добу досліджу (M ± m, n = 5)

Внутрішні органи	Групи тварин			
	Контроль	Д ₁	Д ₂	Д ₃
Печінка	29,6 ± 1,02	30,0 ± 0,89	29,02 ± 1,16	28,5 ± 1,20
Селезінка	3,27 ± 0,32	4,28 ± 0,39	3,39 ± 0,29	3,71 ± 0,40
Серце	2,95 ± 0,12	3,37 ± 0,21	3,44 ± 0,18	3,29 ± 0,13
Легені	7,29 ± 0,87	6,70 ± 0,24	6,46 ± 0,23	8,29 ± 0,97
Нирка права	3,83 ± 0,16	3,93 ± 0,13	3,92 ± 0,17	4,09 ± 0,11
Нирка ліва	3,94 ± 0,14	3,69 ± 0,09	4,03 ± 0,13	4,02 ± 0,16
Нирки	7,77 ± 0,24	7,63 ± 0,20	7,95 ± 0,28	8,11 ± 0,25
Тимус	1,18 ± 0,12	1,44 ± 0,33	0,99 ± 0,08	1,1 ± 0,13
Маса тіла, г	327,0 ± 2,55	319,0 ± 4,85	317,0 ± 3,39*	325 ± 6,71

Примітка: * – P < 0,05

В результаті проведених досліджень встановлено, що довготривале внутрішньом'язове введення препарату “Імунокор” у тварин 1-ої дослідної групи (Д₁) не викликало суттєвих змін у вагових коефіцієнтах маси печінки і нирок. Поряд з тим, відзначено зростання цього показника маси в селезінці на 30,9, серці на 14,2 та тимусі на 22,0 %, на тлі незначного зниження маси тіла тварин (на 2,45 %).

У тварин 2-ої та 3-ої дослідних груп (Д₂ і Д₃) 28-добове внутрішньом'язове введення препарату викликало незначне зменшення вагового коефіцієнту маси печінки, відповідно, на 1,96 та 3,72 % та маси тіла тварин, відповідно, на – 3,06 (P < 0,05) та 0,61 %. За подібних обставин відзначено підвищення вагового коефіцієнту маси селезінки (на 3,67 та 13,5 %), серця (на 16,6 і 11,5 %), та нирок (на 2,32 та 4,38 %), відповідно.

Зміна відносної маси тіла і окремих внутрішніх органів є, зазвичай, результатом включення їх в дегенеративні процеси. Однак, у нашому випадку, найбільш імовірно, що зміна вагового коефіцієнту маси печінки, нирок, селезінки, серця є результатом компенсаторної реакції на надходження в організм значної кількості чужорідної речовини.

Крім зважування окремих внутрішніх органів у лабораторних щурів, за підгострого досліджу щодо вивчення токсичності імуностимулювального засобу “Імунокор”, нами було проведено і макроскопічну оцінку деяких з них (рис. 1).



Рис. 1. Внутрішні органи тварин дослідних груп на 29-у добу експерименту

Встановлено, що селезінка у тварин всіх дослідних груп тварин (Д₁ – Д₃) була дещо збільшена в розмірах; нирки, у порівнянні з контролем, у щурів 2-ої дослідної групи були збільшеними в розмірі, коричнево-зеленкуватого кольору, а в щурів групи Д₃ – дещо деформовані і рвалися при знятті плівки. Стосовно печінки, то вона у тварин групи контролю і Д₁ мала природне забарвлення – коричнево-вишневий колір; у групі Д₂ – у структурі були наявні крапкові і вогнищеві крововиливи; а печінка щурів третьої групи (Д₃) – виразно темно-червоного кольору.

В оцінці впливу на організм тварин нових ветеринарних лікарських засобів важливою і найбільш інформативною є система крові, оскільки вона, зазвичай, першою реагує на зміни гомеостазу організму за дії токсичних інгредієнтів (Anhel'ski et al., 1998; Kravtsiv & Romanyshyn, 2001).

Нами вивчено морфологічні і біохімічні показники в крові лабораторних щурів за дії досліджуваного засобу “Імунокор” (табл. 4).

Як видно з даних [таблиці 4](#), застосування препарату “Імунокор” у тварин 1-ої дослідної групи викликало зниження, порівняно з контролем, концентрації гемоглобіну на 10,7 % ($P < 0,05$), кількості еритроцитів і лейкоцитів на 2,29 і 4,69 %, величини гематокриту – на 9,2 % ($P < 0,05$) та кількості тромбоцитів – на 36,5 %. За аналізу індексів червоної крові відзначено зниження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС) на

1,71 %, середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (МСН) на 8,51 % ($P < 0,001$) та середнього об’єму еритроцита (MCV) на 6,96 % ($P < 0,01$). При визначенні кількості лейкоцитів та співвідношення їх окремих форм було встановлено, що у тварин 1-ої дослідної групи застосування препарату сприяє зростанню в їх крові числа лімфоцитів та моноцитів (на 3,18 та 7,92 %), відповідно, на тлі незначного зниження кількості гранулоцитів (на 4,5 %).

Таблиця 4

Морфологічні показники крові білих щурів ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	1 група	2 група	3 група
Гемоглобін, г/л	164,4 $\pm$ 4,04	146,8 $\pm$ 5,74*	155,6 $\pm$ 4,59	149,8 $\pm$ 2,35*
Еритроцити, $10^{12}/л$	6,99 $\pm$ 0,18	6,83 $\pm$ 0,19	6,81 $\pm$ 0,29	6,94 $\pm$ 0,16
Лейкоцити, $10^9/л$	12,8 $\pm$ 0,72	12,2 $\pm$ 0,89	11,3 $\pm$ 1,84	11,5 $\pm$ 0,93
Гематокрит, %	40,2 $\pm$ 0,93	36,5 $\pm$ 1,19*	38,6 $\pm$ 0,88	38,1 $\pm$ 0,69
МСНС, г/дл	40,9 $\pm$ 0,32	40,2 $\pm$ 0,39	40,2 $\pm$ 0,45	39,4 $\pm$ 0,27**
МСН, пг	23,5 $\pm$ 0,12	21,5 $\pm$ 0,29***	22,9 $\pm$ 0,45	21,7 $\pm$ 0,72*
MCV, мкм ³	57,5 $\pm$ 0,75	53,5 $\pm$ 0,57**	56,9 $\pm$ 1,35	55,0 $\pm$ 2,09
Тромбоцити $10^9/л$	372,0 $\pm$ 89,9	236,4 $\pm$ 36,8	434,6 $\pm$ 94,04	364,4 $\pm$ 36,2
Лімфоцити, %	50,3 $\pm$ 3,77	51,9 $\pm$ 5,31	56,3 $\pm$ 3,42	55,9 $\pm$ 4,42
Моноцити, %	5,3 $\pm$ 0,56	5,72 $\pm$ 0,18	4,9 $\pm$ 0,44	5,36 $\pm$ 0,48
Гранулоцити, %	44,4 $\pm$ 4,01	42,4 $\pm$ 5,34	38,8 $\pm$ 3,85	38,7 $\pm$ 4,26

Примітка: * – $P < 0,05$, ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$

У тварин 2-ої дослідної групи відзначено зниження концентрації гемоглобіну на 5,35 % і кількості еритроцитів на 2,58 %, числа лейкоцитів – на 11,7 % і величини гематокриту – на 3,98 %, на тлі зростання числа тромбоцитів (на 16,8 %). За аналізу індексів червоної крові відзначено зниження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС) – на 1,71 %, середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (МСН) – на 2,55 % та середнього об’єму еритроцита (MCV) – на 1,04 %. При формуванні лейкограми у тварин II-ої дослідної групи відзначали зростання кількості лімфоцитів на 11,9 %, на тлі незначного зниження кількості моноцитів та гранулоцитів (на 7,55 % та 12,6 %, відповідно).

У тварин 3-ої дослідної групи встановлено зниження концентрації гемоглобіну на 8,88 % ($P < 0,05$), кількості еритроцитів – на 0,72 %, кількості

лейкоцитів – на 10,2 %, величини гематокриту – на 5,22 %, на тлі зростання кількості тромбоцитів (на 2,04 %). За індексами червоної крові відзначено зниження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС) на 3,67 % ($P < 0,01$), середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (МСН) – на 7,66 % ($P < 0,05$) та середнього об’єму еритроцита (MCV) – на 4,35 %. За оцінкою лейкограми було встановлено, що застосування тваринам дослідної групи (Д3) найвищої досліджуваної концентрації препарату “Імунокор” (5000 мг/кг м.т.) сприяє зростанню в їх крові числа лімфоцитів і моноцитів (на 11,1 та 1,13 %, відповідно), на тлі незначного зниження кількості гранулоцитів (на 12,8 %).

Результати окремих біохімічних досліджень показників сироватки крові лабораторних тварин, при застосуванні їм різних доз Імунокору, подані в [табл. 5](#).

Таблиця 5

Динаміка біохімічних показників сироватки крові білих щурів за впливу препарату “Імунокор” в різних дозах ($M \pm m$, $n = 5$)

Показники	Групи тварин			
	Контроль	1 група	2 група	3 група
Загальний протеїн, г/л	67,6 $\pm$ 1,08	66,5 $\pm$ 1,59	65,8 $\pm$ 2,17	64,5 $\pm$ 1,44
Сечовина, ммоль/л	7,34 $\pm$ 0,19	8,62 $\pm$ 0,249**	6,68 $\pm$ 0,66	4,96 $\pm$ 0,43***
Креатинін, мкмоль/л	37,4 $\pm$ 3,83	40,9 $\pm$ 1,53	41,3 $\pm$ 1,39	45,8 $\pm$ 2,87
АсАТ, Од/л	142,2 $\pm$ 8,57	149,6 $\pm$ 5,12	160,3 $\pm$ 7,43	175,1 $\pm$ 14,3
АлАТ, Од/л	76,7 $\pm$ 2,63	89,6 $\pm$ 4,66*	83,9 $\pm$ 3,35	80,3 $\pm$ 3,46

Примітка: * – $P < 0,05$, *** – $P < 0,001$

Як видно з даних [таблиці 5](#), при вивченні впливу досліджуваного засобу на біохімічні показники сироватки крові, у тварин 1-ої дослідної групи, порівняно з контролем, відмічено зниження

концентрації загального протеїну на 1,63 %. При цьому виявлено зростання рівня сечовини на 17,4 % ($P < 0,01$) і креатиніну – на 9,36 %. Активність трансаміназ теж дещо змінювалась. Встановлено

зростання, порівняно з аналогічними в контролі, активності АсАТ та АлАТ (на 5,2 і 16,8 % ($P < 0,05$)), відповідно.

У тварин 2-ої дослідної групи (D_2) відзначено тенденцію до зниження в сироватці крові концентрації загального протеїну на 2,66 %, рівня сечовини на – 8,99 %, на тлі зростання рівня креатиніну (на 10,4 %). При визначенні активності ензимів встановлено, що застосування досліджуваного засобу у тварин 2-ої дослідної групи викликало зростання активності АсАТ на 12,7 % та АлАТ – на 9,39 %.

У тварин 3-ої дослідної групи динаміка змін біохімічних показників, порівняно з аналогічним в групі контролю, була більш вираженою. Зокрема, нами відзначено тенденцію до зниження концентрації загального протеїну, (на 4,59 %), рівня сечовини (на 32,4 %, ($P < 0,001$)), на тлі зростання рівня креатиніну (на 22,5 %). Характерним було зростання активності АсАТ на 23,1 % і АлАТ – на 4,69 %.

Отже, підсумовуючи констатуємо, що нами проведено дослідження щодо вивчення токсичності новоствореного імунотропного препарату, на основі тіпохідної 1,2,4-тріазолу, відповідно до вимог (Stefanov, 2001). Враховано, що такі випробування проводяться як за умови одноразового (гостра токсичність) так і довготривалого (підгостра токсичність) застосування. При цьому було враховано обов'язковість таких досліджень хоча би за двома шляхами введення препарату. Крім задавання препарату “Імунокор” перорально було використано і внутрішньом'язове його введення, оскільки в перспективі, за перенесення застосування досліджуваного засобу на інші види тварин (собаки, коти), такий шлях введення є рекомендованим і основним. Дослідження було проведено з дотриманням всіх біоетичних правил. Нами було враховано, що на оцінку токсичності досліджуваного засобу суттєвий вплив мають і супутні чинники. Експериментальна частина роботи проведена на здорових тваринах, за створеними відповідними умовами утримання і доброякісної годівлі (водопою, попередньою вакцинацією, якісна підстилка тощо).

У діапазоні смертельних доз і концентрацій досліджуваного засобу основним показником токсичності є його кількість (або концентрація), яка викликає загибель або ефект у 50 % піддослідних тварин. DL_{50} препарату завжди лежить в основі класифікації речовини за токсичністю. Нами встановлено, що досліджуваний імунотропний ветеринарний засіб “Імунокор” у дозі понад 5000 мг/кг м.т. не викликав загибелі в жодній піддослідній тварини, що дало підстави віднести його до IV класу токсичності або – малотоксичні речовини.

Використовуючи отримані дані DL_{50} , для новоствореного засобу, було розроблено схему його подальшого дослідження в умовах більш тривалого часу (28 діб). У свій переважній більшості нами отримано результати, які підтверджували, що і в умовах підгострого досліді виражених клінічних ознак інтоксикації Імунокором, навіть від 10-кратної терапевтичної дози, не наступало. Динаміка інших досліджуваних показників мала певні коливання але відхилення від аналогічних в контролі, як правило, були в цифровому виразі незначними і в більшості випадків не вірогідни-

ми. Так, було встановлено, що довготривале застосування препарату у терапевтичній дозі викликало незначне зростання вагового коефіцієнту маси селезінки, серця, тимусу, кількості лімфоцитів, моноцитів, на тлі незначного зниження маси тіла тварин, концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів, числа лейкоцитів, величини гематокриту, кількості тромбоцитів, середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС), середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (МСН), середнього об'єму еритроцита (MCV) та кількості гранулоцитів.

Застосування досліджуваного засобу у 10-ти кратній, щодо терапевтичної, дозі, викликало більш значне, хоч і не завжди вірогідне зростання вагового коефіцієнту маси селезінки, серця, нирок, тромбоцитів, кількості лімфоцитів, моноцитів, рівня сечовини, креатиніну та активності АсАТ і АлАТ, на тлі зниження маси тіла тварин та вагового коефіцієнту маси печінки, концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів, кількості лейкоцитів, величини гематокриту, середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС), середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (МСН), середнього об'єму еритроцита (MCV), кількості гранулоцитів та концентрації загального протеїну.

З урахуванням того, що жодного клінічного прояву отруєння піддослідних тварин досліджуваним засобом не було виявлено, а окремі ознаки мали тимчасовий і відновлювальний характер можна припустити, що виявлені зміни за макроскопічної оцінки внутрішніх органів як і динаміка змін морфологічних і біохімічних показників крові білих щурів мала компенсаторний характер і була реакцією на значне введення (за об'ємом розчину і концентрацією лікарської речовини) досліджуваного засобу. Не можна виключати, що зміна маси печінки, селезінки та нирок могла бути результатом енергетичних затрат на виділення і зв'язування токсинів в організмі тварин.

Висновки

1. DL_{50} досліджуваного засобу “Імунокор” за внутрішньошлункового та внутрішньом'язового введення білим щурам є більшою за 5000 г/кг м.т. За відповідною класифікацією препарат відповідає IV класу токсичності – “малотоксичні речовини”.

2. Загибелі лабораторних тварин та тварин з наявною вираженою клінічною картиною отруєння від застосування їм в експерименті від 50 – 5000 мг/кг м.т. Імунокору немає.

3. Функціональний стан центральної нервової системи (поведінкові і рефлексорні реакції), системи травлення (характер калових мас, частота дефекації) і виділення (кількість, колір сечі, діурез) а також відношення піддослідних тварин до прийому корму і води та їх рухова активність були подібними до аналогічних у тварин групи контролю.

4. Виявлені зміни в морфологічних і біохімічних показниках крові носять короточасовий і відновлювальний характер і є результатом компенсаторних реакцій організму на поступлення в

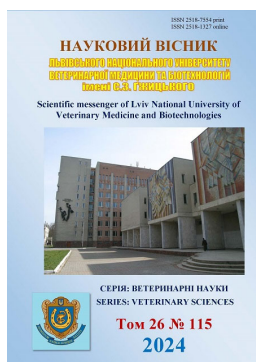
організм тварин значної за об'ємом і концентрацією ксенобіотичної речовини.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Anhelski, S., Yakubovski, Z., & Dominichak, M. H. (1998). *Klinichna biokhimiia*. Lviv: Nautilus (in Ukrainian).
- Hunchak, Y., Gutj, B., Sachuk, R., & Stravsky, Y. (2020). Study of the parameters of acute toxicity of the drug “Devimectin 1 %” with a single subcutaneous injection in white rats. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(100), 28–31. DOI: 10.32718/nvlvet10005.
- Kaplaushenko, A. H. (2007). Budova protymikrobna ta protyhrybkova aktyvnist amino- i tiopokhidnykh 1,2,4-triazolu. *Farmatsevtichnyi zhurnal*, 4, 64–68 (in Ukrainian).
- Katsaraba, O. A., Sachuk, R. M., Gutj, B. V., Velesyk, T. A., Radzykhovskiy, M. L., Sharandak, P. V., & Pepko, V. O. (2022). Pharmacological studies of the veterinary medicinal product “Dibutalastin Ointment”. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 5(2), 43–48. DOI: 10.32718/ujvas5-2.07.
- Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. E., & Patereha, I. P. (2006). *Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv; Za red. I.Ia. Kotsiumbasa*. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Kravtsiv, R. Y., & Romanyshyn, V. P. (2001). *Veterynarna hematolohiia*. Navchalnyi posibnyk. Lviv. “TeRus” (in Ukrainian).
- Kushnir, V., Patereha, I., Kushnir, I., Gutj, B., Martynuk, S., ChudyakM., YurnetsT., Smuk, V., & Kishko, A. (2021). Determination of acute and subacute toxicity of the drug “Tilovet 20 %”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(101), 15–20. DOI: 10.32718/nvlvet10103.
- Lavryshyn, Y., Gutj, B., Verveha, B., Kutsan, O., Hunchak, V., Khariv, I., Kushnir, V., Vasiv, R., Leskiv, K., & Guta, Z. (2023). Definition of Acute Toxicity and Cumulative Properties of the Drug “Lipointersil”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(112), 83–89. DOI: 10.32718/nvlvet11214.
- Nechyporenko, O. L., Berezovsky, A. V., Fotina, H. A., Petrov, R. V., & Fotina, T. I. (2019). Determination of acute toxicity parameters of “Zoodizin” disinfectant. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2(2), 41–44. DOI: 10.32718/ujvas2-2.09.
- Patereha, I., Kushnir, V., Zhyla, M., & Dubin, O. (2019). Acute and subacute toxicity of the drug based on tylosin tartrate. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 21(94), 97–102. DOI: 10.32718/nvlvet9418.
- Sachuk, R., Gutj, B., Stravskyy, Y., Katsaraba, O., Dyshkant, O., & Kalynovska, L. (2023). Research on the specific toxicity of the drug “BTF plus” – a means for nor-malizing metabolic processes in animals and poultry. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 25(111), 33–42. DOI: 10.32718/nvlvet11106.
- Shcherbyna, R. O., Pruhlo, Ye. S., & Safonov, A. A. (2010). Syntezy, peretvorennia, fizyko-khimichni ta biolohichni vlastyvyosti S-zamishchenykh 1,2,4-triazolu. *Klinichna ta eksperymentalna farmakolohiia metabolichnykh korektoriv, orhanoprotektsiia, dokazova medytsyna. Materialy IV Vseukrainskoi naukovy-praktychnoi konferentsii z mizhnarodnoiu uchastiu spetsialistiv z klinichnoi farmakolohii, prysviachenoii 90-richchiu prof. O.O. Stolerchuka*. lystopad 10–11, 2010. Vinnytsia, 422–423 (in Ukrainian).
- Soltys, M., Gunchak, V., Rudyk, H., & Vasiv, R. (2020). Dynamics of morphological and biochemical parameters in the blood of white mice under the action of the drug “Vitosept”. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(99), 167–172. DOI: 10.32718/nvlvet9925.
- Stefanov, O. V. (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv (metodychni rekomendatsii)*. Kyiv: Avitsena (in Ukrainian).
- Varkholiak, I., & Gutj, B. (2018). Determination of acute toxicity of “Bendamin” drug in laboratory animals. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 20(92), 209–212. DOI: 10.32718/nvlvet9243.
- Varkholiak, I., Gutj, B., Zolototska, O., Goralskyi, L., Sokulskyi, I., Khalak, V., Parchenko, V., Shcherbatyy, A., Martyshuk, T., & Guta, Z. (2022). Experimental assessment of the toxicity of a cardiac drug based on a phosphodiesterase-3 inhibitor and ethylmethylhydroxypyridine succinate. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 24(105), 109–119. DOI: 10.32718/nvlvet10516.
- Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., Ratych, I. B., Vishchur, O. I. ta in (2012). *Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnystvi ta veterynarnii medytsyni*. Dovidnyk. Lviv: SPOLOM (in Ukrainian).
- Yevropeiska konventsiiia pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuiutsia dlia doslidnykh ta inshykh naukovykh tsilei, Strasburh, 18 bereznia 1986 r. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text (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/nvlvet11522
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616.28-002:636.7

Clinical case of *Malassezia otitis media* in a dog

M. I. Chupryna✉

DBTU “State Biotechnological University”, Kharkiv, Ukraine

Article info

Received 08.07.2024
Received in revised form
08.08.2024
Accepted 09.08.2024

State Biotechnological
University, Akademichna Str., 1,
v. Mala Danylivka, Kharkiv region,
62341, Ukraine.
Tel.: +38-096-473-32-24
E-mail: nickchupryna@gmail.com

Chupryna, M. I. (2024). Clinical case of *Malassezia otitis media* in a dog. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 153–158. doi: 10.32718/nvlvet11522

Dermatopathologies are pretty standard among domestic dogs and cats. Today, *Malassezia* occupies a leading place among fungal skin lesions. Particular attention should be paid to *Malassezia otitis* since fungal infections are usually a marker of low resistance, so against their background, it is natural to increase the pathogenic effect of other microflora and, as a result, damage to the eardrum, middle ear, and other destructive changes in the hearing organs. The article presents the results of the use of a bioregulatory approach in the complex therapy of *malassezia otitis* in dogs with the use of the drug “Traumeel”, which contains ultra-low doses of biologically active substances. The use of this drug increases the safety of treatment, which in turn protects the animal's body from complications and adverse effects of therapy. The study was conducted based on a private outpatient clinic of veterinary medicine in Ternopil during the treatment of an 11-year-old dog with chronic otitis. The clinical manifestation of *Malassezia otitis* was determined by characteristic clinical signs (hyperpigmentation, hyperemia, edema, pain, and increased ceruminous secretion). A cytological examination with light microscopy of adhesive strips with biomaterial fixed on a slide and stained with a modified Wright-Giemza stain, “Leukodif”, was performed to confirm the diagnosis. For therapy, initially, a generally accepted standard therapy was used using 1 % ketoconazole and 2 % chlorhexidine twice a day and preliminary cleaning of the auricles. Since no positive dynamics were observed, Traumeel 1 ml intramuscularly 1 time per day for 5 days was additionally used for therapy. The choice of bioregulatory drug was based on the components and their action. After 7 days, the dog's inflammation significantly decreased – edema, hyperemia, and itching disappeared, and there was no pathological accumulation of ceruminous gland secretion. Subsequently, three more injections of Traumeel were performed with an interval of 48 hours. 3 weeks after the diagnosis, a repeated cytological examination for the presence of *Malassezia* was performed – the result was negative. Subsequently, the dog underwent hygienic ear cleaning 1–2 times a week. There were no relapses. Based on the therapy results, it can be concluded that the treatment regimen for *Malassezia otitis* is effective.

Key words: *Malassezia otitis*, dogs, bioregulatory therapy.

Клінічний випадок маласезіозного отиту у собаки

M. I. Чуприна✉

Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

Дерматопатології досить поширені серед домашніх собак та котів. На сьогодні, маласезіоз займає провідне місце серед грибкових уражень шкіри. Особливу увагу варто приділити маласезіозному отиту, оскільки, грибкові інфекції є, зазвичай, маркером низької резистентності, тож на їх тлі закономірним є посилення патогенної дії іншої мікрофлори і, як наслідок, пошкодження барабанної перетинки, середнього вуха та інші деструктивні зміни органів слуху. В статті наведені результати застосування біорегуляційного підходу в комплексній терапії маласезіозного отиту у собаки із застосуванням препарату “Траумель”, що містить наднизькі дози біологічно активних речовин. Застосування цього препарату дозволяє підвищити безпечність лікування, що в свою чергу збереже організм тварини від ускладнень і негативного впливу терапії. Дослідження проведено на базі приватної Амбулаторії ветеринарної медицини в м. Тернопіль під час лікування собаки 11 років з хронічним отитом. Клінічний прояв маласезіозного отиту визначався за характерними клінічними ознаками (гіперпігментація, гіперемія, набряк, біль, підвищене виділення

церумінозного секрету). Для підтвердження діагнозу проводили цитологічне дослідження з світловою мікроскопією клейких смужок з біоматеріалом, зафіксованих на предметному склі та пофарбованих модифікованою фарбою Райта-Гімзи "Лейкодіф". Для терапії спочатку застосована загальноприйнята стандартна терапія з використанням 1 % кетоконазолу і 2 % хлоргексидину двічі на добу і попередньою очисткою вушних раковин. Оскільки, позитивної динаміки не спостерігалось, для терапії додатково застосовували Траумель по 1 мл внутрішньом'язево 1 раз на добу 5 діб. Вибір біорегуляційного препарату був заснований на складових та їх дії. Через 7 діб у собаки суттєво зменшилось запалення – зник набряк, гіперемія і свербіж, патологічне накопичення секрету церумінозних залоз відсутнє. Надалі виконали ще 3 ін'єкції препарату Траумель з інтервалом 48 годин. Через 3 тижні з моменту постановки діагнозу було проведено повторне цитологічне дослідження на наявність маласезій – результат негативний. В подальшому собаці проводили 1–2 рази на тиждень гігієнічну чистку вух. Рецидиви відсутні. За результатами проведеної терапії можна зробити висновок, що схема лікування маласезіозного отиту є ефективною.

Ключові слова: маласезіозний отит, собаки, біорегуляційна терапія.

Вступ

Дерматопатології — група захворювань, що характеризується ураженням шкіри та її похідних. Вони займають провідне місце серед захворювань собак різного генезу. Так, під час досліджень у Великобританії проаналізовано 3707 випадків звернень із тваринами до ветеринарних клінік, частка дерматопатологій становила 21,6 % (Hill et al., 2006). Саме грибові ураження шкіри традиційно є найпоширенішими серед інших дермальних. До останніх відносять і дріжджові мікози, зокрема маласезіоз – захворювання, що перебігає підгостро чи хронічно, характеризується свербінням, гіперпігментацією і порушенням структури уражених ділянок шкіри (Kovalenko & Voronkova, 2018). Збудником є ліпофільні дріжджі роду *Malassezia* – умовно-патогенні мікроорганізми шкіри та є її комесалами, при мікроскопії їх ідентифікують за специфічною арахисоподібною формою (Iovenko et al., 2022; 2023). За порушень опірності організму, постійному механічному подразненню шкіри відбувається зміна сталої мікробіоти і розпочинається активний ріст грибків і якщо не спинити захворювання на початкових етапах, воно набуває генералізованої форми та може призводити до деструктивних змін шкіри, спричиняти зниження резистентності організму та викликати тяжкі супутні захворювання. Окрему увагу варто приділити маласезіозному отиту, оскільки, грибові інфекції є, зазвичай, маркером низької резистентності, тож на їх тлі закономірним є посилення патогенної дії іншої мікрофлори і, як наслідок, пошкодження барабанної перетинки, середнього вуха та інші деструктивні зміни органів слуху (Solonin et al., 2019; Arkhypenko & Ushkalov, 2021).

У ранніх дослідженнях (Chang et al., 1998) було встановлено зооантропонозний потенціал дріжджів *Malassezia* у випадку інфікування новонароджених дітей з низькою вагою у відділенні інтенсивної терапії. Автором зроблено припущення про можливе занесення інфекту *M. pachydermatis* з ліпідними емульсіями через руки медичного персоналу, що мали домашніх собак. Після первинного занесення дріжджі *Malassezia* можуть зберігатися на поверхнях кювету для недоношених немовлят протягом тривалого періоду часу (van Belkum et al., 1994). Також було описано випадок гранульоми на обличчі, спричиненої *M. pachydermatis* у власника собаки (Fan et al., 2006). У більш нових повідомленнях знаходимо дані про асоційовану з *M. pachydermatis* фунгемію у незначній кількості дорослих людей із різним потенціалом схи-

лості (Choudhury & Marte, 2014; Roman et al., 2016; Lee et al., 2019). Оскільки інфікування рук *M. pachydermatis* є поширеним явищем серед власників собак, особливо тварин, схильних до алергічних станів і, як наслідок, із надмірним накопиченням *Malassezia* на покриттях тіла (Morris, 2005), існує очевидна потреба в суворій гігієні рук для осіб, які контактують з домашніми собаками та котами, а особливо, якщо такі власники тварин також схильні до алергічних станів чи мають ознаки ослабленого імунітету (Bond et al., 2020).

Досить ефективним, на сьогодні, є метод лікування маласезіозного дерматиту у собак з використанням препаратів з вмістом 2 % міконазолу та 2 % хлоргексидину або із застосуванням 1 % кетоконазолу (Bond et al., 1995; Maynard et al., 2011; Bond et al., 2020).

Терапія маласезіозного отиту довготривала і займає від 14 до 30 днів поки не відновиться мікробіота ураженої ділянки шкіри. Нажаль, на сьогодні більшість препаратів, що впливають на патогенез захворювання мають ряд негативних наслідків для організму: гепато- і нефротоксичність, імуносупресивна дія, створення антибіотикорезистентних штамів бактерій.

Ми повинні розглядати організм, як єдину систему в якій все відбувається в постійному взаємозв'язку та розвитку. Тому патогенетична терапія повинна бути спрямована на відновлення гомеостазу. Такий вплив мають біорегуляційні препарати, що містять наднизькі дози біологічно активних речовин і здатні активувати захисно-адаптивні реакції, спрямовані на усунення патологічного процесу. Такі препарати активують неспецифічний захист організму, проявляють знеболювальну, протизапальну, антисептичну та регенеративну дію, тобто впливають на всі ланки патогенезу.

Мета дослідження

Метою роботи є розробка і апробація нових схем терапії маласезіозного отиту у собак.

Матеріал і методи досліджень

Враховуючи попередню інформацію було випробувано новий підхід для лікування маласезіозного отиту у собаки метис 11 років. Дослідження проведено на базі приватної Амбулаторії ветеринарної медицини в м. Тернопіль. Терапія включала препарат, що містить наднизькі дози біологічно активних речовин,

німецької компанії “Біологіше Хайльміттель Хеель ГмбХ”, Траумель, а також специфічний препарат проти представників роду *Malassezia* спрей Скін Гард і гігієнічний розчин по догляду за вухами Аурікап компанії “ARTERIUM”.

Для встановлення остаточного діагнозу використовували як традиційні для інфекційних хвороб методи (збір епізоотологічного анамнезу та клінічного обстеження), так і результати цитологічного дослідження ураженої ділянки тіла.

З даних анамнезу собака проходила терапію протягом двох років у п'яти ветеринарних клініках. За цей час було застосовано як місцево так і системно різні антибактеріальні, протизапальні і протигрибкові лікарські препарати, повністю свербіж у собаки не проходив і спостерігались рецидиви кожні 1.5–2 місяці. При першому візиті за клінічного огляду встановлено набряк, гіперемія і гіперпигментація вушних раковин, у вушному каналі надмірне виділення секрету церумінозних залоз. При пальпації встановлено біль і дискомфорт (рис. 1).



Рис. 1. Стан вушної раковини в перший день

Надалі проведено цитологічне дослідження на наявність маласезій. Матеріал для дослідження відбирали з уражених ділянок вух за допомогою клейкої стрічки, зафіксованої навколо браншів вигнутого затискача типу Халстед-Москіт, клейкою стороною назовні. Попередньо бранші обмотували ватою для уникнення травм слухового каналу. Надалі проводили світлове мікроскопічне дослідження клейких смужок з біоматеріалом, зафіксованих на предметному склі та пофарбованих модифікованою фарбою Райта-Гімзи “Лейкодіф”. Результат вважали позитивним, бо виявлено скупчення маласезій в кількості 10 клітин та більше в полі зору (рис. 2).

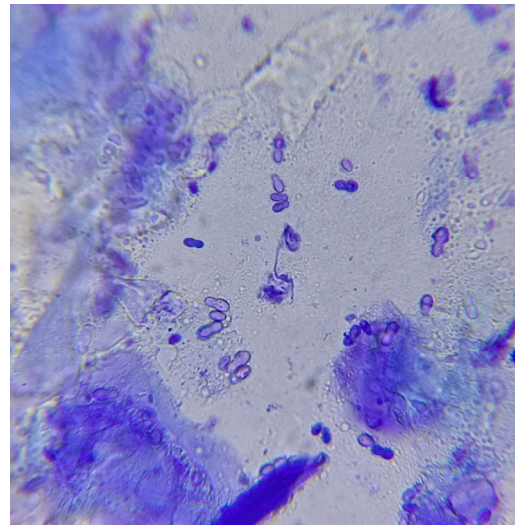


Рис. 2. Результати цитології в перший день. Численні представники роду *Malassezia* (при збільшенні $\times 1000$) із препарату липкої стрічки, пофарбованого фарбою Лейкодіф

Результати та їх обговорення

Спираючись на загальноприйняті рекомендації з терапії захворювання і оскільки не виявлено патогенної мікрофлори за цитологічного дослідження собаці призначено місцева очистка вушного каналу гігієнічним засобом “Аурікап” з подальшим нанесенням за допомогою змоченої вушної палички в препарат “Скін Гард” 2 рази на добу до негативного повторного цитологічного дослідження. Скін Гард містить в своєму складі 2 % кетоконазолу (діє фунгіцидно на маласезій) і 4 % хлоргексидину (має бактерицидну дію, не утворює резистентну мікрофлору і не викликає токсичної дії), але щоб уникнути місцевого подразнюючого ефекту препарат розводили в концентрації 1:2 з 0,9 % розчином натрію хлориду. Також призначено одягати собаці захисний комір, щоб уникнути додаткового травмування під час розчісування вух лапами. Даний вибір лікування усуватиме наявність маласезій за рахунок кетоконазолу і запобігатиме розвитку патогенної мікрофлори.

Впродовж семиденної терапії позитивної динаміки не відбувалося. У собаки залишався набряк, свербіж, почервоніння і біль при пальпації (рис. 3).



Рис. 3. Стан вушної раковини на сьомий день

Найбільш негативними симптомами захворювання залишалися свербіж і запалення. Для подальшого лікування було розглянуто наступні варіанти для внесення змін в призначення:

1. Зміна основного препарату спрею “Скін Гард” на інший комплексний препарат, який буде містити протизапальний, знеболювальний компонент, а також буде ефективним проти представників роду *Malassezia*. В Україні на сьогодні існує декілька альтернативних засобів – краплі “Отоспетрин”, “Нептра”, “Суролан”, “Позатекс”. За рахунок глюкокортикостероїдів у їхньому складі ми можемо досягнути гарної протизапальної і знеболювальної дії, але кожен препарат містить антибіотик. Оскільки за культурального дослідження не виявлено культур бактерій, застосування цих препаратів не є доцільним, бо вони сприятимуть розвитку антибіотик резистентних штамів бактерій і не вплинуть позитивно на відновлення здорової мікробіоти шкіри.

2. Додаткове системне застосування глюкокортикостероїдів. Препарати системної дії, такі як “Дексакел”, “Преднізолон”, “Метилпреднізолон”, “Дексафорт” зможуть прибрати негативні симптоми захворювання до повного одужання, але терапія маласезіозу триває від двох до чотирьох тижнів. Тривале застосування, навіть протягом тижня, цих препаратів негативно вплине на стан організму одинадцятирічної собаки і також вони мають ряд протипоказань (серцева та ниркова недостатність, остеопороз, діабет, гіперкортицизм, мають виражену імуносупресивну дію).

3. Додаткове застосування біорегуляційного препарату “Траумель” – це протизапальний препарат, механізм дії якого полягає в активації пророзрішуючих медіаторів (SPM факторів). Завдяки цьому відбувається саме розрішення запалення, а не його блокування і існує можливість відновлення в осередку запалення. Дослідження показали, що він знижує концентрацію прозапальних медіаторів фактору некрозу пухлин альфа, ІЛ-1 β , ІЛ-6 і ІЛ-8, а також стимулює секрецію TGF- β . У препарату відсутні протипоказання, можливе використання разом з іншими лікарськими препаратами і можливі довготривалі курси терапії (Heine & Schmolz, 1998; Porozov et al., 2004).

Таким чином проаналізувавши всі негативні наслідки, які можуть бути за зміни терапії, обрано застосувати “Траумель” в дозі 1 мл для внутрішньом’язевого введення протягом 5 діб. Через 7 діб після зміни лікування у собаки суттєво зменшилось запалення – зник набряк, гіперемія і свербіж, патологічне накопичення секрету церумінозних залоз відсутнє (рис. 4).



Рис. 4. Стан вухної раковини на 14 день

Надалі виконали ще 3 ін’єкції препарату “Траумель” з інтервалом 48 годин. Через 3 тижні з моменту постановки діагнозу було проведено повторне цитологічне дослідження на наявність маласезій. Результат негативний (рис. 5).

Для уникнення рецидиву отиту собаці призначена регулярна гігієнічна обробка вух з використанням розчину “Аурікап” 1–2 рази на тиждень. Сам засіб наносити змоченою вухною паличкою на стінки вертикального вухного каналу.



Рис. 5. Результати цитології на 21 день

Через шість місяців після проведення терапії рецидивів не було і самопочуття собаки задовільне (рис. 6).



Рис. 6. Собака метис 11 років, на прийомі через 6 міс після терапії

Висновки

1. Траумель має позитивний вплив за терапії маласезіозного отиту.
2. Терапія хронічного отиту має відбуватися комплексно із застосуванням етіотропних та патогенетичних засобів.
3. Схема терапії, що передбачає використання гігієнічного засобу “Аурикан”, спрей “Скін Гард” на основі кетоназолу і хлоргексидину, протизапального препарату “Траумель”, може бути успішно застосована для хворих собак і інших тварин на маласезіозний отит.
4. Наведені дані дають підстави використовувати біорегуляційні препарати, що мають доведену ефективність і високий профіль біобезпеки, в щоденній практиці ветеринарного лікаря, як патогенетична терапія для лікування інфекційних захворювань.

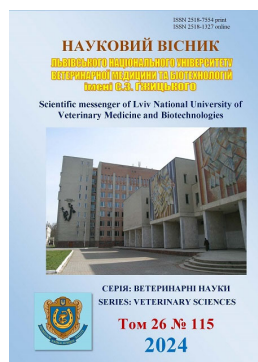
Відомості про конфлікт інтересів

Автор стверджує про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Arkhylenko, A., & Ushkalov, V. (2021). Yeast fungi of the genus *Malassezia* in dermatological diseases in animals. *Naukovyi visnyk vetrynarnoi medytsyny*, 1, 50–57. DOI: 10.33245/2310-4902-2021-165-1-50-57 (in Ukrainian).
- Bond, R., Morris, D. O., Guillot, J., Bensignor, E. J., Robson, D., Mason, K. V., Kano, R., & Hill, P. B. (2020). Biology, diagnosis and treatment of *Malassezia* dermatitis in dogs and cats: Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Veterinary dermatology*, 31(1), 75. DOI: 10.1111/vde.12834.
- Bond, R., Rose, J. F., Ellis, J. W., & Lloyd, D. H. (1995). Comparison of two shampoos for treatment of *Malassezia pachydermatis*-associated seborrheic dermatitis in basset hounds. *The Journal of small animal practice*, 36(3), 99–104. DOI: 10.1111/j.1748-5827.1995.tb02840.x.
- Chang, H. J., Miller, H. L., Watkins, N., Arduino, M. J., Ashford, D. A., Midgley, G., Agüero, S. M., Pinto-Powell, R., von Reyn, C. F., Edwards, W., McNeil, M. M., & Jarvis, W. R. (1998). An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs. *The New England journal of medicine*, 338(11), 706–711. DOI: 10.1056/NEJM199803123381102.
- Choudhury, S., & Marte, R. L. (2014). *Malassezia pachydermatis* fungaemia in an adult on posaconazole prophylaxis for acute myeloid leukaemia. *Pathology*, 46(5), 466–467. DOI: 10.1097/PAT.000000000000139.
- Fan, Y. M., Huang, W. M., Li, S. F., Wu, G. F., Lai, K., & Chen, R. Y. (2006). Granulomatous skin infection caused by *Malassezia pachydermatis* in a dog owner. *Archives of dermatology*, 142(9), 1181–1184. DOI: 10.1001/archderm.142.9.1181.
- Heine, H., & Schmolz, M. (1998). Induction of the immunological bystander reaction by plant extracts. *Biomed Ther*, XVI(3), 224–226. URL: <https://www.biopathica.co.uk/Articles/Scientific/4%20-%20Induction%20of%20the%20Immunological%20Bystander%20Reaction%20by%20Pla.pdf>.
- Hill, P. B., Lo, A., Eden, C. A., Huntley, S., Morey, V., Ramsey, S., Richardson, C., Smith, D. J., Sutton, C., Taylor, M. D., Thorpe, E., Tidmarsh, R., & Williams, V. (2006). Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of dermatological conditions in small animals in general practice. *The Veterinary record*, 158(16), 533–539. DOI: 10.1136/vr.158.16.53.
- Iovenko, A., Lumedze, I., Kot, S., & Naidich, O. (2023). Poshyrennia malaseziinoho dermatytu u tvaryn riznykh vydiv. *Ahrarnyi visnyk Prychornomia*, 107, 47–50. DOI: 10.37000/abbsl.2023.107.06 (in Ukrainian).
- Iovenko, A., Yurchenko, M., & Koval, H. (2022). The spread of dogs' otitis in Odesa city. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 24(107), 40–43. DOI: 10.32718/nvlvet10707.
- Kovalenko, A. H., & Voronkova, O. S. (2018). Vyjavlennia infektsiinykh urazhen, vyklykanykh mikroskopichnymy hrybamy, u tvaryn. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 4(2(147)), 107–110. DOI: 10.29254/2077-4214-2018-4-2-147-107-110 (in Ukrainian).
- Lee, J., Cho, Y. G., Kim, D. S., Choi, S. I., & Lee, H. S. (2019). First Case of Catheter-related *Malassezia pachydermatis* Fungemia in an Adult. *Annals of laboratory medicine*, 39(1), 99–101. DOI: 10.3343/alm.2019.39.1.99.
- Maynard, L., Rème, C. A., & Viaud, S. (2011). Comparison of two shampoos for the treatment of canine *Malassezia* dermatitis: a randomised controlled trial. *The Journal of small animal practice*, 52(11), 566–572. DOI: 10.1111/j.1748-5827.2011.01124.x.
- Morris, D. O. (2005). *Malassezia pachydermatis* carriage in dog owners. *Emerging infectious diseases*, 11(1), 83–88. DOI: 10.3201/eid1101.040882.

- Porozov, S., Cahalon, L., Weiser, M., Branski, D., Lider, O., & Oberbaum, M. (2004). Inhibition of IL-1beta and TNF-alpha secretion from resting and activated human immunocytes by the homeopathic medication Traumeel S. *Clinical & developmental immunology*, 11(2), 143–149. DOI: 10.1080/10446670410001722203.
- Roman, J., Bagla, P., Ren, P., Blanton, L. S., & Berman, M. A. (2016). *Malassezia pachydermatis* fungemia in an adult with multibacillary leprosy. *Medical mycology case reports*, 12, 1–3. DOI: 10.1016/j.mmcr.2016.05.002.
- Solonin, P. K., Tkachenko, V. V., Tarnavskyi, D. V., Tkachenko, T. A., & Orban, T. V. (2019). Efektyvnist likuvannia malaseziinykh otytiv u sobak. *Naukovi dopovidi NUBiP Ukrainy*, 6(82). DOI: <http://dx.doi.org/10.31548/dopovidi2019.06.021> (in Ukrainian).
- van Belkum, A., Boekhout, T., & Bosboom, R. (1994). Monitoring spread of *Malassezia* infections in a neonatal intensive care unit by PCR-mediated genetic typing. *Journal of clinical microbiology*, 32(10), 2528–2532. DOI: 10.1128/jcm.32.10.2528-2532.1994.



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/nvlvet11523
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 616-006: 636.7

Skin mastocytoma in dogs, complex treatment and survival of animals

B. B. Ivashkiv[✉], A. R. Mysak

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

Article info

Received 10.07.2024
Received in revised form
12.08.2024
Accepted 13.08.2024

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-063-056-48-31
E-mail: bogdan.ivashkiv31@gmail.com

Ivashkiv, B. B., & Mysak, A. R. (2024). Skin mastocytoma in dogs, complex treatment and survival of animals. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 159–174. doi: 10.32718/nvlvet11523

The article deals with highlighting the results of clinical investigations of 49 dogs with cutaneous mastocytomas (MCTs), which during 2016–2024, took a full course of diagnostic and therapeutic measures in the clinic of the Department of Surgery of Stepan Gzhytskyi LNUVMB. 26 male dogs and 23 female dogs were involved in the research, they were of different breeds, uncastrated, aged from 4 to 16 years (median 9.5 and mode 9–10 years). The purpose of the current stage of research was clinical and experimental substantiation of the complex treatment of dogs for skin mastocytomas, setting its therapeutic effectiveness and animal survival. It was established that in the structure of skin tumor lesions in dogs, MCTs reach 17.2 %. During the initial examination of animals, in accordance with the criteria of the clinical TNM classification of neoplasias, at the time of admission to the clinic, the following were diagnosed: in 20.5 % of dogs – I, in 26.53 % – II, in 51.02 % – III and in 2.04 % in some cases – the IV clinical stage of the development of the tumor process. The diagnosis of mastocytoma was set up on the basis of the data of the physical examination of animals and cytological verification of the biopsy material got during targeted, ultrasound-guided, fine-needle biopsy of neoplasias and regional lymph nodes. The final diagnosis was got based on the results of a histological investigation of the excisional material taken during the operation. According to the criteria of the two-stage histological classification (Kiupel), skin mastocytomas were verified as low-malignant in 33 (67.3 %) dogs and highly malignant in 16 (32.7 %). For experimental research, sick dogs were divided into four groups: the first ($n = 16$) and second ($n = 17$) included animals with low malignancy, and, accordingly, the third ($n = 8$) and fourth ($n = 8$) with high malignant MCTs. In the scheme of treatment of all animals, a surgical method was used, while in the first group, surgical removal of tumors was the main treatment measure, in the second, third and fourth groups, surgery was only the first stage of treatment. In order to prevent the degranulation of mast cells and, accordingly, to prevent the occurrence of inflammation and swelling in the tumor and in the surrounding tissues after surgery, as well as to reduce the volume of tumors before surgery, neoadjuvant glucocorticoid therapy was performed. After the surgical removal of tumors, the animals of the first group were only observed for their recovery and further life. At the same time, in the dogs of the second group, after extirpation of neoplasms, the immunostimulating preparation anfluron was used for 24 days. The dogs of the third group were given two courses of chemotherapy according to the vinblastine, cyclophosphamide, and dexamethasone scheme after the operation. In the dogs of the fourth group, similarly to the third group, tumors were surgically removed, chemotherapy was performed according to the same scheme, however, after completion of the latter, the animals were used anfluron, according to the scheme as in the second group. According to the results of the use of dexamethasone by means of neoadjuvant therapy in 77.5% of dogs, a decrease in the size of tumors by 19.2–25.8 % was set up, which made it possible to extirpate tumors within a wide range of the surgical field (with a margin margin > 2 cm), in 18.4% of animals the size of the tumors did not change and in 4.1% a slight increase in neoplasia was noted. The therapeutic effectiveness of the performed measures was got based on the results of the clinical condition investigation, as well as indicators of overall survival, recurrence-free survival of animals, and median life expectancy. The survival rate was also evaluated by constructing graphs and analyzing Kaplan-Meier curves. According to the results of clinical researches and two-year observations, the survival rate of dogs in the first and second groups was 100 % during the first year, 50.0% in the third, 62.5 % in the fourth, and 62.5 % in the first, 62.5 % in the second, and 62.5 % in the fourth. 70.6 %, the third 12.5 % and the fourth – 25 %. It was set up that the median life expectancy among dogs with highly malignant mastocytomas was 7 months in the third group and was significantly shorter compared to the animals of the fourth group of 19 months ($P < 0.05$), which were treated with anfluron (recombinant α - γ -interferons). At the same time, among dogs with mastocytomas of low malignancy, after surgical removal of neoplasias and the use of immunotherapy, a smaller number of cases of local recurrence and metastasis to lymph nodes were got. Therefore, it

can be concluded that a multimodal approach to the treatment of dogs with MCTs, which includes a combination of surgery, chemotherapy and immunotherapy adapted to the profile of each patient, can improve the survival rates and quality of life of the animals.

Key words: dog, mast cell tumors, complex treatment, chemotherapy, immunotherapy, prognosis, animal survival.

Мастоцитомі шкіри у собак, комплексне лікування та виживаємість тварин

Б. Б. Івашків[✉], А. Р. Мисак

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

У статті зосереджено увагу на висвітленні результатів клінічних досліджень 49 собак з мастоцитомою шкіри (MCTs), які впродовж 2016–2024 рр. проходили повний курс діагностично-лікувальних заходів в умовах клініки кафедри хірургії ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Залучені до досліджень 26 псів і 23 суки, були різних порід, некастровані, віком від 4 до 16 років (медіана 9,5 і мода 9–10 років). Метою поточного етапу досліджень було клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак за мастоцитомою шкіри, встановлення його терапевтичної ефективності та виживаємість тварин. Встановлено, що у структурі пухлинних уражень шкіри у собак MCTs сягають 17,2 %. За первинного обстеження тварин, відповідно до критеріїв клінічної TNM класифікації неоплазій, на момент поступлення у клініку діагностовано: в 20,5 % собак – I, в 26,53 % – II, в 51,02 % – III і в 2,04 % випадках – IV клінічну стадію розвитку пухлинного процесу. Діагноз на мастоцитому встановлено на підставі даних фізикального дослідження тварин та цитологічної верифікації біопсійного матеріалу отриманого за прицільної, під контролем УЗД, тонкоглкової біопсії неоплазій та регіонарних лімфатичних вузлів. Остаточний діагноз встановлено за результатами гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу відібраного під час операції. Згідно критеріїв двохступеневої гістологічної класифікації (Kiupel) у 33 (67,3 %) собак мастоцитомі шкіри верифіковано як низько злякисні і в 16 (32,7 %) – високо злякисні. Для виконання експериментальних досліджень хворих собак розподілено на чотири групи: у першу ($n = 16$) і другу ($n = 17$) включено тварин з низько злякисними і, відповідно, в третю ($n = 8$) та четверту ($n = 8$) з високо злякисними MCTs. У схемі лікування усіх тварин застосовано хірургічний метод, при цьому, в першій групі хірургічне видалення пухлин було основним лікувальним заходом в другій, третій та четвертій групах операція була лише першим етапом лікування. З метою превенції дегрануляції опасистих клітин та, відповідно, недопущення виникнення запалення й набряку в пухлині та в навколишніх тканинах після операції, а також з метою зменшення об'єму пухлин перед операцією було проведено неoad'ювантну глюкокортикоїдну терапію. Після хірургічного видалення пухлин за тваринами першої групи вели лише спостереження їхнього видужання та подальшого життя. Водночас у собак другої групи після екстирпації новоутворень застосовували впродовж 24 діб препарат імуностимулюючої дії анфлурон. Собакам третьої групи після виконання операції було проведено два курси хіміотерапії за схемою вінбластин, циклофосфамід дексаметазон. У собак четвертої групи, аналогічно як і в третій, хірургічно видаляли новоутворення, за такою ж схемою виконували хіміотерапію, проте, після завершення останньої тваринам було застосовано анфлурон, за схемою як у другій групі. За результатами застосування дексаметазону шляхом неoad'ювантної терапії у 77,5 % собак встановлено зменшення величини пухлин на 19,2–25,8 %, що дозволило провести у них екстирпацію пухлин в межах широкого хірургічного поля (з крайовим відступом >2 см), у 18,4 % тварин розмір пухлин не змінився і у 4,1 % Відмічено незначне збільшення неоплазій. Терапевтичну ефективність проведених заходів встановлювали за результатами дослідження клінічного стану, а також показниками загальної виживаності, безрецидивної виживаності тварин та медіаною тривалості життя. Оцінку виживаності проводили також шляхом побудови графіків та аналізу кривих Каплана-Майєра. Згідно результатів клінічних досліджень та двохрічних спостережень виживаність собак становила впродовж першого року в першій та другій групах 100 %, у третій – 50,0 %, у четвертій – 62,5 % і за два роки, відповідно, в першій – 62,5, другій – 70,6 %, третій – 12,5 і четвертій – 25 %. Встановлено, що медіана тривалості життя поміж собак із високо злякисними мастоцитомами в третій групі становила 7 місяців і була вірогідно коротшою порівняно з показником 19 місяців ($P < 0,05$), встановленим в тварин четвертої групи, яким, було застосовано анфлурон (рекомбінантні α - γ -інтерферони). Водночас поміж собак із мастоцитомами низької злякисності після хірургічного видалення неоплазій та застосування імунотерапії встановлено меншу кількість випадків місцевого рецидиву та метастазування у лімфатичні вузли. Отже, можна зробити висновок, що мультимодальний підхід до лікування собак з MCTs, який включає комбінацію хірургічного втручання, хіміотерапії та імунотерапії, адаптованої до профілю кожного пацієнта може підвищити показники виживання та якості життя тварин.

Ключові слова: собака, пухлина опасистих клітин (Mast cell tumors), комплексне лікування, хіміотерапія, імунотерапія, прогноз, виживаність тварин.

Вступ

Згідно повідомлень дослідників, які працюють в галузі ветеринарної онкології (Misdorp, 2004; Blackwood et al., 2012; Garret, 2014; Grüntzig et al., 2015; Shoop et al., 2015; Sledge et al., 2016; Smiech et al., 2018; Machado et al., 2018; Graf et al., 2018; Ivashkiv et al., 2020), найбільш поширеною пухлиною шкіри в собак на сьогодні визнано мастоцитому (Mast cell tumors (MCTs)). Відомо, що пухлинні ураження опасистих (тучних) клітин трапляються в тварин різних видів, в тому числі і в людини, проте в собак дане онкологічне захворювання відзначається певною уні-

кальністю, що пов'язано з проявом різних форм неоплазії, їх локалізацією та клінічним перебігом. Залежно від топографії ураження тих чи інших органів (Willmann et al., 2021) виділяють шкірні (сMCT) та підшкірні мастоцитні пухлини (scMCT), слизові (mMCT), за ураження слизової ротової порожнини та шлунково-кишкового тракту, позашкірні/екстрамукозні мастоцитні пухлини (eMCT) виявлені в будь-якому васкуляризованому органі (лімфатичні вузли, селезінка, печінка) та системне ураження - лейкоз тучних клітин (МКЛ). Водночас сMCT та scMCT розділяють на локалізовані, регіональні метастатичні (за ураження лімфатичного вузла) та віддалені

метастатичні ураження внутрішніх органів. Зазвичай пухлинні ураження опасистих клітин у собак розглядаються як потенційно злоякісні.

Мета-аналіз джерел літератури засвідчує, що в клінічній практиці лікарів ветеринарної медицини в усіх країнах та на різних континентах шкірна форма мастоцитом у собак реєструється найчастіше і становить в структурі неоплазій шкіри від 7 до 21 %. У численних повідомленнях акцентовано увагу на тому, що шкірні МСТ мають розмаїтий зовнішній вигляд і клінічну симптоматику, непередбачувані біологічну поведінку та прогноз, чим і створюють багато клопотів у прийнятті рішень щодо алгоритму лікування. Етіологія мастоцитом до нині невідома, однак, більшість дослідників вважають, що провідними детермінантами для розвитку пухлини є мутації в протоонкогені *c-kit* та хронічна стимуляція опасистих клітин у місцях їх найбільшого скупчення (шкіра, підшкірна клітковина, слизова оболонка ротової порожнини та шлунково-кишкового тракту, вісцеральні органи). З позицій сьогодення надмірна проліферація атипичних мастоцитів, а також їхня патологічна активація та дегрануляція, що супроводжується вивільненням в навколишні тканини і кров надмірної кількості біологічно активних речовин, медіаторів та специфічних IgE-антитіл, так званих регуляторів запалення та алергії, відіграють провідну роль в патогенезі пухлини та обумовлюють непередбачуваність хвороби щодо клінічного перебігу, біологічної поведінки, лікування та прогнозу (Misdorp, 2004; Webster et al., 2007; Welle et al., 2008; London & Thamm, 2013; Lyons & Pullen, 2020; Baran, et al., 2023).

Широкомасштабні дослідження МСТs у собак проведені впродовж останніх 50-ти років суттєво розширили пізнання природи та клініки неоплазії. Узагальнені результати досліджень та сучасні досягнення у цій галузі було представлено науковій спільноті на численних вузькоспеціалізованих форумах присвячених проблемі мастоцитних неоплазій, зокрема Південноєвропейській ветеринарній конференції (SEVC) у Барселоні (2008), конференції з новоутворень мастоцитів в собак у Відні (2019), першій (2012) та другій (2021), конференціях Бразильської асоціації ветеринарної онкології (ABROVET). Консенсусні документи цих конференцій, а також пропозиції щодо діагностики, лікування та прогнозу мастоцитних пухлин шкіри у собак опубліковані Blackwood et al., (2012); Willmann et al. (2021); de Nardi et al. (2022) і широко використовуються у науковій і практичній роботі. Однак, стрімкий розвиток ветеринарної онкології потребує постійного переоцінювання та перегляду поточного стану знань в даній галузі. Так, запроваджену Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) чотирьох стадійну клінічну систему класифікації пухлин (Owen, 1980) консенсусним рішенням низки науковців та практиків (Horta et al., 2018; Willmann et al., 2021) на сьогодні уніфіковано відповідно до особливостей клінічного прояву різних форм МСТs. Зважаючи на важливість патоморфологічної верифікації неоплазій за результатами фундаментальних гістопатоморфологічних досліджень Patnaik et al. (1984) була запроваджена тріступенева гістологічна

класифікація МСТs, а згодом двохступенева (Kiupel et al., 2011). Нині доведено (Camus et al., 2016), що для виявлення та ідентифікації МСТs, а також вибору тактики лікування, достатньо цитологічного дослідження біоптату, отриманого шляхом тонкоголкової аспіраційної біопсії пухлини. Водночас для встановлення заключного діагнозу, а також прогнозу біологічної поведінки неоплазії та виживаності тварин важливим є результат гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу. Гістологічний ступінь за даними Andy Yale (Dom Barfield, 2022) є вельми прогностичним. Собаки з пухлинами 3 ступеня за Patnaik мають значно коротшу виживаність порівняно з пухлинами 1 та 2 ступеня. Подібним чином собаки з пухлинами високого ступеня злоякісності за критеріями класифікації Kiupel мають гірші результати порівняно з пухлинами низького ступеня злоякісності. Наразі в клінічній практиці найбільш часто застосовується дворівнева гістологічна класифікація (Kiupel et al., 2011), яка поділяє МСТs собак виключно на пухлини низького та високого ступеня злоякісності і відповідно до встановленого ступеня приймаються рішення щодо терапевтичних заходів (Stefanello et al., 2015; Sabattini et al., 2015; Smiech et al., 2018). Однак, незважаючи на те, що гістопатологічна оцінка (встановлений ступінь злоякісності) неоплазії та клінічна стадія є надійними критеріями для прогнозування ефективності лікування на практиці нерідко трапляються випадки неочікуваного перебігу хвороби. Тому більшість дослідників рекомендують зважати на низку інших важливих прогностичних чинників. Зокрема, за планування та проведення лікувальних заходів важливо враховувати анатомічне розташування пухлини та кількість пухлинних уражень (Kiupel et al., 2005; Thompson et al., 2011; Garrett, 2014), швидкість росту неоплазій, їх розмір, загальний вигляд (Mullins et al., 2006; Stefanello et al., 2015; Pierini et al., 2019), хірургічні краї (Fulcher et al., 2006; Schultheiss et al., 2011; Scarpa et al., 2012; Donnelly et al., 2015; Saunders et al., 2021) тощо. За повідомленням низки науковців (Webster et al., 2007; Berlato et al., 2015; Fonseca-Alves et al., 2015; Smith et al., 2017; Kiupel & Camus, 2019; Freytag et al., 2021) особливої уваги заслуговують молекулярні маркери проліферації Ki-67, AgNOR, PCNA, а також експресія білка KIT (Thompson et al., 2011; Thamm et al., 2019; Bellamy & Berlato, 2022), які мають важливе діагностичне й прогностичне значення, дозволяють вчасно верифікувати МСТs з високим ризиком агресивної поведінки та застосувати адекватне лікування.

У сучасній ветеринарній практиці за лікування собак з мастоцитомою застосовують як класичні (хірургічний, хіміотерапію, променеву терапію), так і інноваційні методи (імунотерапію, таргетну терапію (інгібітори тирозинкінази), а також місцеве протипухлинне лікування (тигліанолу тиглат) тощо). Варто зазначити, що лікувальні заходи провадять відповідно до гістологічної стадії неоплазії та клінічного стану пацієнта і кожен з перелічених методів, може застосовуватися окремо або в комплексі з іншими. Тим не менше, відповідно до результатів численних досліджень МСТs (Blackwood et al., 2012; Oliveira et al., 2020; Willmann et al., 2021; de Nardi et al., 2022), в

алгоритмі першої лінії лікування пріоритет надається хірургічному методу. Так, за одиноких пухлин, при відсутності ураження лімфатичних вузлів та доказів метастазування (MCTs низького ступеня злоякісності за класифікацією Kiupel або 1–2 ступеня за Patnaik), екстирпацію неоплазії проводять із відступом 2–3 см навколо її видимих меж та захопленням однієї фаціальної площини нижче ураження. У випадках інтраопераційного досягнення „чистих країв екстирпації”, що обов’язково має бути підтверджено гістологічним дослідженням, подальше лікування не проводиться (Fulcher et al., 2006; Schultheiss et al., 2011; Saunders et al., 2021). Окремі дослідники (Itoh et al., 2021) для отримання чистих країв рекомендують проводити екстирпацію мастоцитом із відступом бокових хірургічних країв пропорційно найширшому діаметру пухлини. Однак, як свідчить практика серед вищевказаної категорії MCTs трапляються неоперабельні пухлини, наприклад, великі за розмірами або неоплазії, що локалізуються в ділянці голови, на кінцівках, в ділянці паха, промежини. Як альтернативу до проведення операції за лікування таких неметастатичних, неоперабельних MCTs рекомендовано (Miller et al., 2019; De Ridder et al., 2021; Brown et al., 2022) внутрішньопухлинне введення тигіланол тиглату (*Tigilanol tiglate*). Ін’єкція препарату спричиняє локальну запальну реакцію, руйнування судин та індукцію загибелі пухлинних клітин через онкоз (Boyle et al., 2014) - геморагічний некроз та руйнування пухлинної маси з подальшим загоєнням рани за вторинним натягом впродовж 28 діб.

Алгоритм лікування собак за мастоцитоми високого ступеня злоякісності (Blackwood et al., 2012; Moore et al., 2020) ґрунтується на проведенні хірургічного видалення пухлини та застосуванні променевої терапії (Mendez et al., 2020; Mason et al., 2021) або хіміотерапії (Lejeune et al., 2015). Аналогічно поступають і за пухлин низького ступеня злоякісності у разі інтраопераційного виявлення пухлинних клітин в хірургічних краях або/чи за неможливого виконання екстирпації пухлини в межах „чистих країв” (Pratschke et al., 2013; Donnelly et al., 2015; Saunders et al., 2021), а також за рецидиву хвороби. Численними дослідженнями (Marconato et al., 2018; Ferrari et al., 2018; Sabattini et al., 2021) доведено також, що лімфатичні вузли є зазвичай місцем нагромадження опасистих клітин, тому одномоментна екстирпація високо злоякісної MCTs разом із регіонарним лімфатичним вузлом та застосування ад’ювантної хіміотерапії суттєво покращує терапевтичний потенціал, знижує ймовірність локального рецидиву та розвитку віддалених метастазів.

На сьогодні для лікування собак з пухлинами опасистих клітин запроваджено різноманітні варіанти хіміотерапії із застосуванням вінкристину, вінбластину, циклофосфаміду, ломустину, інгібіторів тирозинкінази, зокрема масінінібу, тоцеранібу, іматинібу, кортикостероїдів (преднізолону, гідрокортизону). Залежно від терапевтичних підходів різних дослідників до лікування (Rassnick et al., 2010; Blackwood et al., 2012; Bavcar et al., 2017; Olsen et al., 2018; Horta et al., 2018; Todd et al., 2021; Coelho et al., 2023; Anderson et

al., 2024) вищевказані препарати застосовуються в протоколах як монопрепарати або в комбінаціях, в режимі ад’ювантної або неоад’ювантної терапії. За повідомленнями (Stanclift & Gilson, 2008; Rassnick et al., 2010; Anderson et al., 2024) в передопераційному періоді для контролю прогресування захворювання, вгамування запалення, а також зменшення розмірів пухлини та полегшення її хірургічного видалення доцільно застосовувати неоад’ювантну кортикостероїди як монотерапію або їх комбінацію з іншими цитостатиками. Важливо зауважити, що для вгамування паранеопластичних симптомів, спровокованих деградацією опасистих клітин, окрім кортикостероїдів, широкого застосування набула допоміжна медикаментозна терапія антагоністами гістамінових рецепторів HR_1 та HR_2 (Rassnick et al., 2010; Blackwood et al., 2012).

На сьогодні все більшої актуальності в лікуванні онкологічних хвороб набуває застосування імунотерапії (Parker et al., 2016). Зокрема для лікування пацієнтів за системного мастоцитозу (Bjerrum, 2011) рекомендує комбінувати інтерферон альфа-2b з низькими дозами преднізону. У дослідженнях (Ziekman et al., 2013) досягнуто регресії MCTs в собак шляхом внутрішньопухлинної ін’єкції інтерлейкіну-2. Однак дані дослідники заявляють, що для точного встановлення терапевтичного ефекту потрібне більш масштабне дослідження.

За аналізу даних вищевказаних джерел літератури можна відмітити, що запропоновані впродовж останніх років протоколи лікування MCTs у собак не забезпечують бажаного терапевтичного ефекту, тому розробка нових та удосконалення відомих схем лікування залишаються на сьогодні актуальною проблемою як в Україні, так і у світі. Вочевидь, вище наведена інформація стала для нас мотивованим обґрунтуванням для вивчення проблемних питань щодо мастоцитоми шкіри у собак в умовах географічної популяції України.

Мета дослідження

Метою поточного етапу досліджень було клініко-експериментальне обґрунтування комплексного лікування собак за мастоцитоми шкіри, встановлення його терапевтичної ефективності та виживаємості тварин. Водночас метою цієї публікації передбачено ознайомлення широкого кола практикуючих лікарів і науковців України з найновішою інформацією та світовими досягненнями у вивченні пухлин опасистих клітин та запровадження у вітчизняну ветеринарно-медичну практику сучасних стандартів діагностично-лікувальних заходів за даних неоплазій.

Матеріал і методи досліджень

Експериментальні дослідження проведено на 49 собаках з мастоцитомою шкіри, які проходили повний курс діагностично-лікувальних заходів в умовах клініки кафедри хірургії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького впродовж 2016–2024 рр. Тварини, 26 псів і 23 суки, були різних порід, віком від 4 до 16 років і належали власникам, що мешкають у м. Львів та приміській

зоні. При надходженні собак в клініку, під час первинного обстеження, виявлені у них пухлини були оцінені згідно критеріїв чотирьох стадійної клінічної класифікації за системою TNM (Owen, 1980; Horta et al., 2018). Діагноз на мастоцитому встановлено на підставі даних фізикального дослідження тварин та цитологічної верифікації біопсійного матеріалу отриманого шляхом прицільної біопсії неоплазій та регіонарних лімфатичних вузлів під контролем УЗД за використання тонкоіголкової та трепан-біопсії напівавтоматичними голками гільотинного типу Spring Cut 14G. Остаточний діагноз встановлювали за результатами гістологічного дослідження ексцизійного матеріалу відібраного під час операції. Патоморфологічні (цитологічні та гістологічні) дослідження проводили на кафедрі нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії ЛНУВМБ імені С.З.Гжицького. Згідно критеріїв двохступеневої гістологічної класифікації мастоцитом шкіри (Kiupel et al., 2011) у 33 собак неоплазії верифіковано як низькозлоякісні і у 16 тварин - високозлоякісні.

За проведення клініко-експериментального дослідження по встановленню терапевтичної ефективності пропонованих схем комплексного лікування дослідних собак уражених MCTs розподілено на чотири групи за принципом тварин аналогів. При формуванні дослідних груп з ідентичною патологією брали до уваги гістологічну ступінь злоякісності та клінічну стадію неоплазій, враховували також клінічний прояв захворювання, анамнестичні дані, вік, стать, живу масу та породу собак тощо. Відповідно до вище вказаних критеріїв 33 тварини з верифікованими мастоцитомами низької злоякісності рандомізовано розподілили на дві групи - першу (контрольну, $n = 16$) та другу (дослідну, $n = 17$). Водночас, поміж 16 собак з MCTs високого ступеня злоякісності створено також дві групи – третю (яка була контрольною) і четверту (дослідну), по 8 тварин у кожній.

У першій групі, собакам із мастоцитомою низького ступеня злоякісності, застосовано лише традиційний хірургічний метод видалення пухлини та подальше спостереження за процесом видужання й життя тварин. Водночас, у тварин другої групи після екстирпації новоутворення було застосовано вітчизняний лікарський препарат імуностимулюючої дії – Анфлурон.

У третій групі, собакам з пухлинами опастистих клітин високого ступеня злоякісності, після екстирпації пухлини застосували загальноприйнятну схему хіміотерапії, що включала цитостатичні препарати вінбластин і циклофосфамід та глюкокортикоїд преднізолон. У нашому дослідженні преднізолон було замінено на препарат активнішої дії - дексаметазон. У собак четвертої групи, аналогічно як і у третій, хірургічно видаляли новоутворення та за такою ж схемою застосували цитостатичні препарати. Проте, після завершення курсу хіміотерапії тваринам даної групи застосовано анфлурон. Слід зауважити, що у схемі лікування в усіх собак було застосовано хірургічний метод і, якщо у собак першої групи хірургічне видалення пухлин було основним лікувальним заходом, то

в тварин другої, третьої та четвертої груп операція була першим етапом лікування.

За виконання екстирпації пухлин передопераційну підготовку собак проводили за загальноприйнятою методикою. Анестезіологічне забезпечення здійснювали відповідно до важкості і тривалості операції, зокрема, тваринам застосовано комбінований наркоз: премедикація - атропіну сульфат (ПрАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця”, Україна) – 0,03 мг/кг (п/ш). Індукція загальної анестезії – тилетамін/золазепам (Virbac.S.A, Франція) 10–15 мг/кг (в/м), та після катеризації вени – пропофол (Propofol Lipuro: B. Braun, Німеччина) 8 мг/кг (в/в). Для підтримання наркозу – інгаляційна анестезія із застосуванням ізофлурану (Isoflurane, USP, Vetpharma, Іспанія) від 1 % до 5 %. Для місцевого знеболювання використовували 0,5 % розчин лідокаїну.

З метою превенції дегрануляції опастистих клітин та, відповідно, недопущення виникнення запалення й набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, а також з метою зменшення об'єму пухлин (в першу чергу нерезектабельних) було проведено неоад'ювантну глюкокортикоїдну терапію. За 10 днів до операції та в день її проведення застосовували внутрішньом'язово або під основу пухлини препарат Дексаметазон (для тварин), 2 мг/мл (Alfasan Diergeneesmiddelen BV, Нідерланди). В цілому неоад'ювантна терапія полягала у проведенні трьох ін'єкцій дексаметазону з інтервалом дві доби, в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини. Оцінювання терапевтичної ефективності неоад'ювантної терапії проводили за результатами фізикального обстеження та за зміною об'єму пухлини. Розміри кожної пухлини вимірювали штангенциркулем, а потім обчислювали об'єм, який визначали за формулою для еліпсоїдних фігур: $V = \frac{3}{4}\pi abc$,

де, a – радіус довжини, b – ширини і c – радіус висоти неоплазії.

Дотримуючись вимог абластики й антибластики ексцизії пухлин здійснювали в зоні здорових тканин із відступом 2–3 см навколо видимих меж неоплазії та захопленням у глибину однієї фасціальної площини нижче ураження. У разі бокового відступу менше 2 см екстирпацію вважали крайовим висіченням. Під час виконання операції строго уникали травмування пухлини. За ураження лімфатичних вузлів одночасно проводили лімфаденектомію. Після виконання операції, відповідно до дизайну досліджень, тваринам усіх груп, окрім першої, було застосовано медикаментозне лікування.

Собакам в другій групі після екстирпації пухлини, а в четвертій, відповідно, після операції та хіміотерапії, застосовували вітчизняний лікарський препарат імуностимулюючої дії – Анфлурон (для тварин) – водний розчин рекомбінантних α - γ -інтерферонів, аналогів людських α -2a і γ -інтерферонів, (ПрАТ “Укрзооветпромстач”). Препарат вводили внутрішньом'язово перші три дні у дозі 1млн (малим) і 2 млн МО/гол. (великим собакам), в подальшому застосовували підтримуючі дози ($\frac{1}{2}$ від ударних доз) упродовж трьох тижнів.

Ад'ювантну хіміотерапію (вінбластин, циклофосфамід, дексаметазон – VCD) у тварин третьої та четвертої груп розпочинали на 7–14 добу після загоєння післяопераційних ран та проводили відповідно до протоколу представленого в [табл. 1](#). В цілому у тварин обох дослідних груп було проведено 2 циклових курси системної хіміотерапії з інтервалом між циклами 21 день.

Вінбластин-Тева розчин для ін'єкцій (Фармахеми Б.В., Нідерланди) вводили собакам довенно шляхом болюсної ін'єкції через внутрішньовенний катетер (22 G), у дозі 2,0 мг/м² площі тіла один раз на тиждень упродовж 3 тижнів поспіль.

Циклофосфамід (препарат Ендоксан, Baxter Oncology GmbH Німеччина). Ендоксан 200 мг розчиняли 10 мл фізіологічного розчину, вводили внутрішньовенно (повільно) у дозі 250 мг/м² площі тіла,

трьохкратно один раз на 14 днів (курс розпочинали з п'ятого дня після ін'єкції вінбластину).

Дексаметазон (для тварин), 2 мг/мл (Alfasan Diergeneesmiddelen BV, Нідерланди) застосовували одночасно із використанням цитостатиків впродовж трьох тижнів ([табл. 1](#)). Внутрішньом'язеві ін'єкції дексаметазону розпочинали в перший день застосування хіміотерапії і повторювали через кожні дві доби протягом двох тижнів (5 ін'єкцій), в дозі 0,25–0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини, а впродовж третього тижня (2 ін'єкції) дозу препарату зменшували наполовину.

В цілому в тварин третьої та четвертої груп виконували два циклових курси ад'ювантної хіміотерапії за схемою вінбластин-циклофосфамід-дексаметазон (VCD). Інтервал між циклами становив 21 день, а повний курс хіміотерапії тривав 16 тижнів.

Таблиця 1

Протокол проведення післяопераційної хіміотерапії VCD та застосування препарату “Анфлурон”

Препарат	тиждень								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Вінкрисин	X 1 день	X 1 день	X 1 день						
Циклофосфан	X 5 день		X 5 день		X 5 день				
Дексаметазон	X 1 день і через кожні 2 доби	X	X						
Анфлурон					X 5,6,7 день	X 1-7 день	X 1-7 день	X 1-7 день	

Примітка: х – тижні проведення хіміотерапії; 1; 5; 1–7 – дні тижня, коли застосовували хіміотерапевтичні препарати

При поступленні у клініку, а також перед кожним курсом хіміотерапії проводили клінічне обстеження тварин та лабораторне дослідження крові.

Гематологічні дослідження включали визначення кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, величини гематокриту, гемоглобіну, виведення лейкограми. Із біохімічних показників у сироватці крові визначали вміст загального білка, альбуміну, білірубину, активність аспарагінової (АсАТ) та аланінової (АлАТ) амінотрансфераз, лужної фосфатази, вміст креатиніну, сечовини, глюкози, неорганічного фосфору та загального кальцію. Для визначення морфологічних і біохімічних показників крові використовували ветеринарний гематологічний аналізатор Heska Element HT5 та автоматичний біохімічний експрес-аналізатор FUJI DRI-CHEM NX500 (IRISMED).

З метою встановлення терапевтичної ефективності проведених заходів за дослідними тваринами під час лікування здійснювали щотижневий контроль, окрім цього впродовж двох років вели спостереження за станом життя тварин. Відповідно до результатів спостереження було встановлено загальну та безрецидивну виживаність собак, а також медіану тривалості життя тварин.

Показники виживаності собак з побудовою графіків розраховували за методом Каплана-Мейєра ([Holubova, 2021](#)). Загальну виживаність (час виживання) визначали як інтервал від дати проведення операції до дати смерті/евтаназії тварини внаслідок

неопластичної хвороби. Інтервал без захворювання визначався як час між датою встановлення діагнозу і датою локального або віддаленого розвитку МСТs або метастазування, залежно від того, що сталося раніше. Собаки, втрачені для подальшого спостереження чи вибули з контролю з невідомих причин, здорові собаки та собаки, які померли від причин, не пов'язаних із захворюванням опастистих клітин, були піддані цензурі, відповідно, під час смерті або під час їх останнього клінічного обстеження та включені для аналізу виживання. За побудованими графіками кривих Каплана-Мейєра визначали медіану виживаності – час, протягом якого 50 % тварин загинули, а 50 % ще залишалися живими.

Статистичну обробку цифрових даних проводили з використанням комп'ютерної програми MS Excel загально прийнятими методами варіаційної статистики. Визначали середньоарифметичне (М), статистичну помилку середньоарифметичного (m), вірогідність різниці між середнім арифметичним двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (Р). Різницю між двома величинами вважали вірогідною за $P < 0,05, 0,01$ і $0,001$.

При роботі з дослідними тваринами дотримано біоетичних вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” та Наказу МОН № 416/20729 від 16 березня

2012р. “Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах”. На проведення експерименту згоду отримано від усіх власників тварин.

Результати та їх обговорення

За період 2016–2024 рр. в клініку кафедри хірургії поступило 5277 собак із хірургічною патологією, в тому числі 848 тварин, що становить 16,21 % з онкологічними захворюваннями. В розрізі років превалентність захворювання собак на неоплазії знаходилася в межах 10,56-23,74 % (табл. 2).

Зростання кількості тварин з онкологічними захворюваннями в м. Львові та приміській зоні за 2022–2024 роки можна пояснити кількома причинами. Зокрема, за рахунок тенденційного збільшення на сього-

дні популяції собак в регіоні в цілому, а також з причини переміщення тварин із східних областей України в західні через війну та бойові дії на сході держави. Зрозуміло, що частина таких тварин були хворими на різні хвороби, в тому числі і на пухлини. Певну “лепту” у виникнення захворювання вносить сьогодинішній стан урбанізації та екології тварин. Парадоксальною повстає також нинішня ситуація із покращенням ветеринарного сервісу для дрібних домашніх тварин, адже обладнання ветеринарних клінік новітньою та сучасною апаратурою суттєво покращує діагностичні та терапевтичні можливості в забезпеченні здоров’я собак, що, відповідно, призводить до збільшення тривалості життя. Водночас зростання чисельності тварин похилого віку створює групу ризику онкологічних захворювань, адже відомо, що тварини старшої вікової категорії є найбільш схильними до неоплазій.

Таблиця 2

Превалентність онкологічних захворювань собак у розрізі 2016–2024 рр.

	Показники	Обстежено собак із хірургічною патологією	Виявлено онкологічно хворих	
			Кількість голів	%
Роки	2016	492	52	10,56
	2017	529	79	14,93
	2018	581	86	14,8
	2019	671	96	14,3
	2020	632	85	13,44
	2021	596	91	15,26
	2022	705	121	17,16
	2023	612	129	21,7
	2024	459	109	23,74
	Всього	5277	848	16,21

Як показав аналіз захворюваності собак за період досліджень в структурі онкологічних хвороб найбільшу частку становили неоплазії молочної залози 36,7 % та пухлини шкіри 33,6 %. Новоутворення органів репродуктивної системи та внутрішніх органів були діагностовані, відповідно у 12,3 та 8,5 % собак. У 5,8 % випадків новоутворення локалізувалися в ділянці голови та шиї. Неопластичні ураження кровотворної та лімфоїдної тканин становили 2,4 %, а пухлин кісток і суглобів 0,8 %. У 16,7 % досліджуваних собак встановлено симультантне ураження неоплазіями різного генезу та нозологічних форм.

Під час обстеження тварин з’ясовано породну, статеву та вікову структури захворюваності, зокрема поміж 848 онкологічно хворих собак, 23,2 % були безпородними та метисами і 76,8 % – породистими (всього охоплено понад 40 порід); пси становили 47,3 %, самки – 52,7 %. За віком тварини були від 4 місяців до 16 років, проте найбільшу кількість пухлинних уражень діагностовано в собак віком 7-12 років, при цьому медіана захворюваності становила 8,5, а мода (найбільша кількість хворих тварин) – 9,5 років.

Зважаючи, що поміж усіх верифікованих неоплазій найбільш різноманітними за клінічним проявом були пухлини шкіри та підшкірної клітковини, нами проведено аналіз їхньої нозологічної структури. Так, за обстеження 285 собак з новоутвореннями шкіри у 155 або 54,4 % тварин гістологічно верифіковано

доброякісні пухлини і в 130 або 45,61 % випадках – злоякісні. Доброякісні пухлини були представлені, здебільшого, папіломою – 64 (22,45 %) випадки, рідше ліпомою – 37 (12,98 %), дерматофібромою – 29 (10,18 %) трихоепітеліомою – 15 (5,26 %). У 10 (3,5 %) випадках траплялися поодинокі пухлинні ураження (гемангіома, гістіоцитоз, гепатоцелюлярна аденома, атерома, дермоїд та ін.). Злоякісні новоутворення розподілені таким чином: мастоцитоз – 49 (17,2 %), плоскоклітинний рак – 27 (9,47 %), меланома – 12 (4,21 %), Т-клітинна лімфома шкіри – 11 (3,86 %), базаліома – 11 (3,86 %), аденокарцинома – 9 (3,16 %), веретеноклітинна саркома – 4 (1,40 %), фібросаркома – 4 (1,40 %), аденокарцинома – 3 (1,05 %). Слід зауважити, що встановлені нами результати щодо поширення неоплазій в собак та їх нозологічна структура є досить схожими з даними повідомлень зарубіжних дослідників (Brønden et al., 2007; Grüntzig et al., 2015; Machado et al., 2018; Pinello et al., 2020; Dhein et al., 2024), що свідчить про єдино спільні проблеми, які потребують консенсусного вирішення. Це торкається передусім пухлин шкіри в собак і зокрема МСТs, які трапляються в щоденній практиці лікарів ветеринарної медицини досить часто, проте залишаються на сьогодні недостатньо вивченими (de Nardi et al., 2022).

Беручи до уваги актуальність вище згаданої проблеми впродовж 2016–2024 років наші наукові дослідження були акцентовані на вивчення питань захво-

рювання собак на мастоцитому шкіри в умовах географічної популяції України. При цьому проведено також дослідження щодо клініко-експериментального обґрунтування комплексного лікування собак за MCTs, встановлення його терапевтичної ефективності та виживаємості тварин.

За результатами первинного обстеження на момент надходження в клініку мастоцитому шкіри встановлено у 49 собак, що становить 17,2 % від загальної кількості онкологічно хворих тварин з неоплазіями шкіри. 26 псів і 23 сук, були різних порід, віком від 4 до 16 років, некастровані. У 44 (89,8 %) досліджуваних собак неоплазії діагностовано як поодинокі і в 5 (10,2 %) випадках - множинні ураження. Розміри пухлин коливалися величиною від 0,5 см у діаметрі до 8,6 см і лише в однієї собаки пухлина мала гігантські розміри 10,2×11,0 см. Найбільш частим місцем ураження MCTs були: тулуб (46,9 %), кінцівки (40,8 %), рідше голова, шия, пахвинна та перианальна ділянки (12,3 %).

У розрізі породною приналежності найбільшою кількістю були представлені собаки породи стафордширський тер'єр, шарпей та ротвейлер по 5 випадків MCTs, по 4 випадки - французький бульдог, чау-чау, лабрадор. Серед собак породи кокер спанієль, англійський бульдог, боксер, німецька вівчарка та безпородних собак встановлено по 3 випадки, а таких як кане-корсо, доберман та мопс по 2 випадки захворювання. Лише один випадок MCTs був зареєстрований у середньоазіатської вівчарки (алабая).

Згідно аналізу структури захворювання собак на MCTs у віковому аспекті кількість тварин розподілялася наступним чином: віком 4 роки – 1 випадок (2,04 %); відповідно 5–6 років – 4 (8,16 %); 7–8 років – 9 (18,37 %); 9–10 – 20 (40,82 %); 11–12 – 9 (18,37 %); 13–14 – 3 (6,12 %); старші 15 років – 3 (6,12 %). При цьому найвищі показники захворюваності встановлено поміж тварин віком від 7 до 11 років, медіана захворюваності становила 9,5 роки, а мода (найбільша кількість хворих тварин) припадала на вік 9–10 років.

За первинного обстеження тварин, відповідно критеріїв клінічної TNM класифікації пухлин в 10 собак (20,5 %) встановлено I стадію розвитку пухлинного процесу (T1aN0M0, T1aN1aM0), у 13 (26,53 %) тварин – II (T2aN0M0, T2aN1aM0), у 25 (51,02 %) – III (T2aN16M0, T26N16M0, T3aN0M0, T3aN16M0, T36N1aM0) і в 1 (2,04 %) тварини – IV стадію (T36, в N16M1). Згідно критеріїв двохступеневої гістологічної класифікації мастоцитом шкіри (Kiupel) у 33 (67,3 %) собак неоплазії верифіковано як низькозлоякісні і у 16 (32,7 %) - високозлоякісні. За результатом порівняльного аналізу показників клінічної та гістологічної класифікації встановлено кореляційний зв'язок між збільшенням величини (T) пухлини, класифікованої згідно TNM, та зростанням випадків виявлення пухлин, які мають високий ступінь злоякісності. Встановлено також, що в період проведення діагностично-лікувальних заходів в 3 тварин (6,12 %) відбувся стрімкий розвиток пухлинного процесу, що стало причиною зміни клінічної стадії MCTs з другої на третю, та, відповідно, корекції тактики лікування. Про можливі варіабельності у патогенезі MCTs свід-

чать повідомлення (Ivashkiv et al., 2020; Mysak & Ivashkiv, 2021). За результатами досліджень 24 випадків мастоцитом шкіри з'ясовано, що у 10 (41,7 %) досліджуваних тварин швидкість розвитку неоплазій була надзвичайно стрімкою, оскільки за $56,5 \pm 1,91$ діб пухлини подвоїли свою величину. Тобто впродовж 6–8 тижнів з невеликих вузликів чи ущільнень формувалися пухлини діаметром 5 см і навіть більше, що є свідченням значної агресивності пухлинного росту. Досить швидким був ріст неоплазій у 7 (29,2 %) собак, в яких час подвоєння величини первинної пухлини сягав, в середньому, чотири місяці ($122,1 \pm 10,6$ доби). Водночас в 5 (20,8 %) собак період розвитку пухлин тривав впродовж двох років.

Слід відмітити, що для більшості мастоцитом, на відміну від інших солідних пухлин, характерним є збільшення їх величини (об'єму) спровоковане, зазвичай, епізодичним виникненням запалення та набряку як у самій пухлині, так і в навколишніх тканинах, що пов'язано з синдромом активації й дегрануляції мастоцитів та вивільненням біологічно активних речовин.

Результати гематологічних досліджень показали, що найбільш суттєві зміни встановлено у собак уражених високо злоякісною MCTs, зокрема у 62,5 % таких тварин встановлено анемію (еритроцити $5,38 \pm 0,20$ Т/л, гемоглобін, г/л $112,7 \pm 4,49$; $P < 0,05$), зниження вмісту загального білка ($60,7 \pm 1,95$ г/л) та альбуміну ($23,9 \pm 1,13$ г/л), підвищений рівень активності аспарагінової (АсАТ) та аланінової (АлАТ) амінотрансфераз ($1,62 \pm 0,08$ та $1,90 \pm 0,10$ ммоль/(л*год). Лейкоцитоз із значним підвищенням кількості паличкоядерних нейтрофілів ($16,1 \pm 0,42$; $P < 0,001$) був діагностований у 62,5 % собак, у 43,7 % тварин відмічена тромбоцитопенія ($301,8 \pm 24,9$; $P < 0,001$) та моноцитоз і в 37,5 % випадків еозинофілія ($7,8 \pm 0,18$; $P < 0,001$). Водночас, у 69,7 % собак з низько злоякісними MCTs гематологічні показники знаходилися в межах фізіологічної норми і лише в окремих тварин було встановлено анемію, незначно підвищену активність АсАТ й АлАТ та зміни морфологічних показників крові, що вказували на наявність запального процесу.

Відомо, що в клінічній онкологічній практиці нерідко з метою зменшення запалення та перитуморального набряку, а також покращення резектабельності пухлин застосовують глюкокортикоїди, найчастіше преднізолон (Welle et al., 2008; Stanclift & Gilson, 2008; Matsuda et al., 2011; Linde et al., 2021; de Nardi et al., 2022). Як показали результати досліджень позитивний результат був отриманий нами і за неoad'ювантної терапії дексаметазоном, який застосовували за 10 днів до операції (три ін'єкції з інтервалом дві доби в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини). Встановлено, що до лікування у собак з I стадією розвитку пухлинного процесу об'єм пухлин становив, в середньому, $2,92 \text{ см}^3$ (Lim. $0,3\text{--}9,05 \text{ см}^3$), в тварин з II клінічною стадією – $43,4$ (Lim. $28,3\text{--}58,5 \text{ см}^3$) і III – $68,9 \text{ см}^3$ (Lim. $54,9\text{--}105,5 \text{ см}^3$), в однієї собаки пухлина була гігантських розмірів - об'ємом 277 см^3 . Після проведення курсу неoad'ювантної терапії поміж тварин з I клінічною стадією об'єм пухлин зменшився в середньому на 19,2 % і становив $2,36 \text{ см}^3$, у собак з II і

III стадіями, відповідно, на 25,8 % ($32,2 \text{ см}^3$) і 25,5 % ($51,3 \text{ см}^3$). В цілому загальна відповідь на застосування неoad'ювантної терапії проявилася у 38 або 77,5 % собак зменшенням величини пухлин, у 2 (4,1 %) їх збільшенням і у 9 (18,4 %) тварин розмір пухлин не змінився. Позитивним результатом передопераційного застосування дексаметазону можна вважати покращення резектабельності новоутворень, що дозволило в 77,5 % собак провести екстирпацію пухлин в межах широкого хірургічного поля (з крайовим відступом більше 2 см). У 6 (12,2 %) тварин, в чотирьох з яких мастоцитоми локалізувалися в ділянці кінцівок, було проведено крайове (відступ менше 2 см) висічення пухлин із досягненням чистих країв екстирпації, що підтверджено цитологічним дослідженням. Водночас у 5 (10,2 %) собак чистих країв за виконання краєвої екстирпації мастоцитом не досягнуто з причини анатомічно незручної локалізації пухлини й обмеженого об'єму навколишніх тканин в зоні операційного поля та, відповідно, неможливого дотримання у даній ділянці принципів абластики.

Особливо важливу роль відіграла неoad'ювантна терапія для покращення резектабельності новоутворень у 6 (12,2 %) собак в яких одночасно із екстирпацією мастоцитоми була проведена лімфаденектомія збільшених регіонарних лімфатичних вузлів. Незважаючи на те, що дана операція є досить травматичною, призводить до значної втрати тканин і великого дефекту рани та нерідко потребує проведення вмілої реконструкції та пластики рани, проведення її оправдано прогностичним значенням, а саме зниженням ймовірності виникнення локального рецидиву та розвитку в подальшому віддалених метастазів. За повідомленням низки дослідників (Blackwood et al., 2012; Ferrari et al., 2018; Sabattini et al., 2021) регіонарні лімфатичні вузли є місцем нагромадження опасистих клітин, однак не завжди вдається диференціювати чи є вони реактивними чи неопластичними. Тому проведення лімфаденектомії у випадках виявлення збільшених регіонарних лімфатичних вузлів за MCTs шкіри є обов'язковою умовою комплексного лікування.

Аналіз проведення хірургічного етапу лікування собак з мастоцитомою шкіри показав, що позитивний терапевтичний ефект отриманий від застосування неoad'ювантної терапії дозволив у понад 77 % дослідних тварин зменшити зону хірургічних меж і, відповідно, травматичність операції та виконати екстирпацію новоутворень з мінімальною можливою втратою тканин. За результатами клінічного спостереження впродовж післяопераційного періоду загальний стан прооперованих собак був задовільний та відповідав характеру радикальності та травматичності оперативного втручання. Очікуваного загострення запального процесу в післяопераційний період, спровокованого дегрануляцією опасистих клітин під час операції, не встановлено. У собак першої ($n = 16$) та другої ($n = 17$) груп площа післяопераційних ран після екстирпації пухлин була в межах від $6,25 \text{ см}^2$ до $56,0 \text{ см}^2$. Процес загоєння ран в даних тварин відбувся, в основному, за первинним натягом, за винятком 4 собак, у яких відмічено часткове розходження країв рани в ділянці кінцівок. Шви у тварин даних груп були зняті

на 8–12 добу післяопераційного періоду. У тварин третьої ($n = 8$) та четвертої ($n = 8$) груп екстирпацію мастоцитом проведено з значним висіченням навколишніх тканин, при цьому площа ран після операції становила $27,5\text{--}132 \text{ см}^2$. Під час післяопераційного періоду в шести собак, у трьох в третій та трьох в четвертій групі, встановлено утворення сером, які було ліквідовано шляхом прицільної аспірації під контролем УЗД або дренивання ран. У цих же тварин відбулося також часткове розходження країв рани, що виникло в ділянках надмірного натягу тканин по лінії шва. З причин виникнення ускладнень при загоєнні ран в 37,5 % собак шви були зняті на 17–19 добу, в решти тварин на 10–12 добу.

Відповідно до дизайну дослідження та протоколу комплексного лікування у собак другої групи курс ад'ювантного застосування анфлуруну було проведено відразу ж після оперативного видалення пухлин. Водночас у тварин третьої та четвертої груп після операції, починаючи з 12–14 доби, виконували ад'ювантну хіміотерапію за схемою вінбластин-циклофосфамід-дексаметазон (VCD), а після її завершення застосовували анфлурун. Під час застосування цитостатичних препаратів та імунотерапії регулярно здійснювали фізикальне обстеження собак та дослідження морфологічних показників крові. За результатами досліджень встановлено, що часові інтервали між застосуванням цитостатиків були достатніми для відновлення показників крові до фізіологічної норми і лише на завершальному етапі виконання хіміотерапії гематологічні показники зазнали певних депресивних змін. Проте це не створювало перешкод для виконання імунотерапії, оскільки загальний клінічний стан тварин, встановлений на підставі даних фізикального обстеження, можна було вважати як задовільний. Перед застосуванням анфлуруну кількість еритроцитів в крові собак другої групи становила $5,87 \pm 0,38 \text{ Т/л}$, четвертої – $4,32 \pm 0,25 \text{ Т/л}$, відповідно, лейкоцитів $8,3 \pm 0,67$ і $6,3 \pm 0,22 \text{ Г/л}$, тромбоцитів $326,0 \pm 17,8$ і $274,2 \pm 15,8 \text{ Г/л}$, рівень гемоглобіну $128,7 \pm 3,52$ та $97,1 \pm 3,15 \text{ г/л}$.

За результатами застосування інтерферонотерапії в крові тварин другої та четвертої груп встановлено незначне зменшення кількості лейкоцитів ($7,8 \pm 0,42$ та $6,0 \pm 0,22 \text{ Г/л}$) за рахунок зменшення частки сегментоядерних нейтрофілів, еозинофілів. При цьому відмічено збільшення в межах референтних показників відносної кількості моноцитів та лімфоцитів, в тому числі великих гранульованих лімфоцитів ($P < 0,05$). Встановлено також зростання кількості еритроцитів ($6,2 \pm 0,29$; $5,29 \pm 0,20 \text{ Т/л}$), тромбоцитів ($326,5 \pm 11,2$; $318,2 \pm 17,8 \text{ Г/л}$) та підвищення рівня гемоглобіну ($136,5 \pm 25,4$; $112,5 \pm 8,15 \text{ г/л}$).

Аналізуючи отримані результати клініко-експериментальних досліджень різних способів лікування собак із MCTs, які були застосовані адекватно характеру пухлин, можна стверджувати про позитивну терапевтичну ефективність кожного із них. Однак, найбільш показовим критерієм, що використовується за оцінювання ефективності лікування онкологічно хворих собак, є показник загальної виживаності, меді-

ана загальної виживаності, а також безрецидивна виживаність тварин та якість життя.

За результатами клінічних досліджень та спостережень, які були проведені нами впродовж двох років, встановлено (табл. 3), що загальна виживаність тва-

рин упродовж першого року становила в першій та другій групах 100 %, у третій – 50,0 % та у четвертій – 62,5 % і за два роки, відповідно, в першій - 62,5, другій - 70,6 %, третій - 12,5 і четвертій – 25 %.

Таблиця 3

Порівняльна характеристика терапевтичної ефективності різних методів лікування собак за мастоцитоми шкіри

Результати спостережень	Група тварин							
	I		II		III		IV	
	(n = 16)		(n = 17)		(n = 8)		(n = 8)	
	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%	к-ть	%
Загинули протягом першого року після операції	-	-	-	-	4	50,0	3	37,5
– в т. ч. впродовж 1-6 міс	-	-	-	-	3	37,5	1	12,5
7-12 міс	-	-	-	-	1	12,5	2	25,0
виявлено метастази/ рецидиви *								
1 – 6 міс	-	-	-	-	2	25,0	1	12,5
7 –12 міс	-	-	-	-	1	12,5	1	12,5
Залишилися під контролем на кінець першого року	16	100	17	100	4	50,0	5	62,5
Загинули протягом другого року після операції	4	25,0	3	17,64	2	25,0	2	25,0
в т. ч. впродовж 13 –18 міс	2	12,5	1	5,88	2	25,0	-	-
19–24 міс	2	12,5	2	11,76	-	-	2	25,0
Виявлено метастази / рецидиви *								
13–18 міс	1	6,25	-	-	1	12,5	-	-
19–24 міс	1	6,25	1	5,88	-	-	-	-
– вибули з під контролю	2	12,5	2	11,76	1	12,5	1	12,5
Загинуло всього тварин за два роки спостережень	4	25,0	3	17,64	6	75	5	62,5
Залишилися під контролем після двох років спостереження	10	62,5	12	70,56	1	12,5	2	25
виявлено метастази/рецидиви *	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: * – відсоток від кількості тварин, що знаходилися під контролем

Передусім потрібно зауважити, що поряд із 100 % виживаністю впродовж першого року спостережень поміж собак першої та другої груп нами не зареєстровано жодного випадку прояву хвороби (післяопераційного рецидиву чи метастазів). Такі результати досліджень узгоджуються з повідомленнями низки дослідників (Fulcher et al., 2006; Schultheiss et al., 2011; Oliveira et al., 2020; Chu et al., 2020), які стверджують, що у випадках гістологічного підтвердження низької злоякісності за мастоцитом I та II клінічної стадії достатньо провести екстирпацію неоплазії з подальшим широким хірургічним меж і немає необхідності в подальшому лікуванні тварин. Однак, враховуючи, що більшість пухлин опасистих клітин можуть мати мінливу і непередбачувану біологічну поведінку, собакам другої дослідної групи, після хірургічного видалення неоплазії нами було застосовано імунотерапію. Як засвідчили результати досліджень у даній групі виникнення рецидиву захворювання встановлено в однієї тварини (5,88 %), загинуло за два роки спостережень три тварини (17,64 %) і виживаність становила 70,6 %. Водночас серед собак першої групи впродовж другого року спостережень метастази у регіонарні лімфатичні вузли виявлено у 2 (12,5 %) тварин, загинуло 4 (25 %), виживаність становила 62,5 %.

Як показав аналіз результатів наших спостережень найбільш агресивний розвиток пухлин опасистих клітин можна було спостерігати поміж собак третьої

та четвертої групи. Адже встановлено, що безрецидивний період перебігу хвороби в тварин з високозлоякісними мастоцитомами тривав в середньому два місяці. Перші летальні випадки спричинені швидким ростом мастоцитом було констатовано через два місяці після операції в четвертій групі та через три місяці у третій групі. У першому випадку загинула собака з четвертою стадією, а в другому з третьою стадією MCTs. В цілому, впродовж двохрічного спостереження, в третій групі встановлено місцевий рецидив в однієї собаки (12,5 %) і метастази в лімфатичні вузли у трьох тварин (37,5 %), у цей же час в двох (25 %) тварин четвертої групи мав місце лише місцевий рецидив пухлини. За повідомленнями літератури маніфестація метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах вважається одним з основних несприятливих чинників для багатьох злоякісних пухлин, у тому числі й мастоцитоми шкіри.

Як показали результати наших спостережень за два роки загинуло в третій групі 6 тварин (75 %) і виживаність становила 12,5 %, водночас серед собак четвертої групи загинуло 5 (25 %) тварин, виживаність становила 25 %.

Слід відмітити, що впродовж другого року спостережень вибули з під контролю дві собаки з I групи, що становить (12,5 %), дві тварини з II групи (11,76 %) та по одній з III та IV груп (12,5 %). Однак наявну інформацію про дані тварини було цензуро-

вано, а їхні показники долучені до статистичних обчислень.

З метою встановлення медіани виживаності дослідних тварин проводили також побудову графіків Каплана-Майєра (рис. 1).

Як показав аналіз кривих Каплана-Майєра подовжений період загальної виживаності серед собак першої та другої груп не дозволив встановити медіани виживаності, оскільки впродовж двохрічного спостереження більшість тварин залишалися живими, а показник летальності серед них не досягнув межі 50 %. При цьому тривалою була безрецидивна вижи-

ваність, адже впродовж першого року спостереження у жодної із тварин даних груп не встановлено прояву хвороби, випадків місцевого рецидиву чи метастазування у лімфатичні вузли. Важливо відмітити, що в 62,5 % собак із мастоцитомами низької злоякісності, яким проведено хірургічне видалення неоплазій (перша група), а також в 70,56 % тварин, яким після ексципації пухлин було застосовано імунотерапію (друга група) після двохрічного спостереження не виявлено місцевого рецидиву та метастазування МСТs, що може свідчити про стійку ремісію та видужання.

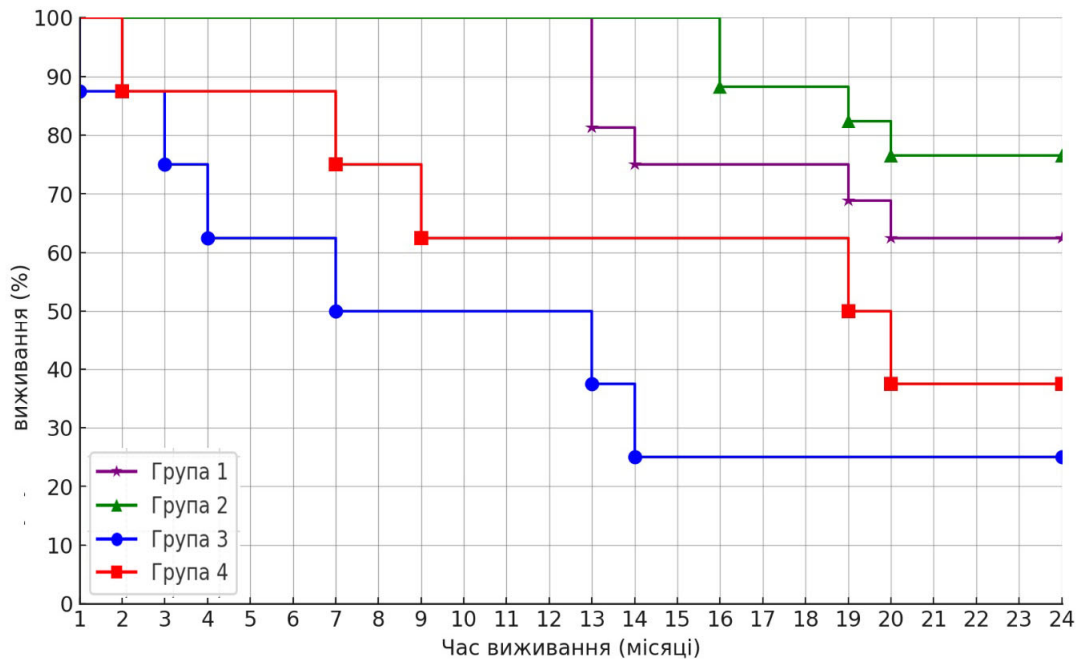


Рис. 1. Криві Каплана-Масера, що відображають виживаність собак з мастоцитомою шкіри за різних методів лікування

Водночас встановлено, що медіана тривалості життя поміж собак із високозлоякісними мастоцитами в третій групі становила 7 місяців і була вірогідно коротшою порівняно показником 19 місяців ($p < 0,05$), встановленим в тварин четвертої групи, яким було застосовано анфлурон (рекомбінантні α - і γ -інтерферони). Безрецидивна виживаність в обидвох групах була надзвичайно короткою і становила в середньому 2 місяці. По завершенні дворічного спостереження стійку ремісію встановлено у 12,5 % собак третьої та 25 % тварин четвертої групи.

Таким чином можна відмітити, що мультимодальний підхід до лікування собак з МСТs, який включає комбінацію хірургічного втручання, хіміотерапії та імунотерапії, адаптованої до профілю кожного пацієнта, може підвищити показники виживання та якості життя тварин. Результати дослідження засвідчили також, що анфлурон, як імуномодулятор загальної дії є цінним під час лікування багатьох патологій, де необхідна дієва активація клітинного й гуморального імунітету, в тому числі за імунодефіцитних та імуносупресивних станів, спричинених онкологічними захворюваннями та негативним впливом хіміотерапії.

Висновки

1. Серед собак, що надійшли в клініку з хірургічними захворюваннями частка неоплазій займає у середньому 16,21 % (10,56–23,74 %, у розрізі 2016–2024 років спостережень). Серед онкологічних захворювань найбільш часто реєстрували неоплазії молочної залози - 36,7 % та пухлини шкіри - 33,6 %, рідше – новоутворення органів репродуктивної системи, внутрішніх органів та пухлини в ділянці голови і шиї – 12,3, 8,5 та 5,8 %. Для неопластичних уражень кровотворної і лімфоїдної тканини та пухлин кісток і суглобів характерними були спорадичні випадки – 2,4 і 0,8 % відповідно.

2. Мастоцитому шкіри діагностовано у 49 собак, що становить 17,2 % від загальної кількості онкологічно хворих тварин з неоплазіями шкіри. Тварини були різних порід і статі (26 псів і 23 суки), віком від 4 до 16 років, зокрема, віком 4 роки – 1 випадок (2,04 %); відповідно 5– 6 років – 4 (8,16 %); 7–8 років – 9 (18,37 %); 9–10 – 20 (40,82 %); 11–12 – 9 (18,37 %); 13–14 – 3 (6,12 %); старші 15 років – 3 (6,12 %). Медіана захворюваності становила 9,5 роки, а мода припадала на вік 9–10 років.

3. За первинного обстеження собак, відповідно до клінічної TNM класифікації пухлин, в 10 собак (20,5 %) встановлено I стадію розвитку пухлинного процесу, у 13 (26,53 %) тварин – II, у 25 (51,02 %) – III і в 1 (2,04 %) тварини – IV стадію. За критеріями двохступеневої гістологічної класифікації мастоцитом шкіри (Kiupel) у 33 (67,3 %) собак неоплазії верифіковано як низько злоякісні і у 16 (32,7%) – високозлоякісні.

4. За застосування собакам з мастоцитомою шкіри дексаметазону, шляхом неoad'ювантної терапії (за 10 днів до операції, три ін'єкції з інтервалом дві доби в дозі 0,5 мл на 5 кг маси тіла тварини), встановлено зменшення величини пухлин на 19,2–25,8 % у 77,5 % собак, що дозволило провести у них екстирпацію пухлин в межах широкого хірургічного поля (з крайовим відступом >2 см), у 18,4 % тварин розмір пухлин не змінився і у 4,1 % відмічено незначне збільшення неоплазії.

5. Мультимодальний підхід у лікуванні собак з MCTs, який включає комбінацію хірургічного втручання, ад'ювантної хіміотерапії (за схемою вінбластин, циклофосфамід, дексаметазон - VCD) та імунотерапії (препарату імуностимулюючої дії – анфлуруну (рекомбінантних α - γ -інтерферонів, аналогів людських α -2a і γ -інтерферонів), може підвищити показники виживання та якості життя тварин.

Перспективою подальших досліджень є деталізоване вивчення механізмів впливу анфлуруну (рекомбінантних α - γ -інтерферонів, аналогів людських α -2a і γ -інтерферонів) за пухлин опасистих клітин.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

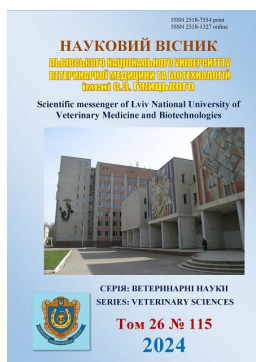
- Anderson, K., Pellin, M., Snyder, E., & Clarke, D. (2024). Tumor Grade and Mitotic Count Are Prognostic for Dogs with Cutaneous Mast Cell Tumors Treated with Surgery and Adjuvant or Neoadjuvant Vinblastine Chemotherapy. *Veterinary sciences*, 11(8), 363. DOI: 10.3390/vetsci11080363.
- Baran, J., Sobiepanek, A., Mazurkiewicz-Pisarek, A., Rogalska, M., Gryciuk, A., Kuryk, L., Abraham, S. N., & Staniszewska, M. (2023). Mast Cells as a Target-A Comprehensive Review of Recent Therapeutic Approaches. *Cells*, 12(8), 1187. DOI: 10.3390/cells12081187.
- Bavcar, S., de Vos, J., Kessler, M., de Fornel, P., Buracco, P., Murphy, S., Hirschberger, J., & Argyle, D. J. (2017). Combination toceranib and lomustine shows frequent high grade toxicities when used for treatment of non-resectable or recurrent mast cell tumours in dogs: A European multicentre study. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 224, 1–6. DOI: 10.1016/j.tvjl.2017.04.010.
- Bellamy, E., & Berlato, D. (2022). Canine cutaneous and subcutaneous mast cell tumours: a narrative review. *The Journal of small animal practice*, 63(7), 497–511. DOI: 10.1111/jsap.13444.
- Berlato, D., Murphy, S., Monti, P., Stewart, J., Newton, J. R., Flindall, A., & Maglennon, G. A. (2015). Comparison of mitotic index and Ki67 index in the prognostication of canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 13(2), 143–150. DOI: 10.1111/vco.12029.
- Bjerrum, O. W. (2011). Interferon- α treatment in systemic mastocytosis. *Current drug targets*, 12(3), 433–436. DOI: 10.2174/138945011794815293.
- Blackwood, L., Murphy, S., Buracco, P., De Vos, J. P., De Fornel-Thibaud, P., Hirschberger, J., Kessler, M., Pastor, J., Ponce, F., Savary-Bataille, K., & Argyle, D. J. (2012). European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and comparative oncology*, 10(3), e1–e29. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x.
- Boyle, G. M., D'Souza, M. M., Pierce, C. J., Adams, R. A., Cantor, A. S., Johns, J. P., Maslovskaya, L., Gordon, V. A., Reddell, P. W., & Parsons, P. G. (2014). Intraleisional injection of the novel PKC activator EBC-46 rapidly ablates tumors in mouse models. *PloS one*, 9(10), e108887. DOI: 10.1371/journal.pone.0108887.
- Brønden, L. B., Flagstad, A., & Kristensen, A. T. (2007). Veterinary cancer registries in companion animal cancer: a review. *Veterinary and comparative oncology*, 5(3), 133–144. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2007.00126.x.
- Brown, G. K., Finlay, J. R., Straw, R. C., Ziea, J. Y., Leung, B., O'Connell, K., Thomson, M. J., Campbell, J. E., Jones, P. D., & Reddell, P. (2022). Treatment of multiple synchronous canine mast cell tumours using intratumoural tigilanol tiglate. *Frontiers in veterinary science*, 9, 1003165. DOI: 10.3389/fvets.2022.1003165.
- Camus, M. S., Priest, H. L., Koehler, J. W., Driskell, E. A., Rakich, P. M., Ilha, M. R., & Krimer, P. M. (2016). Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs With Evaluation of Clinical Outcome. *Veterinary pathology*, 53(6), 1117–1123. DOI: 10.1177/0300985816638721.
- Chu, M. L., Hayes, G. M., Henry, J. G., & Oblak, M. L. (2020). Comparison of lateral surgical margins of up to two centimeters with margins of three centimeters for achieving tumor-free histologic margins following excision of grade I or II cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 256(5), 567–572. DOI: 10.2460/javma.256.5.567.
- Coelho, Y. N. B., Soldi, L. R., da Silva, P. H. R., Mesquita, C. M., Paranhos, L. R., Dos Santos, T. R., & Silva, M. J. B. (2023). Tyrosine kinase inhibitors as an alternative treatment in canine mast cell tumor. *Frontiers in veterinary science*, 10, 1188795. DOI: 10.3389/fvets.2023.1188795.
- de Nardi, A. B., Dos Santos Horta, R., Fonseca-Alves, C. E., de Paiva, F. N., Linhares, L. C. M., Firmo, B. F., Ruiz Sueiro, F. A., de Oliveira, K. D., Lourenço, S. V., De Francisco Strefezzi, R., Brunner, C. H. M., Rangel, M. M. M., Jark, P. C., Castro, J. L. C., Ubukata, R., Batschinski, K., Sobral, R. A., da Cruz, N. O., Nishiya, A. T., Fernandes, S. C., ... Dagli, M. L. Z. (2022). Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. *Cells*, 11(4), 618. DOI: 10.3390/cells11040618.

- De Ridder, T. R., Campbell, J. E., Burke-Schwarz, C., Clegg, D., Elliot, E. L., Geller, S., Kozak, W., Pittenger, S. T., Pruitt, J. B., Riehl, J., White, J., Wiest, M. L., Johannes, C. M., Morton, J., Jones, P. D., Schmidt, P. F., Gordon, V., & Reddell, P. (2021). Randomized controlled clinical study evaluating the efficacy and safety of intratumoral treatment of canine mast cell tumors with tigilanol tiglate (EBC-46). *Journal of veterinary internal medicine*, 35(1), 415–429. DOI: 10.1111/jvim.15806.
- Dhein, E. S., Heikkilä, U., Oevermann, A., Blatter, S., Meier, D., Hartnack, S., & Guscelli, F. (2024). Incidence rates of the most common canine tumors based on data from the Swiss Canine Cancer Registry (2008 to 2020). *PloS one*, 19(4), e0302231. DOI: 10.1371/journal.pone.0302231.
- Dom Barfield. RVC Clinical Podcast 132 Canine Cutaneous Mast Cell Tumour with Andy Yale. Published on May 6 2022. URL: <https://www.rvc.ac.uk/veterinary-services/podcasts/132-canine-cutaneous-mast-cell-tumour>.
- Donnelly, L., Mullin, C., Balko, J., Goldschmidt, M., Krick, E., Hume, C., Brown, D. C., & Sorenmo, K. (2015). Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 13(1), 70–76. DOI: 10.1111/vco.12021.
- Ferrari, R., Marconato, L., Buracco, P., Boracchi, P., Giudice, C., Iussich, S., Grieco, V., Chiti, L. E., Favretto, E., & Stefanello, D. (2018). The impact of extirpation of non-palpable/normal-sized regional lymph nodes on staging of canine cutaneous mast cell tumours: A multicentric retrospective study. *Veterinary and comparative oncology*, 16(4), 505–510. DOI: 10.1111/vco.12408.
- Fonseca-Alves, C. E., Bento, D. D., Torres-Neto, R., Werner, J., Kitchell, B., & Laufer-Amorim, R. (2015). Ki67/KIT double immunohistochemical staining in cutaneous mast cell tumors from Boxer dogs. *Research in veterinary science*, 102, 122–126. DOI: 10.1016/j.rvsc.2015.08.007.
- Freytag, J. O., Queiroz, M. R., Govoni, V. M., Pereira, I. V. A., Pulz, L. H., de Francisco Strefezzi, R., Queiroga, F. L., & Cogliati, B. (2021). Prognostic value of immunohistochemical markers in canine cutaneous mast cell tumours: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary and comparative oncology*, 19(3), 529–540. DOI: 10.1111/vco.12692.
- Fulcher, R. P., Ludwig, L. L., Bergman, P. J., Newman, S. J., Simpson, A. M., & Patnaik, A. K. (2006). Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(2), 210–215. DOI: 10.2460/javma.228.2.210.
- Garrett, L. D. (2014). Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment, and prognosis. *Veterinary medicine (Auckland, N.Z.)*, 5, 49–58. DOI: 10.2147/VMRR.S41005.
- Graf, R., Pospischil, A., Guscelli, F., Meier, D., Welle, M., & Dettwiler, M. (2018). Cutaneous Tumors in Swiss Dogs: Retrospective Data From the Swiss Canine Cancer Registry, 2008–2013. *Veterinary pathology*, 55(6), 809–820. DOI: 10.1177/0300985818789466.
- Grüntzig, K., Graf, R., Hässig, M., Welle, M., Meier, D., Lott, G., Erni, D., Schenker, N. S., Guscelli, F., Boo, G., Axhausen, K., Fabrikant, S., Folkers, G., & Pospischil, A. (2015). The Swiss Canine Cancer Registry: a retrospective study on the occurrence of tumours in dogs in Switzerland from 1955 to 2008. *Journal of comparative pathology*, 152(2-3), 161–171. DOI: 10.1016/j.jcpa.2015.02.005.
- Holubova, H. (2021). Kaplan-Meier Survival Curves: Simulation Technique. *Scientific Bulletin of the National Academy of Statistics, Accounting and Audit*, (3–4), 15–22. DOI: 10.31767/nasoa.3-4-2021.02.
- Horta, R. D. S., Giuliano, A., Lavalle, G. E., Costa, M. P., de Araújo, R. B., Constantino-Casas, F., & Dobson, J. M. (2018). Clinical, histological, immunohistochemical and genetic factors associated with measurable response of high-risk canine mast cell tumours to tyrosine kinase inhibitors. *Oncology letters*, 15(1), 129–136. DOI: 10.3892/ol.2017.7323.
- Horta, R. S., Lavalle, G. E., Monteiro, L. N., Souza, M. C. C., Cassali, G. D., & Araújo, R. B. (2018). Assessment of Canine Mast Cell Tumor Mortality Risk Based on Clinical, Histologic, Immunohistochemical, and Molecular Features. *Veterinary pathology*, 55(2), 212–223. DOI: 10.1177/0300985817747325.
- Itoh, T., Kojimoto, A., Uchida, K., Chambers, J., & Shii, H. (2021). Long-term postsurgical outcomes of mast cell tumors resected with a margin proportional to the tumor diameter in 23 dogs. *The Journal of veterinary medical science*, 83(2), 230–233. DOI: 10.1292/jvms.20-0281.
- Ivashkiv, B. B., Mysak, A. R., & Pritsak, V. V. (2020). Clinical characteristics of mastocytoma in dogs. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 22(98), 144–153. DOI: 10.32718/nvlvet9825 (in Ukrainian).
- Ivashkiv, B., Mysak, A., & Pritsak, V. (2020). Clinical characteristics of mastocytoma in dogs. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(98), 144–153. DOI: 10.32718/nvlvet9825.
- Kiupel, M., & Camus, M. (2019). Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 49(5), 819–836. DOI: 10.1016/j.cvs.2019.04.002.
- Kiupel, M., Webster, J. D., Bailey, K. L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C. J., Fitzgerald, S. D., Gamble, D., Ginn, P. E., Goldschmidt, M. H., Hendrick, M. J., Howerth, E. W., Janovitz, E. B., Langohr, I., Lenz, S. D., Lipscomb, T. P., Miller, M. A., Misdorp, W., Moroff, S., Mullaney, T. P., ... Miller, R. (2011). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Veterinary pathology*, 48(1), 147–155. DOI: 10.1177/0300985810386469.
- Kiupel, M., Webster, J. D., Miller, R. A., & Kaneene, J. B. (2005). Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology,*

- clinical medicine, 52(6), 280–286. DOI: 10.1111/j.1439-0442.2005.00726.x.
- Lejeune, A., Skorupski, K., Frazier, S., Vanhaezebrouck, I., Rebhun, R. B., Reilly, C. M., & Rodriguez, C. O., Jr (2015). Aggressive local therapy combined with systemic chemotherapy provides long-term control in grade II stage 2 canine mast cell tumour: 21 cases (1999-2012). *Veterinary and comparative oncology*, 13(3), 267–280. DOI: 10.1111/vco.12042.
- Linde, K. J., Stockdale, S. L., Mison, M. B., & Perry, J. A. (2021). The effect of prednisone on histologic and gross characteristics in canine mast cell tumors. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 62(1), 45–50. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33390598>.
- London, C. A., & Thamm, D. H. (2013). Mast cell tumors. In *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology* (pp. 335–355). WB Saunders.
- Lyons, D. O., & Pullen, N. A. (2020). Beyond IgE: Alternative Mast Cell Activation Across Different Disease States. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1498. DOI: 10.3390/ijms21041498.
- Machado, G. A. C., Fontes, T. N., Lorangeira, D. F., Estrela-Lima, A., Moreira, E. L. T., Ribeiro, L. S., Pinto, M. P. R., & Peixoto, T. C. (2018). Incidence of skin tumors in dogs in Salvador, Bahia state, Brazil (2007-2016). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(11), 2139–2145. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5686.
- Machado, G. A., Fontes, T. N., Lorangeira, D. F., Estrela-Lima, A., Moreira, E. L., Ribeiro, L. S., & Peixoto, T. C. (2018). Incidence of skin tumors in dogs in Salvador, Bahia state, Brazil (2007-2016). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(11), 2139–2145. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-5686.
- Marconato, L., Polton, G., Stefanello, D., Morello, E., Ferrari, R., Henriques, J., Tortorella, G., Benali, S. L., Bergottini, R., Vasconi, M. E., Annoni, M., & Sabattini, S. (2018). Therapeutic impact of regional lymphadenectomy in canine stage II cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 16(4), 580–589. DOI: 10.1111/vco.12425.
- Mason, S. L., Pittaway, C., Gil, B. P., Russak, O. M., Westlake, K., Berlato, D., Benoit, J., Morris, J., & Dobson, J. M. (2021). Outcomes of adjunctive radiation therapy for the treatment of mast cell tumors in dogs and assessment of toxicity: A multicenter observational study of 300 dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 35(6), 2853–2864. DOI: 10.1111/jvim.16264.
- Matsuda, A., Tanaka, A., Amagai, Y., Ohmori, K., Nishikawa, S., Xia, Y., Karasawa, K., Okamoto, N., Oida, K., Jang, H., & Matsuda, H. (2011). Glucocorticoid sensitivity depends on expression levels of glucocorticoid receptors in canine neoplastic mast cells. *Veterinary immunology and immunopathology*, 144(3-4), 321–328. DOI: 10.1016/j.vetimm.2011.08.013.
- Mendez, S. E., Drobatz, K. J., Duda, L. E., White, P., Kubicek, L., & Sorenmo, K. U. (2020). Treating the locoregional lymph nodes with radiation and/or surgery significantly improves outcome in dogs with high-grade mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 18(2), 239–246. DOI: 10.1111/vco.12541.
- Miller, J., Campbell, J., Blum, A., Reddell, P., Gordon, V., Schmidt, P., & Lowden, S. (2019). Dose Characterization of the Investigational Anticancer Drug Tigilanol Tiglate (EBC-46) in the Local Treatment of Canine Mast Cell Tumors. *Frontiers in veterinary science*, 6, 106. DOI: 10.3389/fvets.2019.00106.
- Misdorp, W. (2004). Mast cells and canine mast cell tumours. A review. *The veterinary quarterly*, 26(4), 156–169. DOI: 10.1080/01652176.2004.9695178.
- Moore, A. S., Frimberger, A. E., Taylor, D., & Sullivan, N. (2020). Retrospective outcome evaluation for dogs with surgically excised, solitary Kiupel high-grade, cutaneous mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 18(3), 402–408. DOI: 10.1111/vco.12565.
- Mullins, M. N., Dernell, W. S., Withrow, S. J., Ehrhart, E. J., Thamm, D. H., & Lana, S. E. (2006). Evaluation of prognostic factors associated with outcome in dogs with multiple cutaneous mast cell tumors treated with surgery with and without adjuvant treatment: 54 cases (1998-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228(1), 91–95. DOI: 10.2460/javma.228.1.91.
- Mysak, A., & Ivashkiv, B. (2021). Clinical and pathomorphological characteristics of cutaneous mastocytoma of dogs. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(104), 156–166. DOI: 10.32718/nvlvet10425.
- Oliveira, M. T., Campos, M., Lamego, L., Magalhães, D., Menezes, R., Oliveira, R., Patanita, F., & Ferreira, D. A. (2020). Canine and Feline Cutaneous Mast Cell Tumor: A Comprehensive Review of Treatments and Outcomes. *Topics in companion animal medicine*, 41, 100472. DOI: 10.1016/j.tcam.2020.100472.
- Olsen, J. A., Thomson, M., O'Connell, K., & Wyatt, K. (2018). Combination vinblastine, prednisolone and toceranib phosphate for treatment of grade II and III mast cell tumours in dogs. *Veterinary medicine and science*, 4(3), 237–251. DOI: 10.1002/vms3.106.
- Owen, L. N. (1980). *TNM Classification of Tumors in Domestic Animals*. Geneva: World Health Organization. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68618>.
- Parker, B. S., Rautela, J., & Hertzog, P. J. (2016). Antitumour actions of interferons: implications for cancer therapy. *Nature reviews. Cancer*, 16(3), 131–144. DOI: 10.1038/nrc.2016.14.
- Patnaik, A. K., Ehler, W. J., & MacEwen, E. G. (1984). Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary pathology*, 21(5), 469–474. DOI: 10.1177/030098588402100503.
- Pierini, A., Lubas, G., Gori, E., Binanti, D., Millanta, F., & Marchetti, V. (2019). Epidemiology of Breed-Related Mast Cell Tumour Occurrence and Prognostic Significance of Clinical Features in a Defined Population of Dogs in West-Central Italy. *Veterinary sciences*, 6(2), 53. DOI: 10.3390/vetsci6020053.
- Pinello, K. C., Queiroga, F. L. P. G., de Matos, A., Santos, A., Ribeiro, J. N., Guscetti, F., Palmieri, C., Soberano, M., Momanyi, K., Torres, J. R., Killick, D., Radford, A., Wilson-Robles, H., de Carvalho, J. P., Tedardi, M. V., & Dagli, M. L. Z. (2020). The Global Initiative for Veterinary Cancer Surveillance (GIVCS): Report of the first meeting and future

- perspectives. *Veterinary and comparative oncology*, 18(2), 141–142. DOI: 10.1111/vco.12577.
- Pratschke, K. M., Atherton, M. J., Sillito, J. A., & Lamm, C. G. (2013). Evaluation of a modified proportional margins approach for surgical resection of mast cell tumors in dogs: 40 cases (2008-2012). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(10), 1436–1441. DOI: 10.2460/javma.243.10.1436.
- Rassnick, K. M., Bailey, D. B., Russell, D. S., Flory, A. B., Kiselow, M. A., Intile, J. L., Malone, E. K., Balkman, C. E., & Barnard, S. M. (2010). A phase II study to evaluate the toxicity and efficacy of alternating CCNU and high-dose vinblastine and prednisone (CVP) for treatment of dogs with high-grade, metastatic or nonresectable mast cell tumours. *Veterinary and comparative oncology*, 8(2), 138–152. DOI: 10.1111/j.1476-5829.2010.00217.x.
- Sabattini, S., Kiupel, M., Finotello, R., Stefanello, D., Faroni, E., Bertazzolo, W., Bonfanti, U., Rigillo, A., Del Magno, S., Foglia, A., Aresu, L., Gambini, M., Caniatti, M., & Marconato, L. (2021). A retrospective study on prophylactic regional lymphadenectomy versus nodal observation only in the management of dogs with stage I, completely resected, low-grade cutaneous mast cell tumors. *BMC veterinary research*, 17(1), 331. DOI: 10.1186/s12917-021-03043-0.
- Sabattini, S., Scarpa, F., Berlato, D., & Bettini, G. (2015). Histologic grading of canine mast cell tumor: is 2 better than 3?. *Veterinary pathology*, 52(1), 70–73. DOI: 10.1177/0300985814521638.
- Saunders, H., Thomson, M. J., O'Connell, K., Bridges, J. P., & Chau, L. (2021). Evaluation of a modified proportional margin approach for complete surgical excision of canine cutaneous mast cell tumours and its association with clinical outcome. *Veterinary and comparative oncology*, 19(4), 604–615. DOI: 10.1111/vco.12630.
- Scarpa, F., Sabattini, S., Marconato, L., Capitani, O., Morini, M., & Bettini, G. (2012). Use of histologic margin evaluation to predict recurrence of cutaneous malignant tumors in dogs and cats after surgical excision. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(10), 1181–1187. DOI: 10.2460/javma.240.10.1181.
- Schultheiss, P. C., Gardiner, D. W., Rao, S., Olea-Popelka, F., & Tuohy, J. L. (2011). Association of histologic tumor characteristics and size of surgical margins with clinical outcome after surgical removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(11), 1464–1469. DOI: 10.2460/javma.238.11.1464.
- Shoop, S. J., Marlow, S., Church, D. B., English, K., McGreevy, P. D., Stell, A. J., Thomson, P. C., O'Neill, D. G., & Brodbelt, D. C. (2015). Prevalence and risk factors for mast cell tumours in dogs in England. *Canine genetics and epidemiology*, 2, 1. DOI: 10.1186/2052-6687-2-1.
- Sledge, D. G., Webster, J., & Kiupel, M. (2016). Canine cutaneous mast cell tumors: A combined clinical and pathologic approach to diagnosis, prognosis, and treatment selection. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 215, 43–54. DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.06.003.
- Smiech, A., Slaska, B., Lopuszynski, W., Jasik, A., Bochyńska, D., & Dąbrowski, R. (2018). Epidemiological assessment of the risk of canine mast cell tumours based on the Kiupel two-grade malignancy classification. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60, 70. DOI: 10.1186/s13028-018-0424-2.
- Smith, J., Kiupel, M., Farrelly, J., Cohen, R., Olmsted, G., Kirpensteijn, J., Brocks, B., & Post, G. (2017). Recurrence rates and clinical outcome for dogs with grade II mast cell tumours with a low AgNOR count and Ki67 index treated with surgery alone. *Veterinary and comparative oncology*, 15(1), 36–45. DOI: 10.1111/vco.12140.
- Stanclift, R. M., & Gilson, S. D. (2008). Evaluation of neoadjuvant prednisone administration and surgical excision in treatment of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(1), 53–62. DOI: 10.2460/javma.232.1.53.
- Stefanello, D., Buracco, P., Sabattini, S., Finotello, R., Giudice, C., Grieco, V., Iussich, S., Tursi, M., Scase, T., Di Palma, S., Bettini, G., Ferrari, R., Martano, M., Gattino, F., Marrington, M., Mazzola, M., Elisabetta Vasconi, M., Annoni, M., & Marconato, L. (2015). Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009-2014). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246(7), 765–769. DOI: 10.2460/javma.246.7.765.
- Thamm, D. H., Avery, A. C., Berlato, D., Bulman-Fleming, J., Clifford, C. A., Hershey, A. E., Intile, J. L., Jones, P. D., Kamstock, D. A., Liptak, J. M., Pavuk, A., Peauroi, J., Powell, R., Rissetto, K., Valli, V. E. O., & Webster, J. D. (2019). Prognostic and predictive significance of KIT protein expression and c-kit gene mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A consensus of the Oncology-Pathology Working Group. *Veterinary and comparative oncology*, 17(4), 451–455. DOI: 10.1111/vco.12518.
- Thompson, J. J., Pearl, D. L., Yager, J. A., Best, S. J., Coomber, B. L., & Foster, R. A. (2011). Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. *Veterinary pathology*, 48(1), 156–168. DOI: 10.1177/0300985810387446.
- Thompson, J. J., Yager, J. A., Best, S. J., Pearl, D. L., Coomber, B. L., Torres, R. N., Kiupel, M., & Foster, R. A. (2011). Canine subcutaneous mast cell tumors: cellular proliferation and KIT expression as prognostic indices. *Veterinary pathology*, 48(1), 169–181. DOI: 10.1177/0300985810390716.
- Todd, J. E., Nguyen, S. M., White, J., Langova, V., Thomas, P. M., & Tzannes, S. (2021). Combination vinblastine and palladia for high-grade and metastatic mast cell tumors in dogs. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 62(12), 1335–1340. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34857971>.
- Webster, J. D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Miller, R. A., Kaneene, J. B., & Kiupel, M. (2007). Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Veterinary pathology*, 44(3), 298–308. DOI: 10.1354/vp.44-3-298.

- Webster, J. D., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Miller, R. A., Kaneene, J. B., & Kiupel, M. (2007). Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Veterinary pathology*, 44(3), 298–308. DOI: 10.1354/vp.44-3-298.
- Welle, M. M., Bley, C. R., Howard, J., & Rüfenacht, S. (2008). Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary dermatology*, 19(6), 321–339. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2008.00694.x.
- Willmann, M., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Marconato, L., Dacasto, M., Hadzijusufovic, E., Hermine, O., Sadovnik, I., Gamperl, S., Schneeweiss-Gleixner, M., Gleixner, K. V., Böhm, T., Peter, B., Eisenwort, G., Moriggl, R., Li, Z., Jawhar, M., Sotlar, K., Jensen-Jarolim, E., Sexl, V., Horny, H. P., ... Valent, P. (2021). Proposed Diagnostic Criteria and Classification of Canine Mast Cell Neoplasms: A Consensus Proposal. *Frontiers in veterinary science*, 8, 755258. DOI: 10.3389/fvets.2021.755258.
- Ziekman, P. G., Otter, W. D., Tan, J. F., Teske, E., Kirpensteijn, J., Koten, J. W., & Jacobs, J. J. (2013). Intratumoural interleukin-2 therapy can induce regression of non-resectable mastocytoma in dogs. *Anticancer research*, 33(1), 161–165. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23267141>.



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/nvlvet11524
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.5.033/591.13.316

Biochemical blood profile and retinol levels in liver broiler chickens with the use of probiotics

V. H. Yefimov¹✉, D. D. Bilyi¹, M. A. Lieshchova¹, D. F. Gufrij²

¹Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

Article info

Received 10.07.2024

Received in revised form

12.08.2024

Accepted 13.08.2024

Dnipro State Agrarian and
Economic University,
Serhiy Yefimov Str., 25,
Dnipro, 49600, Ukraine.
Tel. + 38-067-727-55-75
E-mail: yefimov.v.h@dsau.dp.ua

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

Yefimov, V. H., Bilyi, D. D., Lieshchova, M. A., & Gufrij, D. F. (2024). Biochemical blood profile and retinol levels in liver broiler chickens with the use of probiotics. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 175–180. doi: 10.32718/nvlvet11524

The use of antibiotics in poultry farming creates a number of risks associated with the development of antibiotic resistance in bacterial disease pathogens. Probiotics are a promising direction for replacing traditional antimicrobial agents. The aim of the work was to investigate the biochemical parameters of blood serum of broiler chickens and the content of vitamin A in the liver using commercial probiotic preparations TM Sviteco based on bacteria of the genus *Bacillus*. The studies were conducted at an industrial broiler breeding enterprise on Cobb 500 crossbred chickens in two poultry houses according to the principle of similar groups. Chickens in the control group were raised using traditional antimicrobial agents (control poultry house). Chickens raised using alternative technology without antibiotics (experimental poultry house) were daily added to the drinking water of Sviteco-PWC tilus at the rate of 200 ml per 1 ton of water. During the periods of vaccination and feed change, the drug Sviteco Mg+pro was added at the rate of 1 l per 1 ton of water. Aerosol disinfection was carried out using Sviteco-Multi daily at the rate of 1–1.5 l per day. Litter treatment was carried out on the 10th day of growing using Sviteco-MBT. Housing and feeding conditions, as well as veterinary treatment, were similar in both poultry houses. All probiotics contained bacteria of the genus *Bacillus*. Blood samples were collected from 44 day-old clinically healthy chickens (10 samples from each group). After slaughter on the 47th day, 5 livers were taken from control and experimental animals. Determination of biochemical parameters of blood serum was performed using the BA-400 BioSystems analyzer (Spain). The level of vitamin A in the liver was investigated by HPLC. In serum blood of broiler chickens grown with the use of probiotic preparations TM Sviteco, a significantly higher level of total protein was found. An increase in the content of globulin fractions of protein indicates an enhanced immune response. A tendency to reduce the activity of alkaline phosphatase and the content of inorganic phosphorus was found. A simultaneous increase in the level of total calcium is associated with better assimilation of minerals from the digestive tract. Under the action of probiotics in the liver of chickens, an increase in the level of vitamin A was noted. Therefore, the use of probiotic preparations based on *Bacillus* bacteria stimulates the immune response in chickens and increases the intensity of assimilation of minerals and vitamins from feed. This requires further study of the mechanisms of action of probiotics on the morpho-functional state of the intestine and its immune structures.

Key words: probiotics, blood biochemistry, chickens, blood proteins, vitamin A, liver.

Біохімічний профіль крові та рівень ретинолу в печінці курчат-бройлерів за використання пробіотиків

В. Г. Єфімов¹✉, Д. Д. Білий¹, М. О. Лещова¹, Д. Ф. Гуфрій²

¹Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

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

Застосування антибіотиків у птахівництві створює низку ризиків, пов'язаних з розвитком антибіотикорезистентності у збудників бактеріальних захворювань. Пробиотичні препарати є перспективним напрямком заміни традиційних антимікробних засобів. За мету роботи було дослідити біохімічні показники сироватки крові курчат-бройлерів та вміст вітаміну А у печінці за використання комерційних пробиотичних препаратів ТМ Sviteco на основі бактерій роду *Bacillus*. Дослідження проводилися на підприємстві з промислового вирощування бройлерів на курчатах кросу Кобб 500 у двох пташниках за принципом аналогічних груп. Курчата контрольної групи вирощувалися із застосуванням традиційних антимікробних засобів (контрольний пташник). Курчатам, які вирощувалися за альтернативною технологією без антибіотиків (дослідний пташник) щоденно додавали у питну воду *Sviteco-PWC tilus* з розрахунку 200 мл на 1 т води. В періоди вакцинації та зміни корму додавався препарат *Sviteco Mg+pro* з розрахунку 1 л на 1 т води. Аерозольна дезінфекція проводилася із застосуванням *Sviteco-Multi* щоденно з розрахунку 1-1,5 л на добу. Обробку підстилки проводили на 10-у добу вирощування з використанням *Sviteco-MBT*. Умови утримання і годівлі, а також ветеринарні обробки були аналогічними в обох пташниках. Усі пробиотики містили бактерії р. *Bacillus*. На 44 добу життя проводився відбір проб крові від 10 клінічно здорових курчат з кожної групи. Після забою на 47-у добу відбирали по 5 печінок від контрольних і дослідних тварин. Визначення біохімічних показників сироватки крові проводили з використанням аналізатору BA-400 BioSystems (Іспанія). Рівень вітаміну А у печінці досліджували методом ВЕРХ. У сироватці крові курчат-бройлерів, вирощених із застосуванням пробиотичних препаратів ТМ Sviteco, встановлено вірогідно вищий рівень загального білка. Підвищення вмісту глобулінових фракцій білка вказує на посилення імунної відповіді. Виявлено тенденцію до зниження активності лужної фосфатази та вмісту неорганічного фосфору. Одночасне підвищення рівню загального кальцію пов'язане з кращою асиміляцією мінеральних речовин з травного каналу. За дії пробиотиків у печінці курчат відзначали підвищення рівню вітаміну А. Отже, застосування пробиотичних препаратів на основі бактерій р. *Bacillus* стимулює імунну відповідь у курчат та посилює інтенсивність асиміляції мінеральних речовин і вітамінів з кормів. Це потребує подальшого вивчення механізмів дії пробиотиків як на морфо-функціональний стан кишечника та його імунних структур.

Ключові слова: пробиотики, біохімія крові, курчата, білки крові, вітамін А, печінка.

Вступ

Сучасні умови ведення птахівництва характеризуються значними ризиками розвитку інфекційних хвороб та загибелі через високу концентрацію погोलів'я та вплив інших технологічних чинників (Ogbuewu et al., 2022). Зважаючи на це, в умовах інтенсивного птахівництва раціональне використання антимікробних препаратів відіграє важливу роль у лікуванні та профілактиці бактеріальних захворювань (Liu et al., 2020; Kasabova et al., 2021). У той же час, тривале використання антибіотиків сприяло розвитку стійких до антибіотиків штамів бактерій як у птиці, так і у людини, створюючи глобальну загрозу громадському здоров'ю (Haque et al., 2020). Відсутність антибіотиків у схемах вирощування бройлерів, крім того, знаходить запит і у споживачів, що свідчить про стурбованість людей безпекою курятини (Jahanabadi et al., 2023).

На сьогоднішній день існує багато проблем, які необхідно подолати шляхом прийняття відповідних стратегій для виробництва м'яса бройлерів без антибіотиків щодо безпеки харчових продуктів і добробуту курчат (Haque et al., 2020; Iannetti et al., 2021). Однією зі стратегій боротьби з бактеріями у птахівництві є застосування органічних кислот, їх сумішей та похідних, які мають антибактеріальну дію та спричинюють позитивний вплив на функціональний стан кишечника (Ahafonov et al., 2018; Masiuk et al., 2024). Крім того, ферментні препарати та рослинні екстракти також можуть бути засобами заміни антибіотиків (Yang et al., 2024). Зокрема, в якості альтернативи антибіотикам наводяться антимікробні пептиди, бактеріофаги, пробиотики та наночастинки (Abreu et al., 2023).

Особливий інтерес становлять бактеріоциногенні пробиотики, які мають здатність прикріплюватися до слизової оболонки хазяїна, колонізувати, розмножуватися та виробляти корисні продукти, такі як бактеріоцини та коротколанцюгові жирні кислоти (Lone et al., 2021). Застосування пробиотичних препаратів

сприяє стабілізації складу мікрофлори, а також зменшується утворення токсичних продуктів у кишечнику, що досягається розмноженням пробиотичних штамів та "конкурентного витіснення" інших мікроорганізмів (Kytaieva & Petrov, 2020).

Bacillus subtilis є одним з найпопулярніших пробиотиків, що застосовуються у птахівництві, завдяки широкому сприятливому впливу, починаючи з точки зору антагонізму з патогенними мікроорганізмами, закінчуючи стимуляцією імунітету, росту і покращення здоров'я птиці (Chechet et al., 2022; Ningsih et al., 2023). Пробиотичний комплекс бактерій роду *Bacillus* spp. показав можливість використання на м'ясопереробних підприємствах для запобігання росту шкідливих мікробних біоплівки на м'ясних продуктах (Kolchuk et al., 2024).

Таким чином, альтернативні технології вирощування курчат-бройлерів без антибіотиків набувають значного поширення, а однією із основних стратегій є застосування пробиотичних препаратів. Водночас, актуальним залишається питання щодо встановлення біохімічного статусу курчат-бройлерів, вирощених за альтернативної технології із застосуванням культур бактерій роду *Bacillus*.

Мета досліджень

Мета досліджень дослідити біохімічні показники крові курчат-бройлерів та вміст вітаміну А у печінці за використання комерційних пробиотичних препаратів ТМ Sviteco на основі бактерій роду *Bacillus*.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводилися на підприємстві з промислового вирощування бройлерів у двох пташниках за принципом аналогічних груп з використанням курчат кросу Кобб-500. Курчата контрольної групи вирощувалися із застосуванням традиційних антимікробних засобів (контрольний пташник). Курчатам, які вирощувалися за альтернативною технологією без

антибіотиків (дослідний пташник) щоденно додавали у питну воду пробіотичний препарат Sviteco-PWC (комбінація 5 видів *Bacillus subtilis*) з розрахунку 200 мл на 1 т води. В періоди вакцинації та зміни корму додавався препарат Sviteco Mg+pro (комбінація біоффіту і пробіотичних культур *Bacillus*) з розрахунку 1 л на 1 т води. Аерозольна дезінфекція проводилася із застосуванням Sviteco-Multi в автоматичному режимі щоденно з розрахунку 1–1,5 л на добу. Обробку підстилки проводили на 10-у добу вирощування з використанням Sviteco-MBT – висококонцентрована комбінація бактерій р. *Bacillus* – 10 г на 1 т. Профілактичні щеплення, умови утримання і годівлі, а також проти-паразитарні обробки були аналогічними в обох пташниках. Усі пробіотики містили бактерії р. *Bacillus*.

На 44 добу життя проводився відбір проб крові від 10 клінічно здорових курчат з кожної групи для біохімічних досліджень. Після забою на 47-у добу відбирали по 5 печінок від контрольних і дослідних тварин. Лабораторні дослідження проводилися в НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ. Визначення загального білка, альбумінів, сечової кислоти, глюкози, загального кальцію, неорганічного фосфору і активності АСТ, АЛТ, лужної фосфатази в сироватці крові проводили з використанням автоматичного біохімічного аналізатору ВА-400 BioSystems (Іспанія) та готових до використання наборів реагентів цього ж виробника. Білковий коефіцієнт розраховували як співвідношення альбумінових фракцій білка до глобулінових. Визначення вмісту вітаміну А у печінці проводили методом ВЕРХ у відповідності до вимог ДСТУ EN 12823-1:2005.

Статистична обробка одержаних даних проводилася з використанням програми Microsoft Excel з розрахунком критерію t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено вірогідно вищий на 17,8 % ($P < 0,05$) рівень загального білка у курчат, вирощених за альтернативною технологією (табл. 1).

Таблиця 1

Показники білкового обміну у сироватці крові курчат-бройлерів за вирощування без традиційних антибактеріальних засобів ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Білок загальний, г/л	34,90 $\pm$ 1,75	41,10 $\pm$ 1,47*
Альбуміни, г/л	14,60 $\pm$ 0,40	15,80 $\pm$ 0,33
Глобуліни, г/л	20,30 $\pm$ 1,38	25,30 $\pm$ 1,08*
Білковий коефіцієнт, од.	0,76 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,05*

Примітки: * – $P < 0,05$ у відношенні до контрольної групи

Аналіз одержаних даних вказує, що збільшення рівню цього показнику відбувалося, у першу чергу, за рахунок його глобулінових фракцій. Їх рівень зріс на 24,6 % ($P < 0,05$). Як відомо, до складу глобулінових фракцій білка курчат входить низка протеїнів, серед яких провідне місце займають α_2 -глобуліни та γ -

глобуліни (Filipovic et al., 2007; Tothova et al., 2019). Водночас, Sirisawadi (2022) та Divya (2023) вказують, що основними глобуліновими фракціями у курчат є β - та γ -глобуліни. Фракція α_2 -глобулінів містить такі важливі білки, як церулоплазмін та гаптоглобін, β -глобуліни представлені транспортними білками (трансферин, ліпопротеїн) і білками системи комплементу, а γ -глобуліни – імуноглобулінами різних класів (Tothova et al., 2016). Враховуючи це, ми схилиємося до думки, що відзначене нами збільшення рівню глобулінових фракцій білка спричинюється підвищенням рівню гуморальних механізмів захисту організму. До подібних висновків приходять й інші дослідники (Shnurenko et al., 2021). Пробіотичні мікроорганізми здатні посилювати імунну відповідь за рахунок, зокрема, імунних структур кишечника і, в такий спосіб, стимулювати як поствакцинальний імунітет, так і відповідь на патогенну мікрофлору (Kazemifard et al., 2022).

Білковий коефіцієнт (співвідношення альбумінів до глобулінів) у курчат-бройлерів, вирощених за технологією без антибіотиків, вірогідно знижувався на 14,5 % ($P < 0,05$). Очевидно, такі зміни є наслідком підвищення вмісту глобулінів за, фактично, незмінного рівню альбумінів сироватки крові. Аналогічні до наших дані отримали й інші дослідники. Зокрема, Kairalla et al. (2023) вказують на зниження білкового коефіцієнту за рахунок глобулінів після згодовування порошку маринги, що супроводжувалося підвищенням приростів маси та виходу м'яса. Застосування пробіотиків також призводило до подібних змін загального білка та його основних фракцій (Bogatko, 2023).

Серед основних метаболітів обміну речовин та активності амінотрансфераз вірогідних змін встановлено не було (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст основних метаболітів та активність амінотрансфераз у сироватці крові курчат-бройлерів за вирощування без традиційних антибактеріальних засобів ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Сечова кислота, мкмоль/л	297,7 $\pm$ 31,14	326,3 $\pm$ 33,80
Креатинін, мкмоль/л	36,10 $\pm$ 2,74	33,20 $\pm$ 3,35
АСТ, Од/л	284,8 $\pm$ 13,28	300,6 $\pm$ 20,39
АЛТ, Од/л	13,50 $\pm$ 1,10	10,70 $\pm$ 1,35
Глюкоза, ммоль/л	13,30 $\pm$ 0,60	12,79 $\pm$ 0,47

Амінотрансферази, зокрема, АЛТ і АСТ, забезпечують взаємоперетворення амінокислот. АЛТ в печінці птиці має невелику концентрацію і, відповідно, невисоку активність цього ферменту у сироватці крові. Активність АСТ виявляється у різних тканинах птиці, включаючи печінку, серце та м'язи. Високі значення цього ферменту зазвичай пов'язується з ушкодженням печінки або м'язів (Arzour-Lakehal et al., 2021). Відсутність вірогідної різниці з боку активності обох досліджених трансаміназ, напевне, вказує на відсутність суттєвих змін цитолітичних процесів у

печінці та м'язовій тканині курчат-бройлерів, вирощених за різних технологій.

Основним продуктом азотистого обміну унаслідок розпаду тканинних білків у птиці є сечова кислота. Саме у вигляді сечової кислоти знаходиться 80 % загального залишкового азоту крові, і лише 1–10 % у вигляді сечовини (Al-Hatchami et al., 2023). Рівень креатиніну в плазмі пов'язаний зі швидкістю метаболізму у м'язовій тканині, а також функцією нирок (Brosnan & Brosnan, 2010). Використання пробіотичної добавки, що містить *Candida ethanolica*, *Monascus fumeus* та *Bacillus subtilis*, до кормів, не впливає на рівень креатиніну в сироватці крові бройлерів (Suprataman et al., 2020). Незмінним був уміст сечової кислоти за дії пробіотиків і в інших дослідженнях (Bogatko, 2023). Таким чином, вирощування курчат-бройлерів без застосування традиційних антимікробних препаратів не має негативного впливу на стан м'язової тканини, функціональну активність нирок та інтенсивність розпаду білків.

Удосконалення технології інтенсивного вирощування сприяло зростанню м'язової маси курчат-бройлерів. Проте, ріст м'язової маси призводить до того, що кістки ніг не здатні підтримувати масу тіла, тому проблема захворювань ніг стає актуальною. Пробіотичні засоби мають широкі перспективи застосування в профілактиці та лікуванні захворювань кісток у птиці (Chen et al., 2022). Наведені у табл. 3 дані свідчать, що вирощування курчат-бройлерів за технологією із застосуванням пробіотичних препаратів не має вірогідного впливу на вміст у сироватці крові загального кальцію, неорганічного фосфору та активність лужної фосфатази.

Таблиця 3

Показники кальцій-фосфорного обміну у сироватці крові курчат-бройлерів за їх вирощування із застосуванням ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Лужна фосфатаза, Од/л	4117,7 $\pm$ 393,4	3895,6 $\pm$ 576,5
Кальцій загальний, ммоль/л	2,41 $\pm$ 0,12	2,56 $\pm$ 0,08
Фосфор неорганічний, ммоль/л	3,89 $\pm$ 0,41	3,65 $\pm$ 0,23

Водночас, спостерігається загальна тенденція щодо покращення обміну кальцію і фосфору в організмі курчат дослідної групи – незначно нижча активність лужної фосфатази та неорганічного фосфору з одночасним підвищенням рівню загального кальцію. Подібні дані щодо зниження активності лужної фосфатази за дії пробіотиків наводяться в літературі (Islam et al., 2004; Banu et al., 2019). Водночас, Bogatko (2023) вказує на зниження рівню неорганічного фосфору при застосуванні *Bacillus subtilis* та *Bacillus licheniformis*. Відповідно, пробіотичні препарати мають здатність чинити позитивний вплив на кальцій-фосфорний обмін.

Вітамін А є важливим мікронутрієнтом, недостатність якого, зокрема, може призвести до зниження

продуктивності та підвищеної сприйнятливості до інфекційних захворювань у птиці (Shastak & Pelletier, 2024). Основним органом-депо ретинолу в організмі є печінка, яка містить за нормальних умов 80 % вітаміну А в організмі (Blomhoff & Wake, 1991). Вміст ретинолу в печінці може використовуватися як показник забезпеченості ним організму у птиці (Guo et al., 2023).

Вирощування курчат-бройлерів за альтернативною технологією із застосуванням пробіотичних препаратів, призводило до підвищення рівню ретинолу у їх печінці (рис. 1).

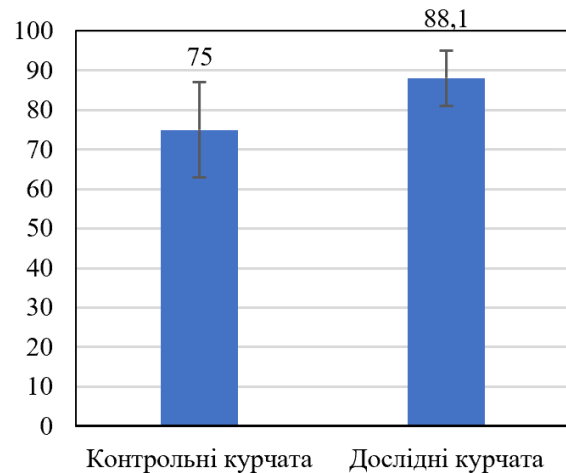


Рис. 1. Уміст ретинолу у печінці курчат контрольної та дослідної групи, мкг/г ($n = 5$)

Не зважаючи на вищий на 17,5 % вміст вітаміну А в печінці дослідної птиці, виявлені зміни не були вірогідними через значну індивідуальну варіабельність ($74,5 \pm 12,7$ та $88,1 \pm 9,1$ мкг/г у контрольної і дослідної птиці відповідно). Встановлений рівень ретинолу узгоджується з даними ($5,60 \pm 3,89$ мг на 100 г) та може вказувати на достатню забезпеченість курчат обох груп цим вітаміном (Majchrzak et al., 2006). Водночас, виявлена тенденція до наростання вмісту ретинолу в печінці курчат, вирощених за альтернативною технологією, може пояснюватися кращим засвоєнням ретинолу у кишечнику, адже пробіотичні засоби мають позитивний вплив як на його структуру, так і функції (Jha et al., 2020).

Висновки

У сироватці крові курчат-бройлерів вирощених за альтернативною технологією без традиційних антимікробних засобів із застосуванням пробіотичних препаратів ТМ Sviteco рівень загального білка у курчат був вірогідно вищим на 17,8 % ($P < 0,05$). Вірогідне підвищення вмісту глобулінових фракцій білка вказує на посилення імунної відповіді. Також встановлено оптимізацію показників кальцій-фосфорного обміну (зниження активності лужної фосфатази та вмісту неорганічного фосфору та підвищення рівню загального кальцію), що пов'язано з кращою асиміляцією мінеральних речовин з травного каналу. Вищий уміст ретинолу у печінці курчат також вказує на покращен-

ня засвоєння вітамінів у кишечнику курчат-бройлерів, вирощених за технологією застосування пробіотичних препаратів на основі бактерій р. *Bacillus*.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати свідчать про необхідність проведення досліджень, спрямованих на визначення впливу альтернативної системи вирощування курчат-бройлерів з використанням пробіотичних препаратів ТМ Sviteco на структурно-функціональну активність тонкого кишечника. Крім того, існує потреба впливу такої системи вирощування на імунні структури кишечника та їх вплив на формування механізмів імунологічної реактивності у курчат.

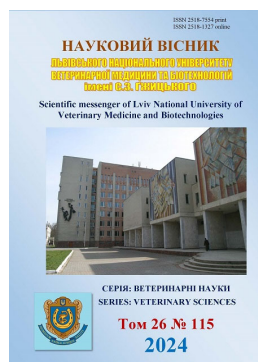
Відомості про конфлікт інтересів.

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abreu, R., Semedo-Lemsaddek, T., Cunha, E., Tavares, L., & Oliveira, M. (2023). Antimicrobial Drug Resistance in Poultry Production: Current Status and Innovative Strategies for Bacterial Control. *Microorganisms*, 11(4), 953. DOI: 10.3390/microorganisms11040953.
- Ahafonov, I., Yefimov, V., & Sofonova, D. (2018). Blood parameters and productivity of cross Cobb-500 chicken broilers after adding feed supplement of calcium butyrate to the diet. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 6(2), 19–24. URL: <https://bulletin-biosafety.com/index.php/journal/article/view/175>.
- Al-Hatchami, A. F., & Alshukri, A. Y. A. (2023). Effect of Diet Fortified with Okra Powder on Blood Quality in Broiler Chickens Under Heat Stress Conditions. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1262(7), 072060. DOI: 10.1088/1755-1315/1262/7/072060.
- Arzour-Lakehal, N., & Boudebza, A. (2021). Biochemical reference intervals in broiler chickens according to age and strain. *Agricultural Science and Technology*, 13(4), 357–364. DOI: 10.15547/ast.2021.04.058.
- Banu, L. A., Mustari, A., & Ahmad, N. (2019). Efficacy of probiotics on growth performance and hemato-biochemical parameters in broiler. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 6(1), 91–100. URL: <https://banglajol.info/index.php/RALF/article/view/41390>.
- Blomhoff, R., & Wake, K. (1991). Perisinusoidal stellate cells of the liver: important roles in retinol metabolism and fibrosis. *The FASEB Journal*, 5(3), 271–277. DOI: 10.1096/fasebj.5.3.2001786.
- Bohatko, A. (2023). Effect of probiotic biologics on morpho-biochemical parameters of broiler chicken blood. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 14(3), 9–24. DOI: 10.31548/veterinary3.2023.09.
- Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E. (2010). Creatine metabolism and the urea cycle. *Molecular Genetics and Metabolism*, 100, S49–S52. DOI: 10.1016/j.ymgme.2010.02.020.
- Chechet, O. M., Kovalenko, V. L., Horbatyuk, O. I., Gaidei, O. S., Kravtsova, O. L., Andriyashchuk, V. O., Musiets, I. V., & Ordynska, D. O. (2022). study in vitro of antagonistic activity of *Bacillus* isolates and selection of promising probiotic strains. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 23(1), 219–227. DOI: 10.36359/scivp.2022-23-1.28.
- Chen, P., Xu, T., Zhang, C., Tong, X., Shaikat, A., He, Y., Liu, K., & Huang, S. (2022). Effects of Probiotics and Gut Microbiota on Bone Metabolism in Chickens: A Review. *Metabolites*, 12(10), 1000. DOI: 10.3390/metabo12101000.
- Divya, P. D. (2023). 4. Biochemical Assays for Monitoring General Health Status of Birds. *Advanced training in poultry production with special emphasis to recent techniques in antimicrobial resistance and food safety*, 30–36.
- Filipovic, N., Stojevic, Z., Milinkovic-Tur, S., Ljubic, B. B., & Zdelar-Tuk, M. (2007). Changes in concentration and fractions of blood serum proteins of chickens during fattening. *Veterinarski arhiv*, 77(4), 319–326. URL: <https://hrcak.srce.hr/24773>.
- Guo, S., He, L., Zhang, Y., Niu, J., Li, C., Zhang, Z., Li, P., & Ding, B. (2023). Effects of Vitamin A on Immune Responses and Vitamin A Metabolism in Broiler Chickens Challenged with Necrotic Enteritis. *Life*, 13(5), 1122. DOI: 10.3390/life13051122.
- Haque, Md. H., Sarker, S., Islam, Md. S., Islam, Md. A., Karim, Md. R., Kayesh, M. E. H., Shiddiky, M. J. A., & Anwer, M. S. (2020). Sustainable Antibiotic-Free Broiler Meat Production: Current Trends, Challenges, and Possibilities in a Developing Country Perspective. *Biology*, 9(11), 411. DOI: 10.3390/biology9110411.
- Iannetti, L., Romagnoli, S., Cotturone, G., & Podaliri Vulpiani, M. (2021). Animal Welfare Assessment in Antibiotic-Free and Conventional Broiler Chicken. *Animals*, 11(10), 2822. DOI: 10.3390/ani11102822.
- Islam, M., Rahman, W., Kabir, M. M., Kamruzzaman, S. M. L., & Islam, M. N. (2004). Effect of Probiotics Supplementation on Growth Performance and Certain Haemato-Biochemical parameters in Broiler Chicken. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 2, 39–43. DOI: 10.3329/bjvm.v2i1.1933.
- Jahanabadi, E. A., Mousavi, S. N., Moosavihaghighi, M. H., & Eslami, M. R. (2023). Consumers' willingness to pay for antibiotic-free chicken meat: application of contingent valuation method. *Environment, Development and Sustainability*, 26(10), 25151–25172. DOI: 10.1007/s10668-023-03674-3.
- Jha, R., Das, R., Oak, S., & Mishra, P. (2020). Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. *Animals*, 10(10), 1863. DOI: 10.3390/ani10101863.
- Kairalla, M. A., Alshelmani, M. I., & Imdakim, M. M. (2023). Effect of Diet Supplemented with Different Levels of Moringa Powder on Growth Performance, Carcass Characteristics, Meat Quality, Hematological Parameters, Serum Lipids, and Economic Efficiency of Broiler Chickens. *Archives of Razi Institute*, 1647–1656. DOI: 10.32592/ari.2023.78.5.1647.
- Kasabova, S., Hartmann, M., Freise, F., Hommerich, K., Fischer, S., Wilms-Schulze-Kump, A., Rohn, K., Käsbohrer, A., & Kreienbrock, L. (2021). Antibiotic

- Usage Pattern in Broiler Chicken Flocks in Germany. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. DOI: 10.3389/fvets.2021.673809.
- Kazemifard, N., Dehkohne, A., & Baradaran Ghavami, S. (2022). Probiotics and probiotic-based vaccines: A novel approach for improving vaccine efficacy. *Frontiers in Medicine*, 9, 940454. DOI: 10.3389/fmed.2022.940454.
- Kolchuk, O. V., Borovuk, I. V., Buzun, A. I., Illarionova, T. V., & Zazharska, N. M. (2024). Microorganisms' Growth Inhibition in Poultry Meat Using *Bacillus* spp. *World's Veterinary Journal*, 14(3), 424–434. DOI: 10.54203/scil.2024.wvj50.
- Kytaieva, D., & Petrov, R. (2020). The use of probiotics in the cultivation of turkeys. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(100), 23–27. DOI: 10.32718/nvlvet10004.
- Larsberg, F., Sprecher, M., Hesse, D., Loh, G., Brockmann, G. A., & Kreuzer-Redmer, S. (2023). Probiotic *Bacillus* Strains Enhance T Cell Responses in Chicken. *Microorganisms*, 11(2), 269. DOI: 10.3390/microorganisms11020269.
- Liu, Y., Dyall-Smith, M., Marenda, M., Hu, H.-W., Brown, G., & Billman-Jacobe, H. (2020). Antibiotic Resistance Genes in Antibiotic-Free Chicken Farms. *Antibiotics*, 9(3), 120. DOI: 10.3390/antibiotics9030120.
- Lone, A., Mottawea, W., Mehdi, Y., & Hammami, R. (2021). Bacteriocinogenic probiotics as an integrated alternative to antibiotics in chicken production - why and how? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(31), 8744–8760. DOI: 10.1080/10408398.2021.1932722.
- Majchrzak, D., Fabian, E., & Elmadfa, I. (2006). Vitamin A content (retinol and retinyl esters) in livers of different animals. *Food Chemistry*, 98(4), 704–710. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.06.035.
- Masiuk, D., Nedzvetsky, V., & Maksymchuk, Y. (2024). The current state and prospects for the use of organic acids and their compositions in poultry feed: A literature review. *Scientific Horizons*, 27(7), 148–157. DOI: 10.48077/scihor7.2024.148.
- Ningsih, N., Respati, A. N., Astuti, D., Triswanto, T., Purnamayanti, L., Yano, A. A., Putra, R. P., Jayanegara, A., Ratriyanto, A., & Irawan, A. (2023). Efficacy of *Bacillus subtilis* to replace in-feed antibiotics of broiler chickens under necrotic enteritis-challenged experiments: a systematic review and meta-analysis. *Poultry Science*, 102(10), 102923. DOI: 10.1016/j.psj.2023.102923.
- Ogbuewu, I. P., Mabelebele, M., Sebola, N. A., & Mba-jorgu, C. (2022). *Bacillus* Probiotics as Alternatives to In-feed Antibiotics and Its Influence on Growth, Serum Chemistry, Antioxidant Status, Intestinal Histomorphology, and Lesion Scores in Disease-Challenged Broiler Chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. DOI: 10.3389/fvets.2022.876725.
- Shastak, Y., & Pelletier, W. (2023). Delving into vitamin A supplementation in poultry nutrition: current knowledge, functional effects, and practical implications. *World's Poultry Science Journal*, 80(1), 109–131. DOI: 10.1080/00439339.2023.2250327.
- Shnurenko, E., Studenok, A., Karpovskiy, V., Trokoz, V., Guttyj, B., Torzhash, A., & Radchikov, V. (2021). Autonomous regulation of antioxidant protection and protein exchange in chickens. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(103), 43–50. DOI: 10.32718/nvlvet10307.
- Sirisawadi, S. (2022). Comparative serum protein electrophoresis patterns in dogs, cats, and chickens. *Thai J Vet Med.*, 52(Suppl.), 69–70. URL: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20220315534#page=116>.
- Suprataman, H., Ismiraj, R. M., & Mayasari, N. (2020). Effects of probiotic supplementation to diets on blood urea nitrogen and plasma creatinine in broiler chicken. *Lucrări Științifice - Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Seria Zootehnie*, 73, 23–27. URL: <https://repository.iuls.ro/xmlui/handle/20.500.12811/582>.
- Tothova, C., Nagy, O., & Kovac, G. (2016). Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: a review. *Veterinárni Medicina*, 61(9), 475–496. DOI: 10.17221/19/2016-vetmed.
- Tothova, C., Sesztakova, E., Bielik, B., & Nagy, O. (2019). Changes of total protein and protein fractions in broiler chickens during the fattening period. *Veterinary World*, 12(4), 598–604. DOI: 10.14202/vetworld.2019.598-604.
- Yang, W., Li, J., Yao, Z., & Li, M. (2024). A review on the alternatives to antibiotics and the treatment of antibiotic pollution: Current development and future prospects. *Science of The Total Environment*, 926, 171757. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.171757.



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/nvlvet11525
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.2:082.456:618.46-089.165.

Effectiveness of uterus sanitation in cows with oxytetracycline drugs after surgical separation of the placenta

Ye. Kostyshyn¹, O. Katsaraba^{1✉}, L.-M. Kostyshyn¹, T. Stetsko², L. Ostrovska²

¹Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

²State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

Article info

Received 10.07.2024

Received in revised form

12.08.2024

Accepted 13.08.2024

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary
Medicine and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str. 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-063-042-47-15
E-mail: katsaraba@gmail.com

State Scientific-Research Control
Institute of Veterinary Medicinal
Products and Feed Additives,
Donetska Str., 11, Lviv,
79019, Ukraine.

Kostyshyn, Ye., Katsaraba, O., Kostyshyn, L.-M., Stetsko, T., & Ostrovska, L. (2024). Effectiveness of uterus sanitation in cows with oxytetracycline drugs after surgical separation of the placenta. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 181–190. doi: 10.32718/nvlvet11525

The article presents the results of studying the effectiveness of antimicrobial drugs for intrauterine use (foaming tablets) of domestic and foreign production based on the tetracycline antibiotic oxytetracycline when used for sanitation of the uterus of cows after operative treatment of retention placenta. Samples of uterine-vaginal secretions were taken for microbiological studies from cows, which were surgically separated from the dung. The sensitivity of the microflora of the biomaterial to this tetracycline antibiotic was confirmed by the method of diffusion in agar using standard disks with oxytetracycline (30 µg). *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria were isolated and identified from the biomaterial using generally accepted microbiological methods. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of oxytetracycline for bacterial isolates were determined by serial dilutions in a liquid nutrient medium. According to the obtained MIC values, a high level of bacteriostatic activity of the antibiotic was established against bacterial isolates, potential causative agents of postpartum endometritis in cows. All cows, which were manually separated placenta, were divided into three groups – two experimental and control – 8 cows in each. The animals of the experimental group were intrauterineally injected with antimicrobial drugs in the form of foaming tablets, the active substance of which is oxytetracycline, in the dose recommended by the manufacturer (2 tablets per animal twice with an interval of 48 hours). Cows of the control group were not given any intrauterine drugs. The use of intrauterine preparations based on oxytetracycline contributed to the prevention of the development of postpartum endometritis in cows and improved their reproductive characteristics.

Key words: cows, retention placenta, postpartum endometritis, uterine sanitation, foaming tablets, oxytetracycline, isolated bacteria, minimal inhibitory concentration, bacteriostatic activity, efficiency, fertilization, insemination rate.

Ефективність санації матки у корів препаратами окситетрацикліну після оперативного відділення посліду

Є. Є. Костишин¹, О. А. Кацараба^{1✉}, Л.-М. Є. Костишин¹, Т. І. Стецько², Л. Л. Островська²

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

²Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

У статті наведені результати вивчення ефективності антимікробних препаратів для внутрішньоматкового застосування (піноутворюючі таблетки) вітчизняного та зарубіжного виробництва на основі тетрациклінового антибіотика окситетрацикліну при застосуванні для санації матки корів після оперативного лікування затримки посліду. Від корів, яким оперативним мето-

дом відділили послід, брали зразки матково-піхвових виділень для мікробіологічних досліджень. Методом дифузії в агар з використанням стандартних дисків з окситетрацикліном (30 мкг) була підтверджена чутливість мікрофлори біоматеріалу до цього тетрациклінового антибіотика. Загальноприйнятими мікробіологічними методами з біоматеріалу були виділені та ідентифіковані бактерії *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*. Шляхом послідовних розведень у рідкому поживному середовищі визначали мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) окситетрацикліну для бактерій-ізолятів. За отриманими значеннями МІК констатували високий рівень бактеріостатичної активності антибіотика щодо бактерій-ізолятів, потенційних збудників післяродового ендометриту в корів. Всіх корів, яким мануальним способом була відокремлена плацента, було розділено на три групи – дві дослідні та контрольну – по 8 голів у кожній. Тваринам дослідної групи інтраутерально вводили антимікробні препарати у формі піноутворюючих таблеток, діючою речовиною яких є окситетрациклін, у рекомендованій виробником дозі (2 таблетки на тварину двічі з інтервалом 48 годин). Коровам контрольної групи жодних внутрішньоматкових препаратів не вводили. Застосування внутрішньоматкових препаратів на основі окситетрацикліну сприяло запобіганню розвитку післяродового ендометриту в корів та поліпшувало їх репродуктивні характеристики.

Ключові слова: корови, затримання посліду, післяродовий ендометрит, санація матки, піноутворюючі таблетки, окситетрациклін, бактерії-ізоляти, мінімальна інгібуюча концентрація, бактеріостатична активність, ефективність, заплідненість, коефіцієнт осіменіння.

Вступ

Одною з основних причин неплідності є патологія родів і післяродового періоду. Затримання посліду – патологія третьої стадії отелення, яка реєструється в середньому у 10–30 % корів і завдає господарствам значних економічних збитків, що зумовлені тривалою неплідністю та передчасним вибраковуванням високопродуктивних тварин (van Werven et al., 1992).

Затримка плодових оболонок у корови може призвести до несприятливих наслідків для її здоров'я, що в кінцевому підсумку вплине на репродуктивну продуктивність. Негативні наслідки затримки посліду в корів включають затримку інволюції матки, більший період до першого осіменіння, збільшення кількості осіменінь до продуктивного запліднення (Holt et al., 1989), зниження частоти вагітності (McDougall, 2001) і збільшення сервіс-періоду (Holt et al., 1989; Stevens & Dinsmore, 1997). Із затримкою посліду пов'язаний підвищений ризик розвитку ендометриту, метриту, кетозу і маститу (Schukken, 1989; Schukken et al., 1989; Bruun et al., 2002; Melendez et al., 2003). Ці захворювання своєю чергою можуть призвести до зниження репродуктивної здатності корови (Curtis et al., 1985) та потенційних втрат у молочній продуктивності (Laven & Peters, 1996). Тривала затримка посліду після отелення є однією з основних етіологічних факторів розвитку запалення матки у корів.

Згідно з даними Van Werven T. et al. (1992), у 66 % корів плацента відходить протягом 6 годин після родів. По-різному визначають затримку посліду – від 8 до 48 годин після родів (Lee et al., 1989; van Werven et al., 1992). Більшість вчених визначають затримку посліду у корів як невідділення плодових оболонок протягом 12–24 годин після родів (Paisley et al., 1986; Fourichon et al., 2000; Drillich et al., 2003).

У проведеному Fourichon C. et al. (2000) метааналізі впливу захворювання на репродукцію корів із затримкою посліду було пов'язано 2–3 додаткових днів до першого осіменіння та на 4–10 % нижчими показниками запліднення після першого осіменіння, що призвело в середньому до 6–12 додаткових днів до запліднення корів із затримкою посліду порівняно з коровами без неї. Однак лише 5 із 13 включених досліджень корів із затримкою посліду виявили зниження виробництва молока (Fourichon et al., 1999).

Існує низка факторів ризику, пов'язаних з післяродовою затримкою відділення плодових оболонок, включаючи індуковані пологи (Terblanche et al., 1976), скорочення тривалості вагітності (Muller & Owens, 1974), аборти (Roberts, 1986; Joosten et al., 1987) народження двійнят (Erb et al., 1958; Muller & Owens, 1974), дистоція (Joosten et al., 1987; Rajala, & Gröhn, 1998), фетотомія (Joosten et al., 1987; Wehrend et al., 2002), кесарів розтин (Joosten et al., 1987) аліментарні дефіцити, такі як нестача вітаміну Е, селену та каротину (Ronning et al., 1953; Julien et al., 1976), інфекційні агенти, такі як вірус гепатиту С (вірус бичачої вірусної діареї) (Niskanen et al., 1995) та імуносупресія (Laven & Peters, 1996). Зниження антиоксидантної ферментативної здатності плаценти під час вагітності також може бути сприятливим етіологічним фактором затримки посліду (Wischnal et al., 2001; Gupta et al., 2005).

Дискусивними досі залишаються підходи щодо лікування корів з затриманням посліду. Застосовують консервативний або оперативний методи. Консервативний метод краще застосовувати через 6–12 годин після народження плоду, а до оперативного відокремлення посліду вдаються через 24–48 годин (Drillich et al., 2006; 2007).

Консервативні методи лікування затримки посліду базуються на застосуванні препаратів, що підсилюють скоротливу функцію матки й лізис ворсинок хоріона та знімають “прогестероновий блок”, таких як дигітол, сінестрол, окситоцин, пітуїтрин, утеротонік та інші. Це сприяє спонтанному виділенню посліду.

Якщо через 24–48 години послід не відокремився, то вдаються до оперативного його відділення. Оперативне (мануальне) відділення посліду полягає в послідовному роз'єднанні котиledonів і карункулів. Мануальне відділення посліду з подальшим внутрішньоматковим введенням антимікробних засобів залишається загальноприйнятою практикою, незважаючи на численні дослідження, які не продемонстрували достатньо сприятливого впливу на репродуктивну здатність або молочну продуктивність (Moller et al., 1967; Dyrendahl et al., 1977; Kulasekar et al., 2004; Drillich et al., 2006). За мануального відділення посліду майже завжди травмується ендометрій, відкриваються “ворота” для гнійно-гнильної інфекції і виникає клінічний ендометрит (Kulasekar et al., 2004).

Ручне видалення посліду може призвести до більш частих і важких маткових інфекцій порівняно з консервативним лікуванням (Bolinder et al., 1988). Bolinder A. et al. (1988) виявили, що мануальне видалення плаценти подовжує інтервал від отелення до першого функціонуючого статевого циклу на 20 днів. До того ж внутрішньоматкові патогенні бактерії були виявлені у 100 % корів після відділеного вручну посліду проти 37 % нелікованих корів через 3 тижні після отелення, а також у 37 % корів, у яких оперативним виділили плаценту, проти 12 % нелікованих корів через 5 тижнів після отелення. Хоча сучасні дані не підтверджують, що ручне видалення є ефективним лікуванням затримки посліду, воно все ще широко практикується (Peters & Laven, 1996). Ймовірно, це пов'язано як з естетичними перевагами, включаючи гігієну матки та видалення неприємних запахів, так і з уявними перевагами, які включають припущення того, що видалення плаценти усуває потенційне джерело інфекції і таким чином зменшить ймовірність розвитку ендометриту та негативний вплив на репродуктивну здатність корови.

Післяпологовий метрит є поширеним наслідком затримки відділення родових оболонок, і обґрунтованим є призначення антибіотиків для санації порожнини матки після оперативного відділення посліду для профілактики або лікування метриту та запобігання подальшого негативного впливу на фертильність корови (Bouters & Vandeplasse, 1977; Peters & Laven, 1996; Goshen & Shpigel, 2006).

Для санації матки використовують антимікробні препарати для інтраутерального введення. Проте через прогресуючий розвиток антибіотикорезистентності серед мікроорганізмів, основних збудників бактеріальних ендометритів, важливим є вибір хіміотерапевтичного засобу, діюча речовина (чи речовини) якого проявляла антимікробну активність щодо цих патогенів (Haimel et al., 2017).

Антимікробні препарати для внутрішньоматкового введення спрямовані на потрапляння антибіотиків безпосередньо в матку для досягнення високих концентрацій в місці зараження (Gustafsson, 1984; Gilbert & Schwark, 1992). Тому для ефективної боротьби зі збудниками ендометриту антибіотик повинен бути у достатній концентрації присутнім у місці інфекції. Це залежить від фармакокінетичних властивостей антибіотичного препарату, які дозволятимуть антибіотику швидко поширюватися по всій порожнині матки і добре проникати всередину ендометрію (Roncada et al., 2000; Hajurk et al., 2003; Kaczmarowski et al., 2004).

Інтраутеральне введення антибіотиків є особливо ефективним методом профілактики післяпологового ендометриту у корів (Khan & Khan, 1989; Pateria et al., 1992; Singh et al., 2001; Malinowsky, 2004). На противагу системному введенню, за внутрішньоматкового введення досягаються більш високі концентрації антибіотика в ендометрії, але ступінь його проникнення в глибокі шари матки або інші тканини статевих органів незначний (Masera et al., 1980; Bretzlaff et al., 1983).

Антибіотики, які використовуються для внутрішньоматкового введення, включають тетрацикліни (окситетрациклін, хлортетрациклін) (Thurmond et al., 1993; Sheldon & Noakes, 1998). Для всіх тетрациклінів характерний широкий спектр антимікробної дії щодо більшості грамнегативних і грампозитивних бактерій, включаючи деяких анаеробів (Aronson, 1980). Тетрацикліни також активно діють проти хламідій, мікоплазм, деяких найпростіших, а також деяких видів рикетсій, включаючи *Anaplasma*, *Ehrlichia* і *Haemobartonella* (Aronson, 1980). Діапазон активності тетрациклінів також включає *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Pasteurella* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp. і *Streptococcus* spp. (Aronson, 1980). Зарубіжними та вітчизняними фармакологічними фірмами запропоновано цілу низку ветеринарних препаратів на основі антибіотиків тетрациклінового ряду (в основному окситетрацикліну) для лікування післяродових інфекцій у корів (Masera et al., 1980; Bennett, 1995; Brooks, 2000; Königsson et al., 2001; Schmitt et al., 2001).

Добре відома антибактеріальна ефективність окситетрацикліну проти багатьох інфекцій, спричинених грампозитивними і грамнегативними бактеріями (Königsson et al., 2001; Hajurk et al., 2003). Внутрішньоматкове введення окситетрацикліну забезпечує швидку терапевтичну концентрацію в карункулах і ендометрії як здорових, так і хворих на ендометрит корів (Roncada et al., 2000; LeBlanc et al., 2002; Kaczmarowski et al., 2004; Shams-Esfandabadi et al., 2004). Проте, через його порівняно низьку абсорбцію в кровообіг (Roncada et al., 2000), терапевтична дія значною мірою обмежена просвітом матки та ендометрієм (Masera et al., 1980).

Мета дослідження

Мета роботи: вивчити ефективність ветеринарних лікарських засобів для внутрішньоматкового застосування на основі окситетрацикліну для санації матки у корів після оперативного лікування затримання посліду.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили у колективних сільськогосподарських підприємствах молочного напрямку Львівської області на молочних коровах голштинської та української чорно-рябої порід різної лактації з клінічними ознаками затримання посліду через 12–24 години після отелення.

Застосовані консервативні методи лікування (введення окситоцину, синестролу упродовж 3–4 годин після народження плода, проведення новокаїнової блокади) не дали результату. Через 24–48 годин після родів проводили мануальне відокремлення плодових оболонок.

Від 12 корів, яким оперативним відділили плаценту, відбирали зразки біоматеріалу (матково-півхових виділень) для дослідження чутливості його мікрофлори до окситетрацикліну. Дослідження на чутливість проводили диско-дифузійним методом

згідно з Методичними вказівками з визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів методом дифузії в агар за допомогою стандартних дисків з окситетрацикліном. Для визначення антимікробної чутливості диско-дифузійним методом використовували поживне середовище Мюллера-Хінтона та стандартні диски з окситетрацикліном (30 мкг), виробництва фірми Hi Media Laboratories Pvt. Limited (Індія). Виділення та ідентифікацію бактерій, потенційних збудників ендометриту в корів, проводили за загальноприйнятими методиками (Kravtsiv et al., 2008). Ступінь чутливості бактерій-ізолятів до окситетрацикліну встановлювали за мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) антибіотика для виділених штамів мікроорганізмів згідно з Методичними вказівками з визначення бактеріостатичної та бактерицидної концентрації антибактеріальних препаратів методом серійних розведень.

Інтерпретацію результатів тесту на чутливість мікрофлори матково-піхвових виділень до окситетрацикліну, проведеного диско-дифузійним методом, проводили таким чином: діаметр зони затримки росту навколо диска з окситетрацикліном ≥ 19 мм – мікрофлора чутлива; 15–18 мм – помірно чутлива; ≤ 14 мм – резистентна (NCCLS, 2002).

Інтерпретацію результатів визначення МІК окситетрацикліну для мікроорганізмів, інших, ніж *streptococci*, проводили таким чином: МІК окситетрацикліну ≤ 4 мкг/мл – мікроорганізм чутливий; 8 мкг/мл – помірно чутливий; ≥ 16 мкг/мл – резистентний (NCCLS, 2002).

Інтерпретацію результатів визначення МІК окситетрацикліну для *streptococci* проводили таким чином: МІК окситетрацикліну ≤ 2 мкг/мл – мікроорганізм чутливий; 4 мкг/мл – помірно чутливий; ≥ 8 мкг/мл – резистентний (NCCLS, 2002).

Усі корови, яким відділили плаценту оперативним методом ($n = 24$), були включені до клінічного експерименту і розділені на 3 групи – дві дослідні і контро-

льна – по 8 голів у кожній. Для санації матки коровам дослідних груп внутрішньоматково вводили антимікробні препарати на основі окситетрацикліну в терапевтичних дозах. Коровам першої (І) дослідної групи вводили препарат “Геоміцин Вет” (піноутворюючі таблетки для внутрішньоматкового застосування) виробництва ТОВ “Укрветпромпостач”. Коровам другої (ІІ) дослідної групи вводили препарат Геоміцин Ф (таблетки піноутворюючі для внутрішньоматкового застосування) виробництва ГЕНЕРА Інк., Республіка Хорватія, 1 таблетка кожного з цих препаратів (19 г) містить 1,0 г окситетрацикліну гідрохлорид. Обидва препарати застосовували у дозі 2 таблетки на тварину двічі з інтервалом 48 годин.

Перед застосуванням препаратів проводили санацію зовнішніх статевих органів, при необхідності звільняючи порожнину матки від запального ексудату шляхом промивання фізіологічним розчином. Після цього ректально рукою фіксували шийку матки і обережно через шийку вводили таблетку в порожнину матки.

Коровам контрольної групи жодних внутрішньоматкових препаратів не вводили.

Вели постійне спостереження за клінічним станом тварин. Фіксували кількість корів у кожній групі, що прийшли в охоту, були осіменені, і кількість тих, що запліднилися, індекс осіменіння, кількість днів від родів до результативного осіменіння.

Результати та їх обговорення

Результати тесту на чутливість мікрофлори матково-піхвових виділень корів до окситетрацикліну показані на рис. 1.

Тест на чутливість показав, що мікрофлора 8 з 12 зразків матково-піхвових виділень була чутливою, трьох – помірно чутливою і одного – резистентною до окситетрацикліну.

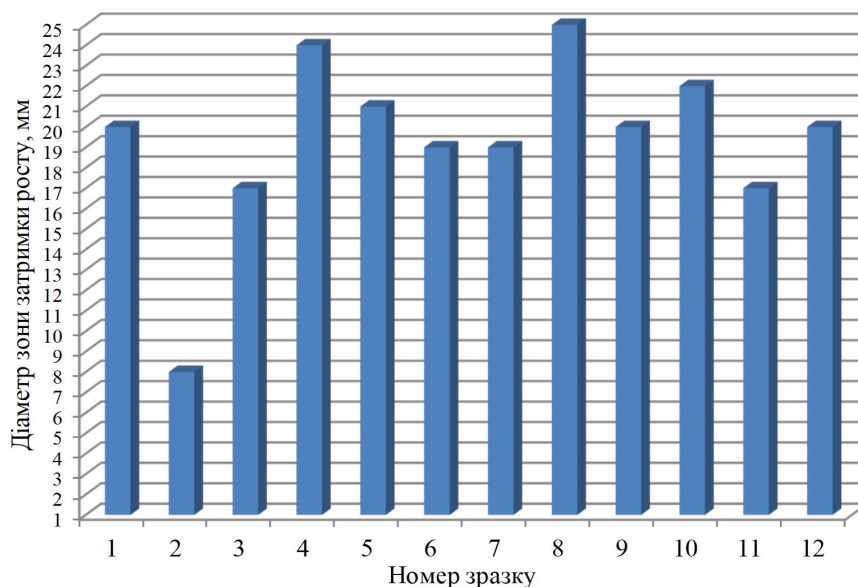


Рис. 1. Чутливість мікрофлори матково-піхвових виділень корів до окситетрацикліну ($n = 12$)

Мікробіологічно з матково-піхвових виділень 12 корів були виділені та ідентифіковані стафілококи (*Staphylococcus aureus*), стрептококи (*Streptococcus pyogenes*), кишкова паличка (*Escherichia coli*) та синьогнійна паличка (*Pseudomonas aeruginosa*).

Виділяли мікроорганізми як поодинокі (моноінфекція) – з 5 проб (41,7 %), так і в асоціаціях (поліінфекція): 2 види мікроорганізмів висівали з 6 проб (50,0 %), а 3 види бактерій – з 1 проби (8,3 %). Усього з матково-піхвових виділень корів було виділено 5 монокультур та 7 асоціацій мікроорганізмів. У трьох корів моноінфекція була представлена *Staphylococcus aureus*, у двох – *Escherichia coli*. Асоціації мікроорганізмів, виділених з біоматеріалу, були такими: *Streptococcus pyogenes* + *Staphylococcus aureus* (3 зразки), *Staphylococcus aureus* + *Escherichia coli* (3 зразки), *Staphylococcus aureus* + *Pseudomonas aeruginosa* + *Escherichia coli* (1 зразок).

Більшість вчених провідну роль в етіології запальних захворювань репродуктивних органів у корів у післяпологовий період відводять умовно-патогенній мікрофлорі, яка постійно присутня в навколишньому середовищі та в організмі тварини (Noakes et al., 1991; Földi et al., 2006). Залежно від різних факторів, таких як ступінь патогенності бактерій і імунний статус корів, така колонізація може призвести до розвитку інфекції (Noakes et al., 1991; Santos et al., 2011). Тому

при гострому післяпологовому ендометриті переважно висівають такі види мікроорганізмів: *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* (Sheldon et al., 2006). Досить поширена колонізація матки у післяродовий період аеробними бактеріями *Escherichia coli* і *Arcanobacterium pyogenes* (Földi et al., 2006; Miller et al., 2007; Bicalho et al., 2010; Machado et al., 2014).

За даними Р. Г. Кузьмича, у ранній післяпологовий період (2–4 дні після пологів) у 75 % корів у матці виявляються мікроорганізми, що при зниженні резистентності організму сприяє захворюванню на післяпологовий ендометрит (Stravskyi et al., 2015). Найчастіше це *Escherichia coli* (у 87 % з числа інфікованих тварин), *Staph. epidermidis* (33 %), *Str. pyogenes* (27 %), *Staph. aureus* (13 %), *Str. agalactiae* (13 %), *Cor. vaginalis* (20 %), *Prot. vulgaris* (20 %), *Bac. subtilis* (27 %). Переважно трапляються асоціації кишкової палички зі стрептококами і стафілококами (55 %); стрептококів, коринебактерій і кишкової палички (15 %); синьогнійної палички, коринебактерій і кишкової палички (10 %).

Рівень бактеріостатичної активності окситетрацикліну по щодо виділених штамів *S. aureus* показаний на рис. 2.



Рис. 2. МІК окситетрацикліну для ізолятів *Staphylococcus aureus* (n = 10)

Згідно з отриманими значеннями МІК окситетрацикліну, цей тетрацикліновий антибіотик зберігає високий рівень бактеріостатичної активності щодо виділених штамів *S. aureus*. Так, 9 з 10 виділених штамів *Staphylococcus aureus* виявилися чутливими до окситетрацикліну і лише один ізолят – помірно чутливим. Середнє значення МІК окситетрацикліну для *S. aureus* – 2,45 мкг/мл (діапазон – 0,5–8 мкг/мл). Також високий ступінь чутливості до окситетрацикліну ізолятів *S. aureus*, виділених з матки корів (середнє значення МІК = 1,54 мкг/мл), встановлений у дослідженнях проведених Miller et al. (1980).

Отримані значення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) окситетрацикліну для ізолятів *E. coli*, *Str. pyogenes* і *P. aeruginosa* наведені у табл. 1.

Як впливає з даних табл. 1, рівень бактеріостатичної активності окситетрацикліну щодо польових штамів *Streptococcus pyogenes* виявився високим (усі ізоляти були чутливими). 5 штамів кишкової палички виявилися чутливими до окситетрацикліну і лише один – помірно чутливим. Виділений штам *Pseudomonas aeruginosa* виявився резистентним до діючої речовини досліджуваного препарату. Отримані результати ще раз підтвердили, що тетрацикліни є антибіотиками широкого спектру антимікробної дії, активними як щодо грампозитивних (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*), так і грамнегативних (*Escherichia coli*) бактерій.

Таблиця 1

Бактеріостатична активність окситетрацикліну щодо ізолятів *E. coli*, *Str. pyogenes*, і *P. aeruginosa*

Розведення, мкг/мл	<i>E. coli</i> (n = 6)						<i>Str. pyogenes</i> (n = 3)			<i>P. aeruginosa</i> (n = 1)
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	
128	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
64	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
8	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—
4	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—
2	—	+	—	—	+	+	+	—	+	—
1	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
МІК, мкг/мл*	2	1	8	4	1	0,5	1	2	1	64

Примітка: “+” – помутніння бульйону; “—” – бульйон прозорий; * – найменша концентрація окситетрацикліну, яка інгібує ріст мікроорганізму (бульйон прозорий)

Результати ефективності застосування внутрішньоматкових препаратів окситетрацикліну для санації матки корів після оперативного виділення родових оболонок показані у [табл. 2](#).

У порівнянні з контролем в обох дослідних групах в охоту прийшли усі корови (100 %). У контрольній групі прояв першої стадії збудження статевого циклу спостерігали у 6 з 8 корів (75 %). Індекс осіменіння у корів І і II дослідної групи, порівняно з контрольною групою, був нижчим на 25 % і 33,7 % відповідно. Кількість днів неплідності (від отелення до заплід-

нення) у корів, яким внутрішньоматково вводили препарат Геоміцин Вет, була на 17 днів менша (24,3 %), а у корів, яким застосовували препарат Геоміцин Ф, – на 15 днів менша (20,8 %), ніж у корів, яким не проводили санацію матки (контрольна група).

Обидва препарати за внутрішньоматкового введення коровам після оперативного лікування затримання посліду для санації матки з метою профілактики післяродового ендометриту були безпечними, не викликали у тварин побічних ефектів та негативних явищ.

Таблиця 2

Результати профілактики післяродового ендометриту у корів після оперативного відділення посліду

Група	Кількість тварин, гол.	Прийшли в охоту, гол.	Були осіменені, гол.	Запліднилось, гол.	Індекс осіменіння	Сервіс-період, у середньому на корову
I дослідна	8	8	8	8	2,0	70
II дослідна	8	8	8	8	1,87	72
Контрольна	8	6	6	5	2,5	87

Окситетрациклін є протимікробним засобом, схваленим FDA для застосування лактуючим коровам і призначений для лікування післяпологового метриту, викликаного стафілококами та стрептококами ([Arriola, 2001](#)). Позитивна клінічна відповідь на внутрішньоматкове лікування окситетрацикліном корів з гострим післяпологовим метритом спостерігалася в дослідженнях [Schmitt et al. \(2001\)](#). Так, через 7 днів після лікування одужало 58,1 % корів, а через 15 днів – 71,2 %. Ефективність окситетрацикліну не відрізнялася від ефективності цефтіофуру, цефалоспоринового антибіотика третього покоління. За іншого дослідження окситетрациклін, введений інтраутерально, був успішним у 73 % випадків ендометриту в корів ([Sheldon & Noakes, 1998](#)). Системне застосування амокцициліну разом з інтраутеральним введенням окситетрацикліну коровам в післяродовий період змогло зменшити кількість днів від першого осіменіння до продуктивного запліднення порівняно з застосуванням лише амокцициліну. Окрім того, таке комбіноване лікування змогло значно збільшити відсоток запліднених тварин під час першого осіменіння та знизити відсоток невагітних корів через 150 днів після отелення

([Armengol & Fraile, 2015](#)). В іншому дослідженні за застосування інтраутерально різних форм окситетрацикліну у лікуванні клінічного ендометриту спостерігалася поліпшення репродуктивних показників корів, таких як кількості осіменіння для продуктивного зачаття, частоти запліднення та частоти вагітності ([Ghallab et al., 2023](#)).

Інтраутеральна інфузія антибіотиків є поширеною практикою профілактики та терапії післяродового запалення матки в корів. Її застосовують для рівномірного розподілу антимікробної речовини по всіх шарах матки, для обмеженого системного поглинання, низького подразнення тканин та досягнення високої антибактеріальної активності в середовищі матки.

Проте багато антимікробних засобів, таких як сульфаніламід, тетрациклін, пеніцилін, аміноглікозиди, можуть легко всмоктуватися системно з матки в кров ([Gustafsson, 1984; Gilbert & Schwark, 1992](#)). Тому дні після родів, стан матки, абсорбційна здатність тканини матки та розподіл лікарського засобу є основними факторами, що впливають на ефективність більшості препаратів, які вводять у післяпологовий період інтраутерально ([Richter et al., 1975](#);

Masera et al., 1980). Молекулярна структура антимікробного агента та “транспортного” засобу, що використовується для доставки антибіотика у матку, впливає на його абсорпцію в тканину матки після внутрішньоматкової інфузії (Gustafsson, 1984). Повністю інволюційна матка має кращі всмоктувальні можливості, ніж матка відразу після родів (Masera et al., 1980). Важкий перебіг ендометриту призводить до низької концентрації лікарського засобу в субендометріальних тканинах матки після інтраутерального лікування (Gustafsson & Ott, 1981; Bretzlaff et al., 1983). Відтак висока концентрація препарату на ендометрії може призвести до місцевого подразнення слизової оболонки матки (Paisley et al., 1986).

Середовище післяродової матки, ферменти, що розкладають антибіотики, слизово-гнійні виділення та органічні забруднювачі можуть призвести до низької ефективності певних антимікробних агентів, введених у матку в післяродовий період (Paisley et al., 1986; Whitacre, 1992). За більш серйозних патологічних змін у матці, що спостерігаються у корів з постпереперальним метритом, токсичним післяпологовим метритом чи піометрою, може не спостерігатися клінічна відповідь на лікування шляхом внутрішньоматкової інфузії. Одною з причин може бути те, що ці захворювання значно зменшують поглинання тканиною матки антимікробного агента (Gustafsson & Ott, 1981; Bretzlaff et al., 1983).

Зважаючи на наведені вище аргументи, серед вчених та фахівців ветеринарної медицини поширена думка, що виправданим застосуванням антимікробних препаратів для внутрішньоматкової інфузії є неважкий, легкий перебіг післяродового метриту та профілактика ендометриту після післяродових ускладнень, таких як субінволюція матки чи затримка посліду. Отримані результати застосування препаратів окситетрацикліну для санації матки корів після оперативного відділення посліду підтверджують цю думку.

Висновки

1. Антибіотик тетрациклінового ряду окситетрациклін є засобом етіотропної терапії бактеріальних інфекцій з широким спектром антимікробної дії, що включає більшість грампозитивних та грамнегативних бактерій. Окситетрациклін зберігає високий рівень бактеріостатичної активності по відношенню до мікроорганізмів, збудників післяродового ендометриту у корів.

2. Антимікробні препарати для інтраутерального застосування на основі окситетрацикліну є ефективними засобами санації матки після оперативного відділення посліду в корів. Їх застосування запобігає розвитку клінічного ендометриту в післяродовий період, що своєю чергою поліпшує репродуктивні можливості молочного стада.

3. За терапевтичною ефективністю при оперативному лікуванні затримання посліду в корів препарат “Геоміцин вет” не поступався препарату порівняння “Геоміцин ф”. Уведення до схеми медикаментозної профілактики ендометриту після відділення посліду

для санації матки у корів запропонованих препаратів забезпечило 100 % одужання тварин.

4. Задовільними виявились показники відтворної здатності корів після лікування: 100 % самок запліднились у дослідних групах після осіменіння. Коротшим на 15–17 діб був сервіс-період у корів дослідних груп порівняно з контрольною групою.

Відомості про конфлікт інтересів.

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

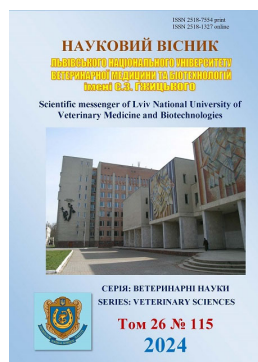
References

- Armengol, R., & Fraile, L. (2015). Comparison of two treatment strategies for cows with metritis in high-risk lactating dairy cows. *Theriogenology*, 83(8), 1344–1351. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2015.01.024.
- Aronson, A. L. (1980). Pharmacotherapeutics of the newer tetracyclines. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 176(10 Spec No), 1061–1068. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7216873>.
- Arriola A. (2001). Product monographs, in Arriola A (ed): *Compendium of Veterinary Products*, ed 6.
- Bennett, K. (1995). Oxytetracycline (Oxytetra -A, Dominion). *Compendium of veterinary products*. 4th ed. Hensall, ON: North American Compendiums Inc.
- Bicalho, R. C., Machado, V. S., Bicalho, M. L., Gilbert, R. O., Teixeira, A. G., Caixeta, L. S., & Pereira, R. V. (2010). Molecular and epidemiological characterization of bovine intrauterine *Escherichia coli*. *Journal of dairy science*, 93(12), 5818–5830. DOI: 10.3168/jds.2010-3550.
- Bolinder, A., Seguin, B., Kindahl, H., Bouley, D., & Otterby, D. (1988). Retained fetal membranes in cows: Manual removal versus nonremoval and its effect on reproductive performance. *Theriogenology*, 30(1), 45–56. DOI: 10.1016/0093-691x(88)90262-2.
- Bouters, R., & Vandeplasseche, M. (1977). Postpartum infection in cattle: Diagnosis and preventive and curative treatment. *J S Afr Vet Assoc*, 48, 237–239. URL: https://journals.co.za/doi/pdf/10.10520/AJA00382809_4011.
- Bretzlaff, K. N., Ott, R. S., Koritz, G. D., Bevil, R. F., Gustafsson, B. K., & Davis, L. E. (1983). Distribution of oxytetracycline in genital tract tissues of postpartum cows given the drug by intravenous and intrauterine routes. *American journal of veterinary research*, 44(5), 764–769. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6869980>.
- Brooks, G. (2000). Comparison of two intrauterine treatments for bovine endometritis. *The Veterinary record*, 146(1), 25. DOI: 10.1136/vr.146.1.25.
- Bruun, J., Ersbøll, A. K., & Alban, L. (2002). Risk factors for metritis in Danish dairy cows. *Preventive veterinary medicine*, 54(2), 179–190. DOI: 10.1016/s0167-5877(02)00026-0.
- Curtis, C. R., Erb, H. N., Sniffen, C. J., Smith, R. D., & Kronfeld, D. S. (1985). Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *Journal of dairy science*, 68(9), 2347–2360. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(85)81109-7.

- Drillich, M., Klever, N., & Heuwieser, W. (2007). Comparison of two management strategies for retained fetal membranes on small dairy farms in Germany. *Journal of dairy science*, 90(9), 4275–4281. DOI: 10.3168/jds.2007-0131.
- Drillich, M., Mahlstedt, M., Reichert, U., Tenhagen, B. A., & Heuwieser, W. (2006). Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. *Journal of dairy science*, 89(2), 627–635. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72126-9.
- Drillich, M., Pfützner, A., Sabin, H. J., Sabin, M., & Heuwieser, W. (2003). Comparison of two protocols for the treatment of retained fetal membranes in dairy cattle. *Theriogenology*, 59(3-4), 951–960. DOI: 10.1016/s0093-691x(02)01132-9.
- Dyrendahl, I., Mattson, J., & Pehrson, B. (1977). Retained placenta in cattle -- incidence, clinical data and effects on fertility. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe A*, 24(7), 529–541. DOI: 10.1111/j.1439-0442.1977.tb01603.x.
- Erb, R. E., Hinze, P. M., Gildow, E. M., & Morrison, R. A. (1958). Retained fetal membranes: the effect on prolificacy of dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 133(10), 489–496. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13598670>.
- Földi, J., Kulcsár, M., Pécsi, A., Huyghe, B., de Sa, C., Lohuis, J. A., Cox, P., & Huszenicza, G. (2006). Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal reproduction science*, 96(3-4), 265–281. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2006.08.006.
- Fourichon, C., Seegers, H., Bareille, N., & Beaudeau, F. (1999). Effects of disease on milk production in the dairy cow: a review. *Preventive veterinary medicine*, 41(1), 1–35. DOI: 10.1016/s0167-5877(99)00035-5.
- Fourichon, C., Seegers, H., & Malher, X. (2000). Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*, 53(9), 1729–1759. DOI: 10.1016/s0093-691x(00)00311-3.
- Ghallab, R. S., El-Karim, D. R. S. G., Fayed, A. H., & Rashad, A. M. A. (2023). Efficiency of conventional and nanoparticle oxytetracycline in treatment of clinical endometritis in postpartum dairy cows. *Tropical animal health and production*, 55(2), 118. DOI: 10.1007/s11250-023-03536-0.
- Gilbert, R. O., & Schwark, W. S. (1992). Pharmacologic considerations in the management of peripartum conditions in the cow. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 8(1), 29–56. DOI: 10.1016/s0749-0720(15)30759-3.
- Goshen, T., & Shpigel, N. Y. (2006). Evaluation of intrauterine antibiotic treatment of clinical metritis and retained fetal membranes in dairy cows. *Theriogenology*, 66(9), 2210–2218. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.07.017.
- Gupta, S., Kumar, H., & Soni, J. (2005). Effect of Vitamin E and selenium supplementation on concentrations of plasma cortisol and erythrocyte lipid peroxides and the incidence of retained fetal membranes in crossbred dairy cattle. *Theriogenology*, 64(6), 1273–1286. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.03.008.
- Gustafsson, B. K. (1984). Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the uterus in large animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185(10), 1194–1198. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6392255>.
- Gustafsson, B. K., & Ott, R. S. (1981). Current trends in the treatment of genital infections in large animals. *Compend Contin Educ Pract Vet*, 3, 147–151.
- Haimel, P., Arlt, S., Borchardt, S., & Heuwieser, W. (2017). Antibiotic treatment of metritis in dairy cows- A meta-analysis. *Journal of dairy science*, 100(5), 3783–3795. DOI: 10.3168/jds.2016-11834.
- Hajurk, J., Nagy, J., Popelka, P., Rozemska, H., Sokol, J., Cabadaj, R., & Hura, V. (2003). Tetracycline concentration in blood and milk of cows following intrauterine treatment of acute or subacute/chronic endometritis. *Bull Vet Pulawy*, 47, 435–447.
- Holt, L. C., Whittier, W. D., Gwazdauskas, F. C., & Vinson, W. E. (1989). Early Postpartum Reproductive Profiles in Holstein Cows with Retained Placenta and Uterine Discharges. *Journal of Dairy Science*, 72(2), 533–539. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(89)79137-2.
- Joosten, I., Van Eldik, P., Elving, L., & Van der Mey, G. J. W. (1987). Factors related to the etiology of retained placenta in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 14(4), 251–262. DOI: 10.1016/0378-4320(87)90015-7.
- Julien, W. E., Conrad, H. R., Jones, J. E., & Moxon, A. L. (1976). Selenium and vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *Journal of dairy science*, 59(11), 1954–1959. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(76)84467-0.
- Kaczmarowski, M., Malinowski, E., & Markiewicz, H. (2004). Influence of various treatment methods on bacteriological findings in cows with puerperal endometritis. *Polish journal of veterinary sciences*, 7(3), 171–174. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15478861>.
- Khan, A., & Khan, M. Z. (1989). Efficacy of different antibiotics in the treatment of endometritis in Pakistan buffaloes. *J. Islamic Acad Sci*, 2(2), 153. URL: https://jag.journalagent.com/ias/pdfs/IAS_2_2_153.pdf.
- Königsson, K., Gustafsson, H., Gunnarsson, A., & Kindahl, H. (2001). Clinical and bacteriological aspects on the use of oxytetracycline and flunixin in primiparous cows with induced retained placenta and post-partal endometritis. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 36(5), 247–256. DOI: 10.1046/j.1439-0531.2001.00289.x.
- Kravtsiv, R. Y., Zakhariv, O. Ya., Semeniuk, V. I., & Turko, I. B. (2008). *Veterynarna mikrobiologiya. Posibnyk dlia vyshchykh navchalnykh zakladiv*. Lviv, LNUVMB imeni S.Z. Hzhyskoho (in Ukrainian).
- Kulasekar, K., Saravanan, D., Kumar, G., Srinivasan, R., & Senrayan, M. (2004). Efficacy of manual removal and parental antibiotic therapy for retained fetal membranes in cows. *Indian Journal of Animal Reproduction*, 25(2), 154–155. URL: <https://acspublisher.com/journals/index.php/ijar/article/view/6343>.
- Laven, R. A., & Peters, A. R. (1996). Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. *The Veterinary record*, 139(19), 465–471. DOI: 10.1136/vr.139.19.465.
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S., & Johnson, W. H.

- (2002). The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *Journal of dairy science*, 85(9), 2237–2249. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74303-8.
- Lee, L. A., Ferguson, J. D., & Galligan, D. T. (1989). Effect of disease on days open assessed by survival analysis. *Journal of dairy science*, 72(4), 1020–1026. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79197-9.
- Machado, V. S., Bicalho, M. L., Meira Junior, E. B., Rossi, R., Ribeiro, B. L., Lima, S., Santos, T., Kussler, A., Foditsch, C., Ganda, E. K., Oikonomou, G., Cheong, S. H., Gilbert, R. O., & Bicalho, R. C. (2014). Subcutaneous immunization with inactivated bacterial components and purified protein of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* and *Trueperella pyogenes* prevents puerperal metritis in Holstein dairy cows. *PloS one*, 9(3), e91734. DOI: 10.1371/journal.pone.0091734.
- Malinowsky, E., Kuzma, K., Zietara, J., Nadotry, M., Niewiek, M. S., Nuliski, S., & Kaczmarowski, M. (2004) The use of gynobiotic in therapy and prophylaxis of endometritis in cows. In: *Proceedings 5th Middle-European Buiatrics*, CO, Poland, 165–169.
- Masera, J., Gustafsson, B. K., Afiefy, M. M., Stowe, C. M., & Bergt, G. P. (1980). Disposition of oxytetracycline in the bovine genital tract: systemic vs intrauterine administration. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 176(10 Spec No), 1099–1102. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7216880>.
- McDougall, S. (2001). Effects of periparturient diseases and conditions on the reproductive performance of New Zealand dairy cows. *New Zealand veterinary journal*, 49(2), 60–67. DOI: 10.1080/00480169.2001.36204.
- Melendez, P., Donovan, G. A., Risco, C. A., Littell, R., & Goff, J. P. (2003). Effect of calcium-energy supplements on calving-related disorders, fertility and milk yield during the transition period in cows fed anionic diets. *Theriogenology*, 60(5), 843–854. DOI: 10.1016/s0093-691x(03)00103-1.
- Miller, A. N., Williams, E. J., Sibley, K., Herath, S., Lane, E. A., Fishwick, J., Nash, D. M., Rycroft, A. N., Dobson, H., Bryant, C. E., & Sheldon, I. M. (2007). The effects of *Arcanobacterium pyogenes* on endometrial function in vitro, and on uterine and ovarian function in vivo. *Theriogenology*, 68(7), 972–980. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2007.07.013.
- Miller, H. V., Kimsey, P. B., Kendrick, J. W., et al. (1980). Endometritis of dairy cattle: Diagnosis, treatment, and fertility. *The Bovine Practitioner*, 15, 13–23. DOI: 10.21423/bovine-vol1980no15p13-23.
- Moller, K., Newling, P. E., Robson, H. J., Jansen, G. J., Meursinge, J. A., & Cooper, M. G. (1967). Retained foetal membranes in dairy herds in the Huntly district. *New Zealand veterinary journal*, 15(7), 111–116. DOI: 10.1080/00480169.1967.33707.
- Muller, L. D., & Owens, M. J. (1974). Factors associated with the incidence of retained placentas. *Journal of dairy science*, 57(6), 725–728. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(74)84956-8.
- NCCLS (2002). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, Approved Standard. 2nd Edition, NCCLS Document M31-A2 22(6), Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.
- Niskanen, R., Emanuelson, U., Sundberg, J., Larsson, B., & Alenius, S. (1995). Effects of infection with bovine virus diarrhoea virus on health and reproductive performance in 213 dairy herds in one county in Sweden. *Preventive Veterinary Medicine*, 23(3-4), 229–237. DOI: 10.1016/0167-5877(94)00437-n.
- Noakes, D. E., Wallace, L., & Smith, G. R. (1991). Bacterial flora of the uterus of cows after calving on two hygienically contrasting farms. *The Veterinary record*, 128(19), 440–442. DOI: 10.1136/vr.128.19.440.
- Paisley, L. G., Mickelsen, W. D., & Anderson, P. B. (1986). Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: A review. *Theriogenology*, 25(3), 353–381. DOI: 10.1016/0093-691x(86)90045-2.
- Pateria, A. K., Rawal, C. V. S., & Sharma, M. C. (1992). Studies on some clinic therapeutic aspects of metritis in buffaloes. *Buffalo Bull*, 11, 75–80.
- Peters, A. R., & Laven, R. A. (1996). Treatment of bovine retained placenta and its effects. *The Veterinary record*, 139(22), 535–539. DOI: 10.1136/vr.139.22.535.
- Rajala, P. J., & Gröhn, Y. T. (1998). Effects of dystocia, retained placenta, and metritis on milk yield in dairy cows. *Journal of dairy science*, 81(12), 3172–3181. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(98)75883-7.
- Righter, H. F., Mercer, H. D., Kline, D. A., & Carter, G. G. (1975). Absorption of antibacterial agents by the bovine involuting uterus. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 16(1), 10–15. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/45887>.
- Roberts, S. J. (1986). *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases*. Woodstock, 373–393.
- Roncada, P., Ermini, L., Schleuning, A., Stracciari, G. L., & Strocchia, A. (2000). Pharmacokinetics and residual behaviour in milk of oxytetracycline in cows following administration of uterine pessaries. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 23(5), 281–285. DOI: 10.1046/j.1365-2885.2000.00260.x.
- Ronning, M., Berousek, E. R., Kuhlman, A. H., & Gallup, W. D. (1953). The Carotene Requirements for Reproduction in Guernsey Cattle. *Journal of Dairy Science*, 36(1), 52–56. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(53)91455-6.
- Santos, T. M., Gilbert, R. O., & Bicalho, R. C. (2011). Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cows. *Journal of dairy science*, 94(1), 291–302. DOI: 10.3168/jds.2010-3668.
- Schmitt, E. J., Boucher J. F., Van den Eede, C. A., Chenault, J. R., Van Oye, S. N., & Maes, V. J. (2001). Comparison of clinical efficacy of ceftiofur and oxytetracycline for treatment of acute puerperal metritis in dairy cows. *Proceedings of the American Association of Bovine Practitioners*, 34, 199. DOI: 10.21423/aabppro20015271.
- Schukken, Y. H. (1989). Retained placenta and mastitis. *The Cornell veterinarian*, 79(2), 129–131. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2924576>.
- Schukken, Y. H., Erb, H. N., & Scarlett, J. M. (1989). A hospital-based study of the relationship between retained placenta and mastitis in dairy cows. *The*

- Cornell veterinarian, 79(4), 319–326. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2766745>.
- Shams-Esfandabadi, N., Shirazi, A., & Ghasemzadeh-Nava, H. (2004). Pregnancy rate following post-insemination intrauterine treatment of endometritis in dairy cattle. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, 51(3), 155–156. DOI: 10.1111/j.1439-0442.2004.00618.x.
- Sheldon, I. M., & Noakes, D. E. (1998). Comparison of three treatments for bovine endometritis. *The Veterinary record*, 142(21), 575–579. DOI: 10.1136/vr.142.21.575.
- Sheldon, I. M., Lewis, G. S., LeBlanc, S., & Gilbert, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516–1530. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2005.08.021.
- Singh, A. K., Aghtor, P. G., Singh, R. B., Singh, A. P., & Verma, S. B. (2001). Efficiency of treatment of endometritis with chemotherapeutic agents in cows and buffaloes. *Indian J Anim Reprod*, 2, 9–12.
- Stevens, R. D., & Dinsmore, R. P. (1997). Treatment of dairy cows at parturition with prostaglandin F2 alpha or oxytocin for prevention of retained fetal membranes. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(10), 1280–1284. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9373366>.
- Stravskyi, Ya. S., Stefanyk, V. Yu., Kostyshyn, Ye. Ye. ta. in. (2015). Etiolohiia, patohenez, diahnozyka ta metody likuvannia koriv, khvorykh na metryt. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten Instytutu biolohii tvaryn i Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu vetpreparativ ta kormovykh dobavok*, 16(1), 257–264. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt_2015_16_1_46 (in Ukrainian).
- Terblanche, H. M., Kritzing, L. J., & van Heerden, J. S. (1976). Induced parturition in cattle. 1. Clinical studies. *Journal of the South African Veterinary Association*, 47(2), 113–115. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/940094>.
- Thurmond, M. C., Jameson, C. M., & Picanso, J. P. (1993). Effect of intrauterine antimicrobial treatment in reducing calving-to-conception interval in cows with endometritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 203(11), 1576–1578. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8288482>.
- van Werven, T., Schukken, Y. H., Lloyd, J., Brand, A., Heeringa, H. T., & Shea, M. (1992). The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology*, 37(6), 1191–1203. DOI: 10.1016/0093-691x(92)90175-q.
- Wehrend, A., Reinle, T., Herfen, K., & Bostedt, H. (2002). Die Fetotomie beim Rind unter besonderer Berücksichtigung postoperativer Komplikationen--eine Auswertung von 131 Operationen [Fetotomy in cattle with special reference to postoperative complications--an evaluation of 131 cases]. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 109(2), 56–61. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11889843>.
- Whitacre, M. D. (1992). Intrauterine infusion in the postpartum dairy cow. *Vet Med*, 87, 376–381.
- Wischral, A., Nishiyama-Naruke, A., Curi, R., & Barnabe, R. C. (2001). Plasma concentrations of estradiol 17beta and PGF2alpha metabolite and placental fatty acid composition and antioxidant enzyme activity in cows with and without retained fetal membranes. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 65(2-3), 117–124. DOI: 10.1016/s0090-6980(01)00123-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

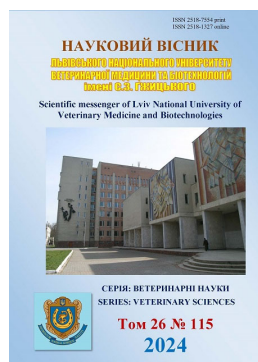
ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet115
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

Зміст

1. **Брезвин М. О., Коцюмбас І. Я., Ображей А. Ф., Веліченко О. Б., Шмичкова О. Б., Лук'яненко Т. В., Гиренко Д. В., Дмитрікова Л. В.**
Вивчення токсикологічних параметрів у лабораторних тварин за впливу гіпохлоритної кислоти в хронічному досліді 3
2. **Роман Л. Г., Улизько С. І., Зеленіна О. М., Склярів П. М., Безалтична О. А., Данкевич Н. І., Чорний В. А., Слюсаренко І. С.**
Еколого-токсикологічний скринінг безпечності питної води для тваринницьких підприємств Одеської області 11
3. **Передера Р. В., Передера О. О.**
Клінічні ознаки пододерматитів кролів та сезонна динаміка їх розвитку 20
4. **Бойчук Б. І., Карповський В. І., Гутий Б. В., Грищук І. А., Грищук А. В.**
Молочна продуктивність кіз за різного тонуусу автономної нервової системи 27
5. **Сідашова С. О., Гутий Б. В., Шнайдер В. Л., Тодорюк В. Б.**
Поширення хронічних латентних гінекологічних патологій молочних корів 31
6. **Хомин Н. М., Прицак В. В., Іглицький І. І., Цісінська С. В.**
Комплексне лікування копитець корів за унгуломікозу 42
7. **Васильків О. Б., Кухтин М. Д.**
Ідентифікація збудників маститу корів у господарствах Тернопільської області 51
8. **Остап'юк А. О., Гутий Б. В., Козенко О. В., Двилюк І. В., Щербатий А. Р., Мартишук Т. В., Магредо Н. В., Клим Г. В., Кремпа Н. Ю., Вус У. М., Висоцький А. О.**
Вплив розторопші плямистої, метіфену та силімевіту на протейносинтезувальну функцію печінки курей-несучок за кадмієвого навантаження 57
9. **Токар І. В., Стибель В. В., Гутий Б. В.**
Інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів у крові собак, інвазованих збудником токсокарозу 64
10. **Акимішин М. М., Кузьміна Н. В., Остапів Д. Д.**
Спектр ізозимів лактатдегідрогенази в тканині яєчників корів за різних фізіологічних станів та патологій 70
11. **Марченко В. В., Колечко А. В.**
Ефективність використання імунокомплексної вакцини “Новамун” при профілактиці хвороби Гамборо в птахівничому господарстві яєчного спрямування 75
12. **Хомин Н. М., Прицак В. В., Іглицький І. І.**
Обґрунтування патогенетичних механізмів унгуломікозу у корів 82
13. **Мушинський А. Б., Карчевська Т. М., Просяний С. Б., Керничний С. П., Савчук Л. Б.**
Шлунково-кишкові паразити у собак, аналіз поширеності та ефективність лікування 88
14. **Гунчак Р. В., Паньо Ю. П., Пепко В. О., Сачук Р. М., Кацараба О. А.**
Дослідження специфічної токсичності аналгетичного засобу для диких копитних тварин на основі мелоксикаму 93
15. **Гоцуляк М. М., Сахнюк В. В.**
Гіпокальціємія кітних і лактуючих кіз (поширення, етіологія, методи діагностики) 101

16. Кондратюк М. Л. Дослідження специфічної токсичності нестероїдного протизапального ветеринарного препарату на основі цефекоксибу	112
17. Дубова О. А., Фещенко Д. В., Дубовий А. А., Захарін В. В. Криптоспоридіоз цуценят: клініко-епізоотична характеристика	119
18. Бонюк Н. В., Щербентовська О. М. Вплив кормової добавки “Глобіген джамп старт” на окремі морфометричні показники слизової оболонки тонкого відділу кишечника поросят	126
19. Кушнір В. І. Вивчення токсичності дезінфікуючого засобу за нашкірного застосування	135
20. Тамчук Л. М., Масюк Д. М. Біорізноманіття мікроорганізмів у дванадцятипалій кишці курчат-бройлерів за дії коротко ланцюгових жирних кислот та моногліцеридів	140
21. Лабунська О.-Л. І., Гунчак В. М., Гутий Б. В., Солтис М. П. Дослідження гострої та підгострої токсичності імуностимулювального препарату на основі S-похідної 1,2,4-тріазолу	145
22. Чуприна М. І. Клінічний випадок маласезіозного отиту у собаки	153
23. Івашків Б. Б., Мисак А. Р. Мастоцитома шкіри у собак, комплексне лікування та виживаємість тварин	159
24. Єфімов В. Г., Білий Д. Д., Лещова М. О., Гуфрій Д. Ф. Біохімічний профіль крові та рівень ретинолу в печінці курчат-бройлерів за використання пробіотиків	175
25. Костишин Є. Є., Кацараба О. А., Костишин Л.-М. Є., Стецько Т. І., Островська Л. Л. Ефективність санації матки у корів препаратами окситетрацикліну після оперативного відділення посліду	181



**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/nvlvet115
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

Content

1. **Brezvyn O. M., Kotsiumbas I. Ya., Obrazzhei A. F., Velichenko O. B., Shmychkova O. B., Luk'yanenko T. V., Hyrenko D. V., Dmitrikova L. V.**
Study of toxicological parameters in laboratory animals under the influence of hypochloritic acid in a chronic experiment 3
2. **Roman L. H., Ulyzko S. I., Zelenina O. M., Skliarov P. M., Bezalychna O. A., Dankevich N. I., Chornyi V. A., Sliusarenko I. S.**
Ecological and toxicological screening of the safety of drinking water for livestock enterprises of Odesa region 11
3. **Peredera R. V., Peredera O. O.**
Clinical signs of rabbit pododermatitis and seasonal dynamics of their development 20
4. **Boyчук B. I., Karpovskiy V. I., Gutyj B. V., Hryshchuk I. A., Hryshchuk A. V.**
Milk production of goats with different tone of the autonomic nervous system 27
5. **Sidashova S. O., Gutyj B. V., Shnaider V. L., Todorciuk V. B.**
Distribution of chronic latent gynecological pathologies in dairy cows 31
6. **Khomyn N. M., Pritsak V. V., Ihliitskyi I. I., Tsisinska S. V.**
Complex treatment of hoof of cows for ungulomycosis 42
7. **Vasylykiv O., Kukhtyn M.**
Identification of causative agents of cow mastitis in farms of Ternopil region 51
8. **Ostapchuk A. O., Gutyj B. V., Kozenko O. V., Dvyluk I. V., Shcherbatyi A. R., Martyschuk T. V., Magrelo N. V., Klym H. V., Krempa N. Yu., Vus U. M., Vysotskyi A. O.**
The influence of milk thistle, metiphen, and sylimevit on the protein synthesis function of the liver of laying hens under cadmium load 57
9. **Tokar I. V., Stybel V. V., Gutyj B. V.**
Intensity of lipid peroxidation processes in the blood of dogs infected with the causative agent of toxocarasis 64
10. **Akymyshyn M. M., Kuzmina N. V., Ostapiv D. D.**
The spectrum of lactate dehydrogenase isozymes in ovarian tissue of cows under different physiological states and pathologies 70
11. **Marchenko V. V., Kolehko A. V.**
Effectiveness of the use of immune complex vaccine “Novamune” in the prevention of Gamboro's disease in egg poultry farming 75
12. **Khomyn N. M., Pritsak V. V., Ihliitskyi I. I.**
Justification of pathogenetic mechanisms of ungulomycosis in cows 82
13. **Mushynskiy A. B., Karchevska T. M., Prosyanyi S. B., Kernychnyi S. P., Savchuk L. B.**
Gastrointestinal parasites of dogs, analysis of prevalence and treatment efficacy 88
14. **Hunchak R. V., Pano Y. P., Pepko V. O., Sachuk R. M., Katsaraba O. A.**
Investigation of the specific toxicity of an analgesic agent for wild ungulates based on meloxicam 93
15. **Hotsuliak M. M., Sakhniuk V. V.**
Hypocalcaemia in pregnant and lactating goats (distribution, etiology, diagnostic methods) 101
16. **Kondratyuk M. L.**
Investigation of the specific toxicity of a non-steroidal anti-inflammatory veterinary drug based on celecoxib 112

17.	Dubova O. A., Feshchenko D. V., Dybovyi A. A., Zakharin V. V.	
	Cryptosporidiosis in puppies: clinical and epizootical characteristics	119
18.	Boniuk N. V., Shchebentovska O. M.	
	The effect of the feed supplement “Globigen jump start” on the morphometric parameters of the small intestinal mucosa of piglets	126
19.	Kushnir V. I.	
	Determination of the toxicity of a disinfectant by dermal application	135
20.	Tamchuk L. M., Masiuk D. M.	
	Biodiversity of microorganisms in the duodenum of broiler chickens under the influence of short-chain fatty acids and monoglycerides	140
21.	Labunska O.-L. I., Hunchak V. M., Gutyj B. V., Soltys M. P.	
	Study of acute and subacute toxicity of an immunostimulating drug based on the S-derivative of 1,2,4-triazole	145
22.	Chupryna M. I.	
	Clinical case of Malassezia otitis media in a dog	153
23.	Ivashkiv B. B., Mysak A. R.	
	Skin mastocytoma in dogs, complex treatment and survival of animals	159
24.	Yefimov V. H., Bilyi D. D., Lieshchova M. A., Gufrij D. F.	
	Biochemical blood profile and retinol levels in liver broiler chickens with the use of probiotics ...	175
25.	Kostyshyn Ye., Katsaraba O., Kostyshyn L.-M., Stetsko T., Ostrovska L.	
	Effectiveness of uterus sanitation in cows with oxytetracycline drugs after surgical separation of the placentae	181

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 26 № 115

Підписано до друку 25.09.2024. Формат 60x84/8
Гарн. Times New Roman. Папір офсетний № 1. Ум. друк. арк. 24,18
Наклад 300 прим. Зам. № 25/09.

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