

ISSN 2663-1156 (Print)
ISSN 2663-1164 (Online)

Theoretical and Applied Veterinary Medicine

Volume 6(3), 2018

Aims and scope. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine* – науковий журнал, що публікує рецензовані оригінальні дослідження в галузі ветеринарної медицини та тваринництва. Журнал акцентує увагу на різних аспектах патології, онкології, морфології, фізіології та біохімії тварин, внутрішніх хвороб тварин, інфекційної та інвазійної патології, ветеринарної хірургії та акушерства, гігієни, санітарії та експертизи, технології виробництва та переробки продукції тваринництва, годівлі, розведенні сільськогосподарських тварин.

Журнал входить до “Переліку наукових фахових видань України” (група В), у яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора та кандидата наук (ветеринарні, сільськогосподарські науки).

Founder – Dnipro State Agrarian and Economic University.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Голова редакційної колегії:

П. М. Гаврилін, професор, д. вет. н., кафедра нормальної і патологічної анатомії сільськогосподарських тварин, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Заступники голови редакційної колегії

А.-Ф. Табаран, доктор ветеринарної медицини, доктор філософії, кафедра патології, діагностичного розтину, криміналістики і онкології, Університет сільського господарства і ветеринарної медицини, Клуж-Напока, Румунія

Мухамед А. М. Аلسафі, професор, доктор наук, кафедра анатомії і ембріології, Александрійський університет, Александрія, Єгипет

Відповідальний секретар

М. О. Лещова, доцент, к. вет. н., кафедра нормальної і патологічної анатомії сільськогосподарських тварин, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Члени редакційної колегії

А. Амніаталаб, доктор ветеринарної медицини, доктор філософії, Ісламський університет Азад, Урмійська філія, Іран

В. С. Бомко, професор, д. с.-г. н., кафедра технології кормів, кормових добавок і годівлі тварин, Білоцерківський національний аграрний університет, Біла Церква, Україна

О. Г. Гавриліна, доцент, к. вет. н., кафедра паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

В. А. Грищенко, професор, д. вет. н., кафедра біохімії і фізіології тварин ім. акад. М.Ф. Гулого, Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

В. О. Євстаф'єва, професор, д. вет. н., кафедра паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи, Полтавська державна аграрна академія, Полтава, Україна

В. Г. Єфімов, доцент, к. вет. н., кафедра фізіології і біохімії тварин, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

М. Зідан, професор, доктор наук, кафедра гістології, Александрійський університет, Александрія, Єгипет

О. Т. Куцан, професор, член-кореспондент НААН, д. вет. н., відділ токсикології, безпеки та якості сільськогосподарської продукції, Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини, Харків, Україна

Д. М. Масюк, професор, к. вет. н., Науково-дослідний центр біобезпеки і екологічного контролю ресурсів АПК, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Р. В. Милостивий, доцент, к. вет. н., кафедра технології переробки продукції тваринництва, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

М. А. Таулеску, доктор ветеринарної медицини, доктор філософії, кафедра патології, діагностичного розтину, криміналістики і онкології, Університет сільського господарства і ветеринарної медицини, Клуж-Напока, Румунія

О. М. Черненко, професор, д. с.-г. н., кафедра технології годівлі і розведення тварин, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

Т. Ярикре, доктор ветеринарної медицини, доктор філософії, Університет Ібаданський університет, Ібадан, Нігерія

Literary Editors: M. P. Honcharenko, S. H. Pustovharova.

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief:

Prof. *P. M. Gavrilin*, D. Sc., Department of Normal and Pathological Anatomy of Agricultural Animals, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Deputy Editors:

As. Prof. *Alexandru-Flaviu Tabaran*, DVM, PhD, Department of pathology, diagnostic destruction, criminology and oncology, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj Napoca, Romania

Prof. *Mohamed A. M. Alsafy*, BVSC, MVSD, PhD, Department of Anatomy and Embryology, Alexandria University, Alexandria, Egypt

Executive Editor

As. Prof. *Maryna O. Lieshchova*, Ph. D., Department of Normal and Pathological Anatomy of Agricultural Animals, Dnipro State Agrarian and Economics University, Dnipro, Ukraine

Editorial board

Prof. *Amir Amniattalab*, DVM, PhD., Department of Pathology, Islamic Azad University, Urmia Branch, Iran

Prof. *V. S. Bomko*, D. Sc., Department of Technology of Feeding and Breeding Animals, Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

As. Prof. *O. G. Gavrilina*, PhD., Department of Parasitology, Veterinary and Sanitary Expertise, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Prof. *V. A. Gryshchenko*, D. Sc., Department of Biochemistry named after Academician M.F. Guly, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Prof. *V. O. Yevstafyeva*, D. Sc., Department of Parasitology, Veterinary and Sanitary Expertise, Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine

As. Prof. *V. G. Yefimov*, PhD., Department of Physiology and biochemistry of animals, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Prof. *Mohamed Zidan*, D. Sc., Department of Histology, Alexandria University, Alexandria, Egypt

Prof. *O. Kutsan*, D. Sc., NAASU Corresponding Member, Head of the Department for Toxicology, Safety and Quality of Agricultural Products, National scientific center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”, Kharkiv, Ukraine

Prof. *D. M. Masiuk*, PhD, SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

As. Prof. *R. Milostiviy*, PhD, Department of Agricultural Products Processing Technologies, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

As. Prof. *Marian Aurel Taulescu*, Lecturer, DVM, PhD, Department of Pathology, Diagnostic Destruction, Criminology and Oncology, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj Napoca, Romania

Prof. *O. M. Chernenko*, D. Sc., Department of Technology of Feeding and Breeding Animals, Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

As. Prof. *Theophilus Jarikre*, DVM, MVSc, University of Ibadan, Ibadan, Nigeria

Cover Design, Text Layout: M. O. Lieshchova, V. O. Oleksenko

Approved by the Scientific Council of Dnipro State Agrarian and Economic University.

Certificate of state registration – KB 23411-1325 1P from 08.06.2018 year.

Address of the Editorial Office: Dnipro State Agrarian and Economic University, Serhii Efremov Str., 25, Dnipro, 49000, Ukraine.

Phone: + 38-(066)-256-24-86

E-mail: bulletin.biosafety@gmail.com

Web: <https://bulletin-biosafety.com>

+ 38-(097)-366-04-87

Original researches

Mammary Glandular Secretion of Cows Depending on the Duration of Dry Period

Received: 20 April 2018
Revised: 27 April 2018
Accepted: 15 June 2018

Poltava State Agrarian Academy,
Scovorodu Str., 1a, Poltava, 30003, Ukraine

Sumy National Agrarian University, Gerasima
Kondrateva Str., 160, Sumy, 40021, Ukraine

Tel.: +38-053-222-28-93
+38-054-262-78-45

E-mail: ganavar@gmail.com
kambur.m.d@gmail.com

Cite this article: Zamazyi, A. A., Kambur, M. D., & Lermontov, A. Y. (2018). Mammary glandular secretion of cows depending on the duration of dry period. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 6(3), 3–6. doi: 10.32819/2018.63001

A. A. Zamazyi¹, M. D. Kambur², A. Y. Lermontov¹
¹Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine
²Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Abstract. The article presents data on the study of peculiarities of mammary glandular secretion of cows depending on the duration of dry period. The duration of dry period of cows affects the secretive function of mammary gland tissues in the newborn period, the deposition of energy in the body, the growth and development of the fetus and the composition of milk. The reduction of dry period is followed by high activity of mammary gland tissues of cows, which adversely affected the body weight of cows and newborn calves. The data obtained on the mammary glandular secretion tissues of cows, depending on the duration of dry period, indicate a negative effect of this factor on the productivity of animals. The use of NAA showed a drastic decrease by the end of lactation period, but the arteriovenous difference decreased by 1.58 times compared to the beginning of the lactation period and was 1.18 times higher than the arteriovenous difference of NAA in the control group. In cows of the third experimental group, the duration of dry period was 45–49 days. The adsorptive activity of mammary gland during the end of lactation corresponded to the parameters of the 6th–7th month of lactation. The intensive use of volatile fatty acids, acetic acid, β -hydroxybutyric acid in mammary gland tissues was established to be 1.28 times, 1.32 times and 1.44 times higher than in the control group animals respectively. Metabolites of lipid metabolism during this period were intensively absorbed by the mammary gland of cows of the third experimental group, which negatively affected the body weight of cows and newborn calves by 1.16–1.24 times less than those of the control group.

Keywords: cows; secretion; mammary gland; dry period.

Секретоутворююча функція молочної залози корів залежно від тривалості сухостійного періоду

A. A. Замазій¹, М. Д. Камбур², А. Ю. Лермонтов¹
¹Полтавська державна аграрна академія, м. Полтава, Україна
²Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Анотація. Встановлено, що тривалість сухостійного періоду корів впливає на секретоутворюючу функцію тканин молочної залози в новотільний період, депонування енергії в організмі, ріст і розвиток плода та склад молока. Скорочення сухостійного періоду супроводжується збереженням високої активності тканин молочної залози корів, що негативно відбилося на масі тіла корів і новонароджених телят. Отримані дані щодо секретоутворюючої функції тканин молочної залози корів залежно від тривалості сухостійного періоду свідчать про негативний вплив даного фактора на продуктивність тварин. Використання неетирифікованих жирних кислот уповільнювалося до закінчення періоду лактації, однак артеріовенозна різниця знижувалася в 1,58 раза порівняно з початком періоду завершення лактації і була в 1,18 раза більша, ніж у корів контрольної групи. У корів III дослідної групи тривалість сухостійного періоду становила 45–49 діб. Адсорбуюча активність молочної залози в період завершення лактації відповідала показникам шостого–сьомого місяця лактації. Визначено інтенсивне використання тканинами молочної залози корів легких жирних кислот, оцтової та β -оксимасляної кислот, відповідно, в 1,28; 1,32 та 1,44 раза більше, ніж у тварин контрольної групи. Метаболіти ліпідного обміну в цей період інтенсивніше поглиналися молочною залозою корів III дослідної групи, що негативно вплинуло на масу їх тіла і новонароджених телят, а саме: в 1,16–1,24 раза менше, порівняно з показниками тварин контрольної групи.

Ключові слова: корови; секретоутворююча функція; молочна залоза; сухостій.

Вступ

Забезпечення високої продуктивності корів не можливо без урахування взаємозв'язку процесів в організмі тільних тварин.

Вони направлені на підтримання гомеостазу власного організму, ріст і розвиток плоду та секретоутворюючу функцію тканин молочної залози (Miettinen & Huhtanen, 1996; Zamazyi et al., 2018).

Біосинтез компонентів молока і натепер залишається недостатньо вивченим питанням. Особливо цей процес не досліджено в критичні періоди життєдіяльності тварин, коли необхідно забезпечити речовинами та метаболітами обміну речовин, змінюючи направленість потоків поживних речовин з метою регуляції усіх процесів, які відбуваються в організмі (Górová et al., 2011; Mayasari et al., 2016).

Складність вивчення даної проблеми полягає в тому, що дослідники й практики базуються у своїх дослідженнях на загальноприйнятих постулатах і не враховують багатоскладність, одномоментність перебігу тих чи інших процесів за умов фізіологічної норми. Все це свідчить про актуальність досліджень секретуючої функції тканин молочної залози корів на межі критичних періодів існування організму (Ouattara et al., 2016).

Аналіз даних щодо біосинтезу компонентів молока дозволяє стверджувати про багатогранність і складність цього процесу, особливо в період завершення лактації в сухостій. Доведено, що біосинтез молекул поліпептидних ланцюгів альфа- і бета-казеїну, а також альфа- і бета-лактоальбумінів здійснюється на рибосомах ендоплазматичної ретикулярної сітки, на відміну від імунних глобулінів і альбумінів молочної сироватки, які без змін надходять із крові в молоко (Kambur et al., 2009).

Однак дані стосовно відмінностей у складі фізико-хімічних властивостей молока, молочної залози, печінки, рубця, сітки дають змогу вважати, що альбуміни в організмі синтезуються не тільки в печінці, а і в інших органах, у тому числі в молочній залозі. Ряд дослідників вважають, що молочна залоза синтезує від 10% до 20% альбумінів (Amos et al., 2014). Результати досліджень деяких авторів свідчать про те, що альбумін сироватки крові надходить у молоко в частково зміненому вигляді. Наголошується, що включення у синтез компонентів молока залежить від рівня забезпеченості організму поживними речовинами (Smoczyński, 2017). Доведено, що зниження рівня протеїнового білка, забезпечення організму корів за стадіями лактації супроводжується виділенням загального білка у відтікаючу кров на рівні 0,80 г/л у першу стадію; 1,47 г/л – у другу, на баланс загального білка за означених умов по молочній залозі – 0 г/л у третю (DePeters et al., 2001). Результати дослідження артеріовенозної різниці крові лактуючих жуйних тварин довели, що синтез молочного білка забезпечується в основному за рахунок адсорбції тканинами молочної залози вільних амінокислот із плазми крові. Недостатнє надходження в молочну залозу амінокислот компенсується синтезом їх у клітинах молочної залози з глюкози, низькомолекулярних органічних кислот або за рахунок виділення їх з тканинних білків (Van Hoesel et al., 2017).

Амінокислоти, що потрапляють із крові в молочну залозу проникають у її тканини з різною ефективністю. Потреба в амінокислотах повинна визначатися з урахуванням споживання корму (обмінної енергії), розподілом енергії між тканинами організму, молока, складу молока та періоду лактації. Тому період лактації необхідно враховувати, так як показники продуктивності попередньої можуть впливати на наступну молочну продукцію. Це в повній мірі відповідає результатам, які свідчать про значний вплив тривалості періоду лактації і сухостійного періоду на подальшу секретуючу активність тканин молочної залози (Machado et al., 2012; Marey et al., 2016).

Поряд з цим джерелом азоту для синтезу амінокислот можуть бути деякі фракції водорозчинних тканинних білків самої молочної залози, які названі компенсаторними або резервними білками (Sheldon et al., 2009; 2014).

До сих пір складною і суперечливою залишається думка дослідників із питання синтезу молочного жиру. У молочному жирі виявлено 60–64 жирні кислоти, але детально вивчені лише 18 із них. У синтезі молочного жиру беруть участь нейтральні жири та вільні жирні кислоти. Незважаючи на те, що їх кількість у крові невелика, вони мають важливе значення, бо володіють високою метаболічною активністю.

Деякі автори експериментально довели наявність у молочній залозі активної ферментативної системи синтезу ненасичених жирних кислот із насичених (Cheong et al., 2016). При цьому знайдений корелятивний зв'язок між рубцевими метаболітами та процесом синтезу молочного жиру в жуйних тварин.

Дослідники вважають, що, по-перше, синтез молочного жиру відбувається у жировій міжальвеолярній тканині молочної залози з подальшим переходом в альвеолярний епітелій, де відбуваються синтез триацилгліцеридів і утворення жирових кульок. Другим джерелом для біосинтезу молочного жиру є гліцерин, який утворюється з глюкози безпосередньо в молочній залозі або надходить до неї з крові.

У секреторному процесі молочної залози важлива роль належить механізму, який регулює осмотичну рівновагу між молоком і плазмою крові. Від співвідношення лактози, як осмотично активної речовини, і розчинних солей залежить ізоосмотичність молока та крові, що є обов'язковою умовою синтезу складових компонентів молока (Kambur et al., 2009).

Проте поза увагою науковців залишилася проблема щодо особливостей синтезу компонентів молока в період завершення лактації, забезпечення у цей час пасивними речовинами тканин молочної залози для секретування. Саме вивчення цих актуальних питань і стало метою нашої роботи.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили в умовах державного науково-дослідного господарства Сумського інституту АПВ «Сад», кафедри анатомії нормальної та патологічної фізіології Сумського національного аграрного університету.

З метою дослідження особливостей секретуючого процесу тканинами молочної залози корів залежно від тривалості сухостійного періоду було сформовано чотири групи коріваналогів по 10 тварин. До I (контрольної) групи віднесені тварини сухостійного періоду, який становив не менше 55 діб. У корів II (дослідної) групи тривалість сухостійного періоду дорівнювала від 50 до 55 діб, у III (дослідній) групі – від 45 до 49 діб. До IV (дослідної) групи входили корови з тривалістю сухостійного періоду менше 45 діб.

Поживними речовинами тварин дослідних груп забезпечували за рахунок згодовування силосу кукурудзяного, сіна люцерни, сіна різноотрав'я, дерті ячмінної, макухи соєвої, кормового буряку, соломи пшеничної в осінньо-зимовий та зимо-весняний періоди року.

Відбір корів проводили з урахуванням часу останнього їх осіменіння. За 21 добу до початку сухостійного періоду послідовно знижували видоювання молока, в такий спосіб, щоб сухостійний період становив не менше 55 діб, а корів зі сухостійним періодом 50–55 діб віднесли до II (дослідної) групи. У III та IV (дослідних) груп запуск корів відбувся у фізіологічний спосіб.

По мірі формування дослідних груп тварин протягом часу завершення лактації, сухоостою та новотільного періоду досліджували використання тканинами молочної залози попередників для синтезу складових молока. Для цього проводили відбір проб крові з хвостової артерії та молочної вени від п'яти корів кожної групи з інтервалом у 3 год щодоби, тобто восьмизразово.

У зразках крові визначили вміст легких жирних кислот методом відгонки в апарат Маркгама з подальшим титруванням; оптової кислоти – мікродифузним методом у чашках Конвея з подальшим титруванням, загального білка – рефрактометричним і біоремовим методом (Волгін У. І., Жебровський Л. С., 1974); β-оксимасляної кислоти – за Енгфельдом у модифікації Лейшеса С. М. та Одиної А. І. (Аншинов У. Я., Блинов П. Н., 1991); глюкози – методом Нікілла (Хіварінена А. М., 1994; Горячківський А. М., 1994); неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК) – за Думкомбе (1968 р.), сумарної фракції фос-

фоліпідів триацилгліцеридів – шляхом маспектрального аналізу у відділі № 20 Інституту прикладної фізики НАН України.

Під час проведення експериментальних досліджень дотримувались міжнародних вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.), та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV від 21.06.2006 р.

Отриманий цифровий матеріал оброблений статистично з визначенням середньої арифметичної (M), статистичної помилки середньої арифметичної (m), вірогідності різниці (p) між середніми арифметичними двох варіаційних рядів за критерієм достовірності (t) і за таблицями Стьюдента. Різницю між двома величинами вважали вірогідною при $P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$.

Результати та їх обговорення

Отримані дані щодо секретотворюючої функції тканин молочної залози корів залежно від тривалості сухостійного періоду свідчать про негативний вплив скорочення тривалості даного фактора на продуктивність тварин.

Встановлено, що у корів контрольної групи тканини молочної залози в період завершення лактації послідовно знижували поглинання легких жирних кислот (табл. 1), зокрема, оцтової кислоти та β -оксимаєляної кислоти в 1,18 разів ($p < 0,05$). Артеріовенозна (AB) різниця загального білка до кінця періоду завершення лактації практично становила $0,1 \pm 0,001$ г/л. Тканини молочної залози корів контрольної групи послідовно знижували поглинання глюкози в періодах завершення лактації.

По неетерифікованих жирних кислотах артеріовенозна різниця знижувалася протягом періоду завершення лактації у 2,10 разів ($p < 0,01$), що свідчить про інтенсивне використання їх у процесі депонування енергії. Подібна динаміка використання встановлена по сумарній фракції фосфоліпідів і триацилгліцеридів.

У тварин II дослідної групи динаміка використання попередників для синтезу компонентів молока тканинами молочної залози відрізнялася від такого процесу корів контрольної

(табл. 2). На початку досліджень тканини молочної залози корів поглинали 39,1% оцтової кислоти та підвищували її поглинання до 42,0% протягом доби.

Скорочення часу сухостійного періоду супроводжувалося збереженням активності адсорбції попередників тканинами молочної залози корів для синтезу секрету. Поглинальна здатність тканин молочної залози тварин виявилася по відношенню до легких жирних кислот 7,8% оцтової кислоти в 1,12 разів ($p < 0,05$), а β -оксимаєляної кислоти в 1,18 разів ($p < 0,05$) більше, ніж у корів контрольної групи.

Використання неетерифікованих жирних кислот характеризувалося чітким зниженням до закінчення періоду лактації, однак артеріовенозна різниця знижувалася у 1,58 разів порівняно з початком періоду завершення лактації ($p < 0,01$) і була в 1,18 разів більша, ніж даний показник корів контрольної групи.

У корів III дослідної групи тривалість сухостійного періоду становила 45–49 днів. Адсорбуюча активність молочної залози в період завершення лактації відповідала показникам шостого місяця лактації.

Виявлено інтенсивне використання тканинами молочної залози корів легких жирних кислот, оцтової і β -оксимаєляної кислоти, тобто, в 1,28 разів ($p < 0,01$); 1,32 разів ($p < 0,01$) та 1,44 разів ($p < 0,01$), відповідно, більше, ніж тканинами молочної залози тварин контрольної групи.

Метаболіти ліпідного обміну в цей період інтенсивніше поглиналися молочною залозою корів III дослідної групи, що негативно відбилося на масі тіла корів та новонароджених телят (в 1,16–1,24 разів менше ($p < 0,01$), ніж дані показники корів контрольної групи). У корів IV дослідної групи секретотворююча функція тканин молочної залози виявилася більш активною. До кінця періоду завершення лактації вони поглинали всі метаболіти вірогідно більше, ніж молочної залози корів контрольної групи (табл. 3). Легкі жирні кислоти вони адсорбували в 1,38 разів, оцтову кислоту в 1,48 разів, β -оксимаєляну кислоту в 1,24 разів інтенсивніше, ніж тканини молочної залози корів контрольної групи ($p < 0,01$).

Неетерифіковані жирні кислоти, сумарну фракцію фосфоліпідів і триацилгліцеролів тканини молочної залози корів IV дослідної групи поглинали в 1,18; 1,26 та 1,32 разів активніше,

Таблиця 1. Використання легких жирних кислот молочною залозою в період завершення лактації (контрольна група; $M \pm m$; $n = 5$)

№ проби	Артеріальна кров, ммоль/л	Венозна кров, ммоль/л	Артеріовенозна різниця,	
			ммоль/л	%
1	$0,84 \pm 0,016$	$0,42 \pm 0,016$	$0,42 \pm 0,016$	50,0
2	$0,98 \pm 0,016$	$0,56 \pm 0,010$	$0,42 \pm 0,016$	42,9
3	$1,48 \pm 0,016^*$	$0,96 \pm 0,037^*$	$0,52 \pm 0,022$	35,1
4	$1,58 \pm 0,016^*$	$1,02 \pm 0,033^*$	$0,56 \pm 0,016^*$	35,4
Середнє	$1,22 \pm 0,016^*$	$0,74 \pm 0,026^*$	$0,48 \pm 0,018$	39,3

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем.

Таблиця 2. Використання оцтової кислоти молочною залозою корів другої стадії лактації II групи ($M \pm m$; $n = 5$)

№ проби	Артеріальна кров, ммоль/л	Венозна кров, ммоль/л	Артеріовенозна різниця,	
			ммоль/л	%
1	$14,06 \pm 0,071$	$8,57 \pm 0,051$	$5,49 \pm 0,080$	39,1
2	$14,56 \pm 0,028$	$8,44 \pm 0,028$	$6,12 \pm 0,049$	42,0
3	$15,38 \pm 0,028$	$8,89 \pm 0,037$	$6,49 \pm 0,051$	42,2
4	$15,92 \pm 0,028^*$	$9,18 \pm 0,024$	$6,74 \pm 0,037^*$	42,3
Середнє	$14,98 \pm 0,039$	$8,77 \pm 0,035$	$6,21 \pm 0,054^*$	41,5

Примітка: див. табл. 1.

Таблиця 3. Використання легких жирних кислот молочною залозою корів третьої стадії лактації IV дослідної групи (M ± m; n = 5)

№ проби	Артеріальна кров, ммоль/л	Венозна кров, ммоль/л	Артеріовенозна різниця,	
			ммоль/л	%
1	0,75 ± 0,001	0,28 ± 0,043	0,47 ± 0,045	62,7
2	1,04 ± 0,022	0,36 ± 0,016*	0,68 ± 0,029*	65,4
3	1,42 ± 0,010*	0,56 ± 0,008*	0,86 ± 0,009	60,6
4	1,64 ± 0,027*	1,00 ± 0,008*	0,64 ± 0,038	39,0
Середнє	1,21 ± 0,018*	0,55 ± 0,019*	0,66 ± 0,030	56,9

Примітка: див. табл. 1.

ніж у тварин контрольної групи ($p < 0,01$), а загальний білок та глюкози виділяли у відтікаючу кров. Така функціональна активність тканин молочних залоз корів IV дослідної групи знизила депонування енергії в організмі корів, плода та вплинула на молочну продуктивність корів і склад молока. Продуктивність корів цієї групи за перший період лактації виявилася на 9,8% менше, вміст жиру в молоці після отелення на 10,4%, а маса тіла новонароджених телят на $3,20 \pm 0,40$ кг менше, ніж у корів контрольної групи.

Дослідження даної проблеми дозволяє виявити фізіологічну тривалість сухостійного періоду зі збереженням здоров'я корів за отримання життєздатного приплоду.

Висновки

Тривалість сухостійного періоду корів впливає на секреторуючу функцію тканин молочної залози в новотільний період, на депонування енергії в організмі, ріст і розвиток плода в сухостійний період та склад молока в наступну лактацію.

Скорочення сухостійного періоду до 45–49 днів супроводжується збереженням високої активності тканин молочної залози тварин, що негативно відображається на масі тіла корів і новонароджених телят, яке виявилось у 1,16 та 1,24 раза менше, відповідно, ніж значення показників корів контрольної групи.

В умовах тривалості сухостійного періоду в корів менш 45 днів секреторуюча функція тканин молочної залози в новотільний період знижується на 9,8%, меншають уміст жиру на 10,4%, а маса тіла новонароджених телят на $3,20 \pm 0,40$ кг, ніж у корів контрольної групи.

References

Amos, M. R., Healey, G. D., Goldstone, R. J., Mahan, S. M., Düvel, A., Schuberth, H.-J., Sandra, O., Zieger, P., Dieuzy-Labayé, I., Smith, G. E., & Sheldon, I. M. (2014). Differential endometrial cell sensitivity to a cholesterol-dependent cytolysin links *truperella pyogenes* to uterine disease in cattle. *Biology of Reproduction*, 90(3), 1–13.

Cheong, S. H., Filho, O. G. S., Absalón-Medina, V. A., Pelton, S. H., Butler, W. R., & Gilbert, R. O. (2016). Metabolic and endocrine differences between dairy cows that do or do not ovulate first postpartum dominant follicles. *Biology of Reproduction*, 94(1), 1–11.

DePeters, E. J., German, J. B., Taylor, S. J., Essex, S. T., & Perez-Monti, H. (2001). Fatty acid and triglyceride composition of milk fat from lactating holstein cows in response to supplemental canola oil. *Journal of Dairy Science*, 84(4), 929–936.

Górová, R., Pavlíková, E., Blaško, J., Mel'uchová, B., Kubinec, R., Margetin, M., & Soják, L. (2011). Temporal variations in fatty

acid composition of individual ewes during first colostrum day. *Small Ruminant Research*, 95(2–3), 104–112.

Kambur, M. D., Zamasiy, A. A., & Fedoruk, R. S. (2009). *Physiology of lactation and digestion*. Kozatsky Val, Sumy (in Ukrainian).

Machado, V. S., Oikonomou, G., Bicalho, M. L. S., Knauer, W. A., Gilbert, R., & Bicalho, R. C. (2012). Investigation of postpartum dairy cows' uterine microbial diversity using metagenomic pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Veterinary Microbiology*, 159(3–4), 460–469.

Marey, M. A., Yousef, M. S., Kowsar, R., Hambruch, N., Shimizu, T., Pfarrer, C., & Miyamoto, A. (2016). Local immune system in oviduct physiology and pathophysiology: attack or tolerance? *Domestic Animal Endocrinology*, 56, 204–211.

Mayasari, N., Rijks, W., de Vries Reilingh, G., Rummelink, G. J., Ducro, B., Kemp, B., Parmentier, H. K., & Van Kneegsel, A. T. M. (2016). The effects of dry period length and dietary energy source on natural antibody titers and mammary health in dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 127, 1–9.

Miettinen, H., & Huhtanen, P. (1996). Effects of the Ratio of Ruminant Propionate to Butyrate on Milk Yield and Blood Metabolites in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 79(5), 851–861.

Ouattara, B., Bissonnette, N., Duplessis, M., & Girard, C. L. (2016). Supplements of vitamins B9 and B12 affect hepatic and mammary gland gene expression profiles in lactating dairy cows. *BMC Genomics*, 17(1), 1–20.

Sheldon, I. M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., & Schuberth, H.-J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of Reproduction*, 81(6), 1025–1032.

Sheldon, I. M., Cronin, J. G., Healey, G. D., Gabler, C., Heuwieser, W., Strey, D., Bromfield, J. J., Miyamoto, A., Fergani, C., & Dobson, H. (2014). Innate immunity and inflammation of the bovine female reproductive tract in health and disease. *Reproduction*, 148(3), 41–51.

Smoczynski, M. (2017). Role of phospholipid flux during milk secretion in the mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 22(2), 117–129.

Van Hoeij, R. J., Dijkstra, J., Bruckmaier, R. M., Gross, J. J., Lam, T. J. G. M., Rummelink, G. J., Kemp, B., & van Kneegsel, A. T. M. (2017). The effect of dry period length and postpartum level of concentrate on milk production, energy balance, and plasma metabolites of dairy cows across the dry period and in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 100(7), 5863–5879.

Zamazyi, A., Kambur, M., Kolechko, A., Lermontov, A., & Butov, O. (2018). Employment biologically active preparation "Surfakta ZKF" in prophylactic hypoxia fetus and treatment of calves. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 5(4), 45–55.

Original researches

The Protein Metabolism in Pheasants when Using Vermiculture in Combined Feed Biomass

A. A. Geysun, L. M. Stepchenko

Dnipro State Agrarian and Economics University, Dnipro, Ukraine

Received: 25 May 2018

Revised: 04 June 2018

Accepted: 05 June 2018

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

Tel.: +38-056-373-73-31

E-mail: agejsun@ukr.net

Cite this article: Geysun, A. A.,
& Stepchenko, L. M. (2018). The protein
metabolism in pheasants when using
vermiculture in combined feed biomass.
Theoretical and Applied Veterinary Medicine,
6(3), 7–11. doi: 10.32819/2018.63002

Abstract. High-quality feeds with sufficient content of full protein are of great importance in fulfilling the biological needs of the bird organism. One way to supply poultry with natural organic protein is the use of a red Californian worm as a feed supplement for biomass. The aim of the research was to identify the effect of vermiculture feed supplement in the combined feed biomass on the state of protein metabolism of pheasants. In the first week of life, pheasants of the experimental group were added 1.5% of vermiculture feed supplement to the main feed biomass, and during the second week – 2.5%. Adding vermiculture feed supplement to the fodder increases the body weight growth of the bird, indicating the activation of protein metabolism in the body of animals. In the experimental group, pheasants were observed to have an average weight increase of 11.9% compared to the control group. The addition of vermiculture feed supplement causes the accumulation of total protein in the blood plasma of 28- and 35-day-old pheasants per 9.0% and 9.4% on average respectively, comparing to the blood index of the control group. It has been found out that during these age periods the amount of albumin in the blood of experimental pheasants increases by 10,6 and 9,4% respectively, compared to the control group, indicating the activation of the liver protein synthesizing function. The content of globulins in the blood of experimental pheasants at the age of 14, 28 and 35 days did not change. It has been proved that in the blood of birds of the experimental group of 35-day-old age urinary acid content increases by 21,9% compared to the control group. It was also established that adding feed vermiculture supplement increases the content of creatinine in the blood of birds of the 28th and 35th day of age by 16,3 and 19,8%, respectively, compared to same indices of the control group. Adding feed vermiculture supplement positively correlated the content of total protein with poultry weight, with the correlation coefficient $r = 0.95$ ($P < 0,001$). The use of vermiculture feed supplement derived from the biomass of red Californian worms grown on a nutrient substrate containing the biologically active additive Humilid leads to the activation of protein metabolism and increased the productivity of pheasants. A promising area of research is the study of the effects of vermiculture feed supplement, which was obtained from the biomass of red Californian worms grown on a substrate containing on qualitative parameters of poultry meat.

Keywords: red Californian worm; protein; poultry; albumin; globulin; blood.

Білковий обмін у фазанів за використання в складі комбікормів біомаси вермикультури

A. A. Гейсун, Л. М. Степченко

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

Анотація. Важливе значення у забезпеченні біологічних потреб організму птиці мають високоякісні корми з достатнім умістом повноцінного білка. Одним зі шляхів забезпечення птиці природним органічним білком є використання як кормової добавки біомаси червоного каліфорнійського черв'яка. Виявлений вплив кормової добавки вермикультури у складі комбікормів на стан білкового обміну фазанят. На першому тижні життя фазанятам дослідної групи додавали 1,5% кормової добавки вермикультури від основного комбікорму, на другому тижні – 2,5%. Застосування кормової добавки вермикультури до комбікормів фазанят сприяє росту маси тіла птиці, що свідчить про активацію білкового обміну в організмі. У дослідних групах фазанят спостерігали зростання середньої маси тіла на 11,9% порівняно з контрольною групою. Згодування кормової добавки вермикультури обумовлює накопичення загального білка в плазмі крові фазанят 28- та 35-добового віку в середньому на 9,0% та 9,4% відповідно щодо показника крові птиці контрольної групи. У ці вікові періоди кількість альбуміну в крові дослідних фазанят зростала відповідно на 10,6% та 9,4% відносно контролю, що свідчить про активацію білоксинтезувальної функції печінки. Вміст глобулінів у крові дослідних фазанят протягом вікових періодів 14, 28 та 35 днів не змінювався. У крові птиці дослідної групи 35-добового віку на 21,9% зростав уміст сечової кислоти. За умов згодування кормової добавки вермикультури вміст креатиніну в крові фазанят 28- та 35-добового віку зріс відповідно на 16,3% та 19,8% до цього показника у птиці контрольної групи. За умови годування фазанів кормовою добавкою вермикультури вміст загального білка крові позитивно корелює з

масою птиці, коефіцієнт кореляції становить $r = 0,95$ ($P < 0,001$). Застосування кормової добавки вермикультури, отриманої з біомаси червоних каліфорнійських черв'яків, вирощених на поживному субстраті з умістом біологічно активної добавки, у складі комбікормів, сприяє активації процесів білкового обміну та підвищенню продуктивності фазанят.

Ключові слова: червоний каліфорнійський черв'як; загальний білок; птиця; альбуміни; глобуліни; кров.

Вступ

Підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин можливо лише за умов максимального забезпечення біологічних потреб організму. При цьому важливе значення мають високоякісні корми з достатнім умістом повноцінного білка, застосування якого позитивно впливає на системи організму птиці та забезпечує одержання високоякісної продукції птахівництва (Blair, 2008; Alagawany et al., 2016; Elwinger et al., 2016; Wang et al., 2016; Yefimov et al., 2017). На жаль, ресурси тваринного білка є обмежені. Відомо, що біомаса вермикультури містить понад 60% повноцінного білка (Mashkin & Merzlov, 2015). Додавання до поживного субстрату оптимальної кількості Гуміліду сприяє зниженню вмісту важких металів у біомасі вермикультури відносно контролю (Gejsun & Stepchenko, 2016). Важливо застосовувати корми для сільськогосподарської птиці з кормовими добавками, що отримані з біомаси червоних каліфорнійських черв'яків. Використання саме кормових добавок у раціоні перепелів і курчат-бройлерів приводить до підвищення продуктивності (Vu et al., 2009; Vovkogan & Merzlov, 2014; Dumont et al., 2017; Istiqomah et al., 2017).

Фазанів відносять до нещодавно одомашнених диких птахів, це стрес-чутлива та схильна до порушення обміну речовин птиця (Cain et al., 1984; Bondarenko, 2002). Однак відомостей про вплив кормових добавок вермикультури під час вирощування фазанів недостатньо (Stepchenko et al., 2017). Тому дослідження впливу біомаси червоних каліфорнійських черв'яків, вирощених на поживному субстраті з умістом біологічно активних речовин гумінового походження, як кормової добавки під час вирощування фазанів є актуальним.

Мета – оцінити вплив кормової добавки вермикультури у складі комбікормів на стан білкового обміну у фазанят.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили в умовах ПрАТ «Агро-Союз», на базі виробничого комплексу з вирощування фазана мисливського. Для експерименту використовували фазанят від добового до 35-добового віку, з яких було сформовано 2 аналогічні групи: контрольну та дослідну (50 фазанят у кожній групі). Від першої доби до 21-ої та з 22-ої до 35-ої доби фазанята отримували основні комбікорми з умістом сирого протеїну 24,5% та 21,1% відповідно. Птиці дослідної групи до основного комбікорму вводили кормову добавку вермикультури, отриману з біомаси червоних каліфорнійських черв'яків, вирощених на субстраті з умістом біологічно активної добавки Гумілід (табл. 1). Під час додавання висушеної біомаси вермикультури використовували метод вагового дозування та багатоступеневого змішування.

На першому тижні життя фазанятам дослідної групи додавали 1,5% кормової добавки вермикультури від основного комбікорму, на другому тижні – 2,5%. Масу птиці визначали один раз у 7 діб у контролі та досліді методом прямого зважування. Біологічний матеріал для біохімічних досліджень відбирали на 14, 28, 35-ту добу досліді відповідно до правил біоетики (Страсбург, 1986; Київ, 2001).

Біохімічні показники крові (загальний білок, альбуміни, сечову кислоту та креатинін) визначали на автоматичному біохімічному аналізаторі «Miura 200» (Італія) з використанням наборів реагентів High Technology (США), PZ Cormay S.A. (Польща) та Spinreact S.A. (Іспанія), глобуліни – методом розрахунку.

Обробку отриманих результатів досліджень проводили з використанням загальноприйнятих методів варіаційної статистики.

Результати та їх обговорення

Із додаванням фазанятам кормової добавки вермикультури зростає маса тіла птиці в середньому на 12% ($p < 0,01$) відносно контрольної групи (рис. 1). За результатами досліджень ряду авторів кормова добавка вермикультури у складі комбікормів птиці приводить до зростання маси тіла тварин у середньому на 7,0% (Vovkogan & Merzlov, 2014). Накопичення маси птиці у віковий період 14, 21, 28 та 35 діб свідчить про активацію анаболічної фази обміну речовин.

Уміст загального білка крові у 14-добових фазанят дослідної групи не відрізнявся від цього показника у птиці контрольної (табл. 2). У фазанят дослідної групи 28-добового віку вміст загального білка крові зріс на 9,0% ($p < 0,05$) порівняно з контролем. На кінець дослідження (35-та доба) даний показник фазанят, які споживали кормову добавку вермикультури разом із комбікормом, збільшився на 9,4% ($p < 0,01$) порівняно з кров'ю птиці контрольної групи, що свідчить про активацію білоксинтезувальної функції печінки (Bahadori et al., 2017).

У віковий період 14 діб рівень альбумінів у крові дослідної групи птиці не змінювався та становив у середньому 15,8 г/л. У віковий період 28 та 35 діб концентрація альбумінів у крові дослідних фазанят зростає відповідно на 10,6% ($p < 0,05$) та 9,4% ($p < 0,05$) порівняно з показниками птиці контрольної групи, що підтверджує активацію процесів синтезу білків крові в гепатоцитах печінки.

Уміст глобулінів у крові фазанят протягом досліджування вікових періодів 14, 28 та 35 діб практично не змінювався. Подібні результати отримані при додаванні кормової добавки вермикультури до комбікорму курчат-бройлерів, яка вірогідно підвищувала вміст загального білка та альбумінів у крові птиці. У той самий час кількість глобулінів у плазмі крові дослідної птиці не відрізнялася від контрольної. Аналогічні результати отримані й іншими авторами (Bahadori et al., 2017).

Таблиця 1. Схема задавання кормової добавки вермикультури фазанятам

Період	Контрольна група	Дослідна група
Перший тиждень (1–7 доба)	Основний комбікорм	Основний комбікорм + кормова добавка вермикультури 1,5% від основного комбікорму
Другий тиждень (8–14 доба)	Основний комбікорм	Основний комбікорм + кормова добавка вермикультури 2,5% від основного комбікорму
Третій–п'ятий тиждень (15–35 доба)	Основний комбікорм	Основний комбікорм

Таблиця 2. Біохімічні показники крові молодняку фазанів за додавання кормової добавки вермикультури до комбікорму ($M \pm m$, $n = 5$)

Показник	Віковий період, доба					
	14		28		35	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
Загальний білок, г/л	27,4 ± 1,40	26,08 ± 0,37	33,2 ± 0,37	36,2 ± 1,20*	34,2 ± 0,58	37,4 ± 0,51**
Альбуміни, г/л	16,2 ± 0,86	15,4 ± 0,68	18,8 ± 0,49	20,8 ± 0,66*	19,2 ± 0,66	21,0 ± 0,32*
Глобуліни, г/л	11,2 ± 0,58	11,2 ± 0,43	14,4 ± 0,51	15,4 ± 0,81	15,0 ± 0,71	16,4 ± 0,24
Сечова кислота, мкмоль/л	258,6 ± 27,98	259,4 ± 41,56	289,0 ± 18,85	276,4 ± 6,52	283,4 ± 20,29	345,6 ± 16,89*
Креатинін, мкмоль/л	23,2 ± 3,89	24,6 ± 1,03	32,0 ± 1,09	37,2 ± 1,39*	32,4 ± 0,87	8,8 ± 1,85*

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ відносно контролю.

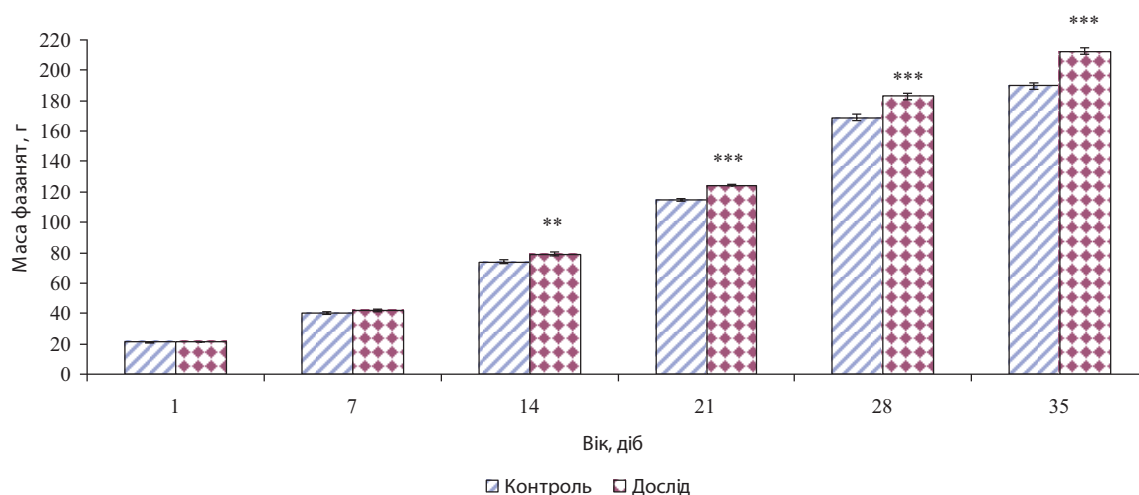


Рис. 1. Динаміка накопичення середньої маси фазанят

Збільшення вмісту альбумінів у крові досліджуваних фазанят, які споживали кормову добавку вермикультури, пов'язано з активацією синтезу білка в печінці тварин. Показники, що характеризують стан білкового обміну, зростають на 28 та 35-ту добу досліджень.

Уміст сечової кислоти в крові дослідних фазанят 14- та 28-добового віку не відрізнявся від контрольних значень. У 35-добовому віці рівень сечової кислоти в птиці дослідної групи зріс на 21,9% ($p < 0,05$) відносно контролю, що свідчить про накопичення м'язової маси та прискорений обмін амінокислот в організмі фазанят на раціоні з біомасою вермикультури.

Рівень креатиніну в крові досліджуваних фазанят у 14-добовому віці майже не відрізнявся від контрольних. Після додавання біомаси вермикультури до основного комбікорму дослідної групи спостерігали збільшення рівня креатиніну в крові фазанят 28- та 35-добового віку відповідно на 16,3 ($p < 0,05$) та 19,8% ($p < 0,05$) порівняно з показниками в контрольній групі. Отже, таке підвищення у крові фазанят креатиніну також може свідчити про збільшення м'язової маси в дослідній групі.

Загальний білок є одним із показників крові, який характеризує стан білкового обміну в організмі тварин. Проведення кореляційного аналізу встановило, що в птиці контрольної

групи 14-добового віку вміст загального білка корелює з масою фазанят ($r = 0,82$). При цьому залежність умісту загального білка в сироватці крові контрольних фазанят від їх маси описується лінійним рівнянням регресії з достовірністю апроксимації $R^2 = 0,666$ (рис. 2, а).

В умовах згодовування фазанят кормової добавки вермикультури залежність умісту загального білка плазми крові від маси тіла птиці збільшується. Коефіцієнт кореляції дорівнює $r = 0,95$, що свідчить про сильніший позитивний кореляційний зв'язок між цими показниками, ніж у групі без додавання вермикультури.

Закономірність вмісту білка крові птиці досліджуваної групи від її маси описується лінійним рівнянням регресії з достовірністю апроксимації $R = 0,893$ (рис. 2, б).

Таким чином, кореляційний аналіз показав, що за умови годування фазанів кормовою добавкою вермикультури вміст загального білка крові позитивно корелює з масою птиці, при цьому сила кореляційного зв'язку більша, ніж у контролі.

Отже, застосування кормової добавки вермикультури, що отримана з біомаси червоних каліфорнійських черв'яків, вирощених на поживному субстраті із вмістом у складі комбікормів призводить до активації процесів білкового обміну та підвищення продуктивності фазанят.

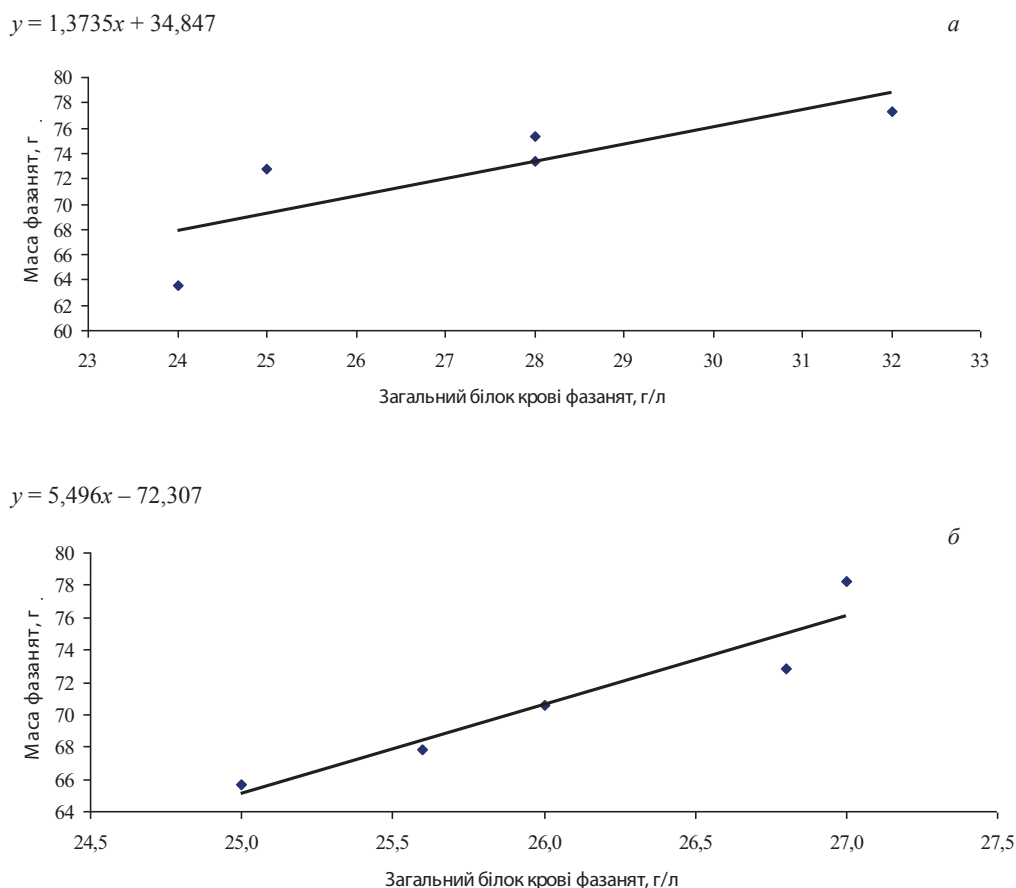


Рис. 2. Залежність кількості загального білка крові фазанят 14-добового віку від їх маси тіла: а – контрольна група; б – дослідна

Висновки

Кормова добавка вермикультури, яка отримана з біомаси червоних каліфорнійських черв'яків, вирощених на поживному субстраті з умістом біологічно активної добавки Гумілід, активізує процеси білкового обміну фазанят, що проявляється збільшенням умісту загального білка, альбумінів, креатиніну в крові птиці 28- і 35-добового віку та сечової кислоти на 35 добу дослідження. Уміст глобулінів у крові досліджуваних фазанят залишався однаковим.

У дослідних групах фазанів спостерігали інтенсивніший ріст середньої маси тіла відносно контролю. Вміст загального білка крові позитивно корелює з масою птиці. Кореляційний аналіз підтвердив наявність тісних зв'язків між показниками загального білка плазми крові та маси тіла фазанят за умови годівництва їм кормової добавки вермикультури.

Перспективи подальших розробок: вивчення впливу кормової добавки вермикультури, отриманої з біомаси червоних каліфорнійських черв'яків, вирощеної на субстраті з умістом Гуміліду, на якісні показники м'яса птиці.

References

- Alagawany, M., El-Hack, M. E. A., Farag, M. R., Tiwari, R., Sachan, S., Karthik, K., & Dhama, K. (2016). Positive and Negative Impacts of Dietary Protein Levels in Laying Hens. *Asian Journal of Animal Sciences*, 10(2), 165–174.
- Bahadori, Z., Esmailzadeh, L., Karimi-Torshizi, M. A., Seidavi, A., Olivares, J., Rojas, S., Salem, A. Z. M., Khusro, A. & López, S. (2017). The effect of earthworm (*Eisenia foetida*) meal with vermi-humus on growth performance, hematology, immunity, intestinal microbiota, carcass characteristics, and meat quality of broiler chickens. *Livestock Science*, 202, 74–81.
- Blair, R. (Ed.). (2008). *Nutrition and feeding of organic poultry*. CAB International, Trowbridge.
- Bondarenko, S. P. (2002). *Soderzhanie fazanov*. Stalker, Doneck (in Ukrainian).
- Cain, J. R., Weber, J. M., Lockamy, T. A., & Creger, C. R. (1984). Grower Diets and Bird Density Effects on Growth and Cannibalism in Ring-Necked Pheasants. *Poultry Science*, 63(3), 450–457.
- Dumont, M. A., Pinheiro, S. R. F., Miranda, J. A., Pinto, F. M. P., Dias, P. C., & Moreira, J. (2017). Crude protein in diets of european quails. *Ciência Animal Brasileira*, 18(0).
- Elwinger, K., Fisher, C., Jeroch, H., Sauveur, B., Tiller, H., & Whitehead, C. C. (2016). A brief history of poultry nutrition over the last hundred years. *World's Poultry Science Journal*, 72(04), 701–720.
- Geysun, A. A., & Stepchenko, L. M. (2016). Doslidzhennia vplyvu Humilidu na kontaminatsiiu vazhkymy metalamy produktiv vermytekhnohii [Study of Humilid impact on contamination of vermitechnology products by heavy metals]. *Tehnologija virobництва i prerobki produktiv tvarinnictva*, 2(129), 68–74 (in Ukrainian).

- Istiqomah, L., Sakti, A. A., Suryani, A. E., Karimy, M. F., Anggraeni, A. S., & Herdian, H. (2017). Effect of feed supplement containing earthworm meal (*Lumbricus rubellus*) on production performance of quail (*Coturnix coturnix japonica*). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 101, 012032.
- Mashkin, J. O., & Merzlov, S. V. (2015). Vermykultyvuvannia – alternatyvnyi sposib oderzhannia bilkovo-mineralnoi kormovoi dobavky [Wormycultivation as an alternative method for producing mineral-protein feed additive]. *Tehnologîa virobnictva i pererobki produktiv tvarinnictva*, 2, 132–135 (in Ukrainian).
- Stepchenko, L. M., Geysun, A. A. & Haluzina, L. I. (2017). Efektyvnist zastosuvannia biomasy vermykultury, shcho otrymana z vykorystanniam Humilidu u hodivli molodniaku fazanu myslivskoho [Efficiency of the use of the biomass of vermiculture, which has been received with the use of Humilid in the feeding of the young pheasant hunting]. *Problems of Zooengineering and Veterinary Medicine*, 34(2), 105–109 (in Ukrainian).
- Vovkogon, A. G. & Merzlov, S. V. (2014). Efektyvnist zastosuvannia zbahachenoï Yodom biomasy vermykultury u skladi kombikormiv dlia kurchat-broileriv [Efficiency of application of iodized enriched vermiculture biomass in composition of mixed fodders for broiler chickens]. *Suchasne Ptahvnyctvo*, 7(140), 8–10 (in Ukrainian).
- Vu, D. T., Han, Q. H., Nguyen, D. L., & Nguyen, V. D. (2009). Use of redworms (*Perionyx excavatus*) to manage agricultural wastes and supply valuable feed for poultry. *Livestock Research for Rural Development*. 21(11), 192–199.
- Wang, X., Zhang, H., Wang, H., Wang, J., Wu, S., & Qi, G. (2016). Effect of dietary protein sources on production performance, egg quality, and plasma parameters of laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(3), 400–409.
- Yefimov, V., Kibalchenko, V., Zavrina, S., & Spivak, M. (2017). Mineral content of bones of chickens Cross Cobb-500 and Ross-308 of different age. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 5(1), 118–124 (in Ukrainian).

Original researches

Experimental Application of Probiotics for Organic Chicken Growth

M. D. Kucheruk, R. I. Bilik, M. V. Ignatovska
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Received: 29 May 2018
Revised: 08 June 2018
Accepted: 11 June 2018

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

Tel.: +38-066-245-80-34
E-mail: kucheruk_md@nubip.edu.ua

Cite this article: Kucheruk, M. D., Bilik, R. I.,
& Ignatovska, M. V. (2018). Experimental
application of probiotics for organic chicken
growth. *Theoretical and Applied Veterinary
Medicine*, 6(3), 12-17.
doi: 10.32819/2018.63003

Abstract. The article is devoted to the description and testing of a new probiotic preparation based on *Lactobacillus plantarum* AMT 12 in laboratory and production conditions. The search for an alternative to prophylactic antibiotics for animal farming remains an acute issue nowadays. In particular, the marketplace of organic farming needs alternative medications since preventive antibiotics are prohibited for use in organic animal husbandry. In this respect microbiological preparations like probiotics are a promising field of research and implementation. Laboratory tests of the culture, morphological and antagonistic properties of the probiotic preparation based on *Lactobacillus plantarum* AMT 12 were conducted, and an *in vivo* study was conducted on chickens infected with test cultures of pathogenic microorganisms. A production test of preventive probiotics in organic farming was also carried out. It is established that the drug meets the criteria that apply to probiotic preparations. According to the results of the laboratory experiment, the evident antagonistic effect of the drug against pathogenic microorganisms was established. The tests of the drug on experimentally infected poultry showed a prophylactic effect of probiotics. Since probiotics belong to the group of biological and natural prophylactic drugs, the probiotic *Lactobacillus plantarum* AMT 12 was tested in conditions of organic poultry farming. The number of risks for free-range chickens in the conditions of organic farming is much higher than with traditional poultry farming, in particular with respect to infection with pathogens of infectious diseases. It has been established that the use of a probiotic preparation on the basis of *Lactobacillus plantarum* AMT 12 for the preventive purpose improves twice the safety of the birds in the conditions of organic poultry farming. Thus, this probiotic can be used as an alternative to the prophylactic use of antibiotics in traditional and organic poultry industry of Ukraine.

Keywords: probiotic; organic livestock breeding; poultry farming; chicken broilers.

Експериментальне застосування пробіотичного препарату для органічного вирощування курей

М. Д. Кучерук, Р. І. Білик, М. В. Ігнатівська
Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

Анотація. Описано випробування в лабораторних і виробничих умовах пробіотичного препарату на основі *Lactobacillus plantarum* AMT 12. Пошук альтернативи профілактичним антибіотикам для тваринництва залишається гострим питанням сьогодення. Особливо відчувають необхідність в альтернативних препаратах оператори органічного ринку, які займаються органічним тваринництвом, де профілактичні антибіотики заборонені до використання. Перспективними є мікробіологічні препарати – пробіотики. Проведено лабораторні випробування культуральних, морфологічних і антагоністичних властивостей пробіотичного препарату на основі *Lactobacillus plantarum* AMT 12; досліджено *in vivo* на курчатах, експериментально заражених тестовими культурами патогенних мікроорганізмів. Здійснено виробничі випробування профілактичного пробіотику в органічному птахогосподарстві. Він відповідає критеріям, що висувають до пробіотичних препаратів, і володіє вираженою антагоністичною дією відносно патогенних мікроорганізмів. Випробування препарату на експериментально зараженій птиці показало профілактичну дію пробіотику. Оскільки пробіотики відносяться до групи біологічних і натуральних профілактичних препаратів, досліджений препарат випробувано в умовах органічного господарства на птиці. Кількість ризиків за вільновигульного утримання курчат в умовах органічного господарства значно більша, ніж за традиційного вирощування птиці, зокрема щодо зараження збудниками інфекційних захворювань. З'ясовано, що застосування пробіотичного препарату на основі *Lactobacillus plantarum* AMT 12 із профілактичною метою вдвічі покращує збереженість птиці в умовах органічного птахогосподарства. Зазначений пробіотик можна використовувати як альтернативу профілактичному застосуванню антибіотиків для галузі традиційного та органічного птахівництва України.

Ключові слова: пробіотик; органічне тваринництво; птахівництво; курчата-бройлери.

Вступ

В Україні, як і в усьому світі, споживачі, що переймаються питанням харчування екологічно чистими та безпечними продуктами, готові платити більше за впевненість у цьому. Невипадково сертифікована продукція користується попитом. Крім того, органічне харчування – це широко розповсюджений тренд в Європі та Америці. Пов'язано це передусім з усвідомленням негативного впливу діяльності людини на навколишнє середовище, агроценози та безпосередньо на здоров'я людей (Engering et al., 2013; Nakonov et al., 2016; Kim et al., 2017). Виробникам необхідно поступово переорієнтуватися на менш інтенсивні технології та частково повернутися до традиційного виробництва.

Органічне виробництво передбачає раціональне поєднання традиційних та інноваційних методів і засобів ведення господарства заради збереження навколишнього середовища, оздоровлення населення, збереження біорізноманіття видів і гуманного ставлення до тварин (Закон України про основні принципи та вимоги до органічного виробництва обігу та маркування органічної продукції, № 2496-VIII, 2018).

Виробництво органічної продукції має стати економічно вигідним, а всім ризикам наука має протиставити обґрунтовані комплексні рішення (Castellini et al., 2002; Döring, 2017).

Значення санітарії та гігієни для органічного птахівництва є надзвичайно актуальним, оскільки протягом усього життя птиця має доступ до вигульних майданчиків із пасовищем. Разом із тим, аліментарна профілактика виникнення захворювань бактеріальної природи за органічного вирощування теж є необхідною (Abdullah & Buchtova, 2016). Оскільки профілактичні антибіотики за органічного вирощування птиці заборонені, та потрібні ефективні й доцільні препарати для профілактики хвороб і вирішення нагальних проблем при виробництві органічної продукції птахівництва (Kucheruk et al., 2017).

Для запобігання захворюванню й падежу птиці в господарствах слід застосовувати профілактичні препарати, дозволені до використання правилами органічного виробництва. Перспективними є мікробіологічні препарати – пробіотики (Hui et al., 2017). Їх виробляють із натуральної сировини та застосовують в інтенсивному тваринництві, ветеринарній дієтології та нутриціології, вони не викликають побічних дій і нешкідливі в разі передозування (Fathi et al., 2017; Macelline et al., 2017; Cramer et al., 2018; Nedayati & Manafi, 2018). Пробіотики вдало поєднують у собі властивості коректорів мікрофлори кишечника та покращують травлення (Ashraf & Shah, 2014; Cash, 2014). Європейським законодавством використання профілактичних антибіотиків у тваринництві заборонене, тому українським виробникам продукції теж варто переглянути свої системи утримання й годівлі тварин, рухаючись до Європи (Tsilingiri et al., 2012).

Мета досліджень – випробування в умовах лабораторії та органічного господарства пробіотичного препарату, встановлення його впливу на мікроендоєкологічну рівновагу травного каналу курчат-бройлерів, з'ясування антагоністичних властивостей штаму *Lactobacillus plantarum* AMT 12.

Матеріал і методи досліджень

Препарат *Lactobacillus plantarum* AMT 12 (рис. 1) виробництва ТОВ «Лактофарм Україна» перевірено в ВЦ ДНКБІШМ за такими показниками: морфологічні властивості, культуральні властивості, наявність/відсутність бактеріальної та грибової контамінації, визначення концентрації життєздатних бактерій та антагоністичної активності *in vitro*.

Морфологічні властивості встановлювали забарвленням за Грамом мазків, виготовлених з одностодової культури *Lactobacillus plantarum* AMT 12. Культуральні властивості визначали шляхом культивування *Lactobacillus plantarum* AMT 12

у рідкому поживному середовищі – MRS-бульйоні та рідкому середовищі Рогози, на щільному поживному середовищі. Відсутність бактеріальної та грибової контамінації – загальноприйнятими методами згідно з ДСТУ 4483:2005. Антагоністичну активність штаму *Lactobacillus plantarum* AMT 12 визначали методом штрихів. Концентрацію життєздатних бактерій у препараті встановлювали шляхом титрування на рідкому поживному середовищі MRS-бульйоні та Рогози з кроком 10 та останнім висівом із розведень (105, 106, 107) по 0,1 см на тверде середовище MRS-агар та Рогози (3 чашки Петрі на кожне розведення). Через 24–48 годин культивування за температури (36 ± 1)°C проводили підрахунок життєздатних мікроорганізмів – КУО в 1 г препарату.

Антагоністичну активність штаму *Lactobacillus plantarum* AMT 12 встановлювали методом штрихів по діаметру чашки Петрі з поживним середовищем (MRS-агаром, Himedia).

Бактеріологічною петлею наносили штрихом 24-годинну культуру *Lactobacillus plantarum* AMT 12, інкубували 48 годин за температури 36,7 ± 0,3 °C, потім штрихом перпендикулярно культури *Lactobacillus plantarum* AMT 12 підсівали тест-штами: *Escherichia coli* ATCC 25922 (F-50), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC № 2853 (F), *Proteus vulgaris* FIX 19 № 222, *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, патогенні культури *Escherichia coli* 078 (виділено з патологічного матеріалу птиці), *Escherichia coli* 055 (виділено з патологічного матеріалу птиці), *Salmonella enterica subsp. enterica serovar enteritidis* 9v (виділено з патологічного матеріалу птиці), *Listeria monocytogenes* (виділена з патологічного матеріалу пти-



Рис. 1. Органічні компоненти комбікорму для курчат у виробничому досліді

ці). Інкубування зразків проводили 24 години за температури $36,7 \pm 0,3$ °C. Облік результатів проводили через 24 години за величиною зони затримки росту тест-штамів і патогенних культур у міліметрах.

Для випробування ефективності препарату *in vivo* проведено лабораторний дослід на курчатах-бройлерах кросу Ross 380 в умовах віварію ДНКІ-БШМ та науково-господарський дослід в умовах органічного господарства ФГ «Дача» (село Єлизаветівка Коростишівського району Житомирської області) на курчатах-бройлерах кросу Cobb 500 (табл. 1). Господарство є оператором, що здійснює виробництво продукції відповідно до вимог законодавства у сфері органічного виробництва, обігу та маркування органічної продукції.

В умовах лабораторного дослідження птахів утримували в клітках по 10 курчат, цикл вирощування – тривав 42 доби (табл. 2). Контрольна група птахів одержувала стандартний комбікорм + стандартна технологічна карта (антибіотики, кокцидіостатики тощо), а в інших – дослід, додавали для випоювання у воду (вволю) пробіотик *Lactobacillus plantarum* АМТ 12 у дозах (мінімальна доза становить 1 мл розчину; концентрація бактерій не менше 1×10^8 КУО/мл.), рекомендованих партнерами-розробниками. Випоювання проводили вранці (9.00–10.00 та ввечері 16.00–16.30).

Під час проведення науково-господарського дослідження забезпечували всі умови для органічного утримання курчат. Перед початком експерименту виготовляли дерев'яні будиночки та обгороджували територію вигульних майданчиків, використовували сітчасте накриття від хижої птиці. Спеціально розробляли раціон з органічних еконутрієнтів (якість кожного компонента раціону курчат підтверджувалася сертифікатами на органічну продукцію певного зразка).

Для визначення ефективності профілактичного пробіотичного препарату на основі культури *Lactobacillus plantarum* АМТ 12 в умовах органічного виробництва, за принципом аналогів із добових курчат сформували дві групи по 50 голів.

У першому приміщенні утримували контрольних курчат, яким згодовували органічний раціон з еконутрієнтів. Цикл вирощування 81 доба. Дослідним курчатам (друге приміщення) згодовували органічний корм і додавали у воду пробіотик у таких пропорціях: 1 мг/л води двічі на добу. Протягом 1 год цілком замінювали воду розчином пробіотику (табл. 2).

Антагоністичну активність препарату визначали *in vivo* в лабораторному досліді. Встановлювали видовий склад мікробіоценозу травного каналу курчат-бройлерів, виявляли домінуючі патогенні, умовно-патогенні та непатогенні мікроорганізми, вплив пробіотику на мікроендоєкологічну рівновагу. При цьо-

Таблиця 1. Схема випробування пробіотичного препарату (культури *Lactobacillus plantarum* АМТ12) курчатам-бройлерам кросу Ross 380

Група	Кількість голів	Склад випоювання	Доза препарату і кратність застосування
Контроль	10	Стандартний комбікорм + стандартна технологічна карта	-
Дослід 1	10	Стандартний комбікорм + пробіотик із першої доби згідно з настановою	У дозах (мінімальна доза становить 1 мл розчину; концентрація бактерій не менше 1×10^8 КУО/мл.), рекомендованих партнерами-розробниками
Дослід 2	10	Стандартний комбікорм + пробіотик із першої доби згідно з настановою + контрольне зараження <i>Escherichia coli</i> 055	У дозах (мінімальна доза становить 1 мл розчину; концентрація бактерій не менше 1×10^8 КУО/мл.), рекомендованих партнерами-розробниками; контрольне зараження <i>Escherichia coli</i> 055 в дозі $1,0 \times 10^9$ КУО/см ³
Дослід 3	10	Стандартний комбікорм + пробіотик із першої доби згідно з настановою + контрольне зараження <i>Escherichia coli</i> 078	У дозах (мінімальна доза становить 1 мл розчину; концентрація бактерій не менше 1×10^8 КУО/мл.), рекомендованих партнерами-розробниками; контрольне зараження <i>Escherichia coli</i> 078 у дозі $1,0 \times 10^9$ КУО/см ³
Дослід 4	10	Стандартний комбікорм + пробіотик із першої доби згідно з настановою + контрольне зараження <i>Salmonella enteritidis</i>	У дозах (мінімальна доза становить 1 мл розчину; концентрація бактерій не менше 1×10^8 КУО/мл.), рекомендованих партнерами-розробниками; контрольне зараження <i>Salmonella enteritidis</i> у дозі $5,0 \times 10^8$ КУО/см ³
Дослід 5	10	Стандартний комбікорм + пробіотик із першої доби згідно з настановою + контрольне зараження <i>Clostridium perfringens</i>	У дозах (мінімальна доза становить 1 мл розчину; концентрація бактерій не менше 1×10^8 КУО/мл.), рекомендованих партнерами-розробниками; контрольне зараження <i>Clostridium perfringens</i> у дозі $5,0 \times 10^8$ КУО/см ³

Таблиця 2. Схема випробування пробіотичного препарату (культури *Lactobacillus plantarum* АМТ12) курчатам-бройлерам кросу Cobb-500 в умовах виробництва

Група	Кількість голів	Склад випоювання	Доза препарату і кратність застосування
Контроль	50	Органічний корм	-
Дослід 1	50	Органічний корм + пробіотик з водою	1 мг/л води двічі на добу; протягом 1 год цілком замінювали воду розчином пробіотику в дозах (мінімальна доза – 1 мл розчину; концентрація бактерій не менше 1×10^8 КУО/мл.), рекомендованих партнерами-розробниками

му враховували також показники приросту маси тіла (у динаміці) та збереженість птиці. Кожен 10 днів проводили контрольне зважування курчат на електронних вагах.

Мікробіологічні дослідження мікрофлори травного каналу курчат проводили у ВЦ Державного науково-контрольного інституту біотехнології та штамів мікроорганізмів. Протягом експерименту в приміщеннях, де утримували курчат-бройлерів, щоденно визначали основні показники мікроклімату: температуру, освітленість, тривалість світлового дня, фронт годівлі та напування, щільність посадки. Зовнішній огляд курчат проводили з метою визначення загального клінічного стану, стану пір'я, очей і видимих слизових оболонок, рухливості, апетиту.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали з визначенням середнього арифметичного (M) та його стандартної похибки (m).

Результати та їх обговорення

У мазках, виготовлених з одностовової культури *Lactobacillus plantarum* AMT 12 та забарвлених за Грамом, виявляли грампозитивні короткі та довгі палички правильної форми, із заокругленими кінцями, поодинокі, попарно та в ланцюжках.

У рідкому поживному середовищі після культивування протягом 24–48 год за температури 36 ± 1 °C культура *Lactobacillus plantarum* AMT 12 утворювала рівномірне помутніння MRS-бульйону та рідкого середовища Rogosi і випадіння біло-сірого осаду. На щільному поживному середовищі MRS-агарі та Rogosi після 24–48 год інкубації за температури 36 ± 1 °C в анаеробних умовах утворювалися колонії S-форми, діаметром 1–2 мм, випуклі, гладенькі, сіро-жовтого або білого кольору з рівними краями. За морфологічними та культуральними властивостями штам відповідає видовим ознакам.

Виявлено, що препарат *Lactobacillus plantarum* AMT 12 не контамінований сторонньою бактеріальною і грибовою мікрофлорою. Концентрація життєздатних бактерій у препараті становила $1,6 \times 10^{11} \pm 0,4$ КУО/1 г.

За антагоністичною активністю штам *Lactobacillus plantarum* AMT 12 *in vitro* пригнічує ріст тест-штамів *Escherichia coli* ATCC 25922 (F-50), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC № 2853 (F), *Proteus vulgaris* HX 19 № 222, *Staphylococcus aureus* ATCC № 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433, патогенних культур *Escherichia coli* 078 (виділено з патологічного матеріалу птиці), *Escherichia coli* 055 (виділено з патологічного матеріалу птиці), *Salmonella enterica subsp. enterica serovar enteritidis* 9v (виділено з патологічного матеріалу птиці), *Listeria monocytogenes* (виділено з патологічного матеріалу птиці). Діаметр зони затримки росту складав

від 15 мм (*Salmonella enterica* та *Listeria monocytogene*) до 19 мм (*Enterococcus faecalis*) – табл. 3.

Встановлено виражену антагоністичну дію пробіотичного препарату на основі штаму *Lactobacillus plantarum* AMT 12 по відношенню до тестових культур патогенних мікроорганізмів. У результаті визначення антагоністичної активності препарату *in vivo* виявлено, що бактерицидна дія досліджуваного препарату на мікробіоз кишечника птиці проявлялася добре. Відмічали зменшення порівняно з контролем кількості патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Clostridium perfringens*) у кишечнику курчат дослідної групи (табл. 4).

Виявлено зниження патогенної мікрофлори в дослідних курчат після контрольного зараження за повної загибелі контрольних курчат-бройлерів.

Результати досліджень свідчать про конкурентне заміщення патогенної мікробіоти кишечника корисними бактеріями та вказують на перспективність подальшого вивчення дії пробіотиків *in vivo*, зокрема виробничої апробації з метою застосування їх у терапії інфекцій, викликаних патогенними бактеріями з набутою полірезистентністю до антибіотиків.

У науково-господарському досліді вдвічі збільшено термін вирощування курчат (до 81 доби), відповідно до вимог законодавства щодо органічного вирощування птиці.

На відміну від курчат інтенсивного вирощування (42 доби, в умовах віварію, в клітках), які швидко набирали масу, курчата органічного вирощування додавали в масі повільніше, поступово, що природно й сприятливо для гармонійного росту та розвитку всіх фізіологічних систем організму (рис. 2). Це пов'язано з годівлею; раціон курчат за органічного вирощування не такий насичений за поживністю та енергетично, хоча відповіді потреби курчат за віком. Такий раціон складено навмисно для неспішного та розміреного росту та розвитку птиці, оскільки в Україні немає кросів повільнозростаючих курчат-бройлерів, які визнані придатними для органічного вирощування. Раціон формували виключно з органічних складників, що було підтверджено сертифікатами, не містив ГМО, синтетичних амінокислот та пестицидів.

Позначилося й те, що 30 днів життя курчата не виходили на вигульні майданчики і в більшій мірі споживали корм. Починаючи з вигульного періоду, споживання корму значно зменшилося. Птиця мала змогу пастися на траві, полювати комах, рухатися по майданчиках, тому набір живої маси відбувався не так інтенсивно, що є природним темпом зростання птиці.

Ріст і розвиток курчат повинен відбуватися природним шляхом, за суворого дотримання ветеринарно-санітарних вимог. У зв'язку з вигульною системою утримання курчата не змогли набрати своєї технологічно-запланованої забійної маси навіть

Таблиця 3. Антагоністична активність пробіотичного препарату на основі культури *Lactobacillus plantarum* AMT 12 *in vitro*

№	Назва культури	Діаметр зони затримки росту, мм
1	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (F-50)	18 ± 0,2
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC № 2853 (F)	16 ± 0,1
3	<i>Proteus vulgaris</i> HX19 № 222	18 ± 0,1
4	<i>Staphylococcus aureus</i> A TCC № 25923	17 ± 0,1
5	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	19 ± 0,2
6	<i>Escherichia coli</i> 078	16 ± 0,1
7	<i>Escherichia coli</i> 055 *	16 ± 0,2
8	<i>Salmonella enterica subsp. enterica serovar enteritidis</i> 9v *	15 ± 0,2
9	<i>Listeria monocytogenes</i> *	15 ± 0,1

Примітка: * – виділено з патологічного матеріалу птиці.

Таблиця 4. Результати визначення антагоністичної активності пробіотичного препарату на основі культури *Lactobacillus plantarum* AMT 12 *in vivo* (n = 10)

Група	Кількість голів	Склад випоювання	Мікробний склад умісту товстого кишечника курчат
Контроль	10	Стандартний комбікорм + стандартна технологічна карта	<i>Lactobacillus plantarum</i> – не виявлено <i>Escherichia coli</i> – (5,2×103 ± 0,3) КУО <i>Proteus vulgaris</i> – (2,7×101 ± 0,5) КУО <i>Enterobacter aerogenes</i> – (1,6×103 ± 0,5) КУО
Дослід 1	10	Стандартний комбікорм + пробіотик з першої доби згідно з настановою	<i>Lactobacillus plantarum</i> – (7,6×103 ± 0,3) КУО <i>Escherichia coli</i> – (1,3×101 ± 0,2) КУО <i>Enterobacter aerogenes</i> – (2,0×101 ± 0,5) КУО
Дослід 2	10	Стандартний комбікорм + пробіотик з першої доби згідно з настановою + контрольне зараження <i>Escherichia coli</i> 055	<i>Lactobacillus plantarum</i> – (9,2×103 ± 0,3) КУО <i>Escherichia coli</i> 055 – (2,8×101 ± 0,5) КУО <i>Escherichia coli</i> 055 (контроль) – загибель птиці
Дослід 3	10	Стандартний комбікорм + пробіотик з першої доби згідно з настановою + контрольне зараження <i>Escherichia coli</i> 078	<i>Lactobacillus plantarum</i> – (8,5×103 ± 0,5) КУО <i>Escherichia coli</i> 078 – (2,3×101 ± 0,3) КУО <i>Escherichia coli</i> 078 (контроль) – загибель птиці
Дослід 4	10	Стандартний комбікорм + пробіотик з першої доби згідно з настановою + контрольне зараження <i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> – (3,6×102 ± 0,3) КУО <i>Salmonella enteritidis</i> – (1,03 × 101 ± 0,3) КУО <i>Salmonella enteritidis</i> (контроль) – загибель птиці
Дослід 5	10	Стандартний комбікорм + з першої доби згідно з настановою + контрольне зараження <i>Clostridium perfringens</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> – (2,3 × 103 ± 0,3) КУО <i>Clostridium perfringens</i> – (0,6×101 ± 0,5) КУО <i>Clostridium perfringens</i> (контроль) – загибель птиці

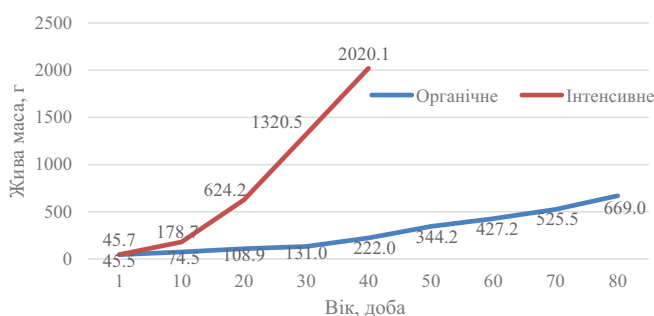


Рис. 2. Динаміка живої маси контрольної та дослідної груп курчат-бройлерів за різних умов утримання (M ± m; n = 50)

на 81 добу вирощування. Рекомендований термін вирощування становив 160 діб. Така система є кращою з позиції гуманного утримання курчат, але птиця вільно рухається й не прикута до годівниці – набір маси може тривати 6–7 місяців.

Якісну й безпечну продукцію можна отримати лише від здорової птиці, яка отримувала екологічно чисті корми, без профілактичних антибіотиків. Важливість годівлі птиці якісними кормами неодноразово наголошувалася науковцями, підтверджувалася даними проведених досліджень (Накопов et al., 2016). Випробовуваний профілактичний препарат *Lactobacillus plantarum* AMT 12 проявив свою ефективність. Кращі прирости живої маси курчат протягом усього експериментального періоду вирощування спостерігали в дослідній групі, що можна пояснити конкурентним витісненням і зменшенням кількості патогенної мікрофлори, яка потрапляє в травний канал, нормалізація обміну речовин і підвищення імунітету курчат. А оскільки профілактичні антибактеріальні препарати синтетичного походження заборонені до використання в органічному тваринництві – пробіотики можуть стати дієвою альтернативою й порятунком від захворювань бактеріальної етіології. Проте варто зазначити, що таке твердження справедливе лише за су-

ворого дотримання санітарії та гігієни в господарстві. Зокрема, визначна роль в передачі збудників інфекційних захворювань належить обслуговуючому персоналу та наявності/відсутності необхідного санітарного обладнання. Візуальні спостереження клінічного стану та поведінки курчат показали, що фізіологічно краще розвинені, здорові курчата дослідної групи – густе й чисте пір'я, добрий апетит.

Збереженість курчат-бройлерів органічного вирощування дослідної групи значно вища, ніж у контрольній. Найбільші втрати поголів'я під час спеки також торкнулися слабких курчат саме цієї групи. На тлі зневоднення ослабленого організму відбулося зниження імунної відповіді на проникнення збудників захворювань.

Загибель птиці в контрольній групі сягла 49%, у дослідній – 20%. Труп курчат надіслані до лабораторії, де відібрані проби зі серця, печінки і м'язового шлунку. З патологічного матеріалу виділено польовий штам *Salmonella* групи D. Подальшу видову диференціацію не проводили, за клінічними ознаками діагностували сальмонельоз птиці.

Підкреслимо, що навіть виникнення інфекційного захворювання в контрольній групі (курчата перебували практично поруч, на вигульних майданчиках, розділених тільки сітчастою перегородкою) не вплинуло на збереженість курчат дослідної групи.

Отже, за морфологічними та культуральними властивостями штам відповідає видовим ознакам. Препарат *Lactobacillus plantarum* AMT 12 не контамінований сторонньою бактеріальною і грибовою мікрофлорою, за антагоністичною активністю пригнічує ріст тест-штамів культур мікроорганізмів із достатньою зоною затримки росту (від 15 до 19 мм).

Бактерицидна дія досліджуваного препарату на мікробіоз кишечника птиці добре проявлялася в умовах лабораторного досліді. Відмічалось зменшення порівняно з контролем кількості патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Clostridium perfringens*) у кишечнику курчат дослідної групи.

Встановлено зниження патогенної мікрофлори в дослідних курчат після контрольного зараження, за повної загибелі контрольних курчат-бройлерів. Отримані результати досліджень

свідчать про конкурентне заміщення патогенної мікробіоти кишечнику корисними бактеріями.

За результатами виробничого дослідження, пробіотик виправдав своє застосування як профілактичний препарат, попередивши і запобігши дисбактеріозу й сальмонельозу птиці. Відмічено кращу збереженість птиці, а також виражену профілактичну дію пробіотичного препарату до захворювань птиці бактеріальної етіології.

Висновки

Пробіотичний препарат на основі штаму *Lactobacillus plantarum* АМТ 12 відповідає всім критеріям відповідності щодо культуральних і морфологічних властивостей, бактеріальна й грибоквота контамінація відсутня. Препарат проявляє виражену антагоністичну дію на більшість патогенних мікроорганізмів. Його можна застосовувати як альтернативу традиційним антибіотикам, що використовуються для профілактики на птахофабриках України, за умови суворого дотримання санітарно-гігієнічних вимог. Зокрема, застосування препарату буде доцільним у господарствах з органічного вирощування птиці.

References

- Abdullah, F., & Buchtova, H. (2016). Comparison of qualitative and quantitative properties of the wings, necks and offal of chicken broilers from organic and conventional production systems. *Veterinární Medicína*, 61(11), 643–651.
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2014). Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(7), 938–956.
- Cash, B. D. (2014). Emerging role of probiotics and antimicrobials in the management of irritable bowel syndrome. *Current Medical Research and Opinion*, 30(7), 1405–1415.
- Castellini, C., Mugnai, C., & Dal Bosco, A. (2002). Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. *Meat Science*, 60(3), 219–225.
- Cramer, T. A., Kim, H. W., Chao, Y., Wang, W., Cheng, H. W., & Kim, Y. H. B. (2018). Effects of probiotic (*Bacillus subtilis*) supplementation on meat quality characteristics of breast muscle from broilers exposed to chronic heat stress. *Poultry Science*, 97(9), 3358–3368.
- Döring, T. F. (2017). How Scientific Is Organic Farming Research? *Organic Farming*, 3(1).
- Engering, A., Hogerwerf, L., & Slingenbergh, J. (2013). Pathogen–host–environment interplay and disease emergence. *Emerging Microbes & Infections*, 2(2), e5–e5.
- Fathi, M. M., Ebeid, T. A., Al-Homidan, I., Soliman, N. K., & Abou-Emera, O. K. (2017). Influence of probiotic supplementation on immune response in broilers raised under hot climate. *British Poultry Science*, 58(5), 512–516.
- Hakonov, S. M., Koshhaev, A. G. & Koshhaeva, O. V. (2016). Jеffektivnost' vyrashhivaniya kur s primeneniem kormov, kontroli-ruemyh po pokazateljam biobezopasnosti dlja poluchenija «organicheskoy» produkcii [Efficiency of chicken breeding based on feeds controlled by biological safety characteristics in order to get “eco” products]. *Vestnik Ul'janovskoj Gosudarstvennoj akademii*, 3, 159–164 (in Russian).
- Hedayati, M., & Manafi, M. (2018). Evaluation of Anherbal Compound, a Commercial Probiotic, and an Antibiotic Growth Promoter on the Performance, Intestinal Bacterial Population, Antibody Titers, and Morphology of the Jejunum and Ileum of broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 20(2), 305–316.
- Hui, S., Mahfuz, S. U., Nahar, M. J., Mo, C., Ganfu, Z., & Zhongjun, L. (2017). Inclusion of probiotic on chicken performance and immunity: a review. *International Journal of Poultry Science*, 16(9), 328–335.
- Kim, Y.-J., Park, J.-H., & Seo, K.-H. (2017). Comparison of the loads and antibiotic-resistance profiles of *Enterococcus* species from conventional and organic chicken carcasses in South Korea. *Poultry Science*, 97(1), 271–278.
- Kucheruk, M. D., Zasielkin, D. A., Dymko, R. O. & Shcherbyna, O. A. (2017). Sanitarno-higienichni umovy utrymannia ptytsi za orhanichnoho vyroshchuvannia yak chynnyk produktyvnosti [Sanitary and hygienic conditions of poultry keeping for organic cultivation as a factor of productivity]. *Bioresources and Nature Management of Ukraine*, 9(5–6), 116–124.
- Macelline, W. H. D. S. P., Cho, H. M., Awanthika, H. K. T., Wickramasuriya, S. S., Jayasena, D. D., Tharangani, R. M. H., Song, Z., & Heo, J. M. (2017). Determination of the growth performances and meat quality of broilers fed *saccharomyces cerevisiae* as a probiotic in two different feeding intervals. *Korean Journal of Poultry Science*, 44(3), 161–172.
- Tsilingiri, K., Barbosa, T., Penna, G., Caprioli, F., Sonzogni, A., Viale, G., & Rescigno, M. (2012). Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised ex-vivo organ culture model. *Gut*, 61(7), 1007–1015.

Original researches

Features of Humoral Immunity Formation Under Oral and Parenteral Immunoprophylaxis of Porcine Epidemic Diarrhea

Received: 01 June 2018
Revised: 11 June 2018
Accepted: 14 June 2018

D. M. Masiuk, A. V. Kokariiev, O. I. Sosnytsky, T. O. Vasilenko, Y. V. Hustova
Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

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

Tel.: +38-056-236-17-14
E-mail: masiuk.d.m@dsau.dp.ua

Cite this article: Masiuk, D. M., Kokariiev, A. V., Sosnytsky, O. I., Vasilenko, T. O., & Hustova, Y. V. (2018). Features of humoral immunity formation under oral and parenteral immunoprophylaxis of porcine epidemic diarrhea. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 6(3), 18–22. doi: 10.32819/2018.63004

Abstract. The research was carried out on the basis of the Scientific Research Center of Biosafety and Environmental Control AIC of the Dnipro State Agrarian and Economic University. The experimental and control groups of second and third farrow sows with 10 heads in each group were formed. Sows of the control group were immunized 21 days before farrowing by individual oral feeding of a virus-containing homogenate tissue of 50 g per animal, which was produced from intestines of suckling piglets who died with clinical manifestations of diarrhea syndrome. Sows of the experimental group were immunized with parenteral injection of an autogenous live vaccine against porcine epidemic diarrhea twice, at 90 and 100 days of fertility at a dose of 2 cm³. Injections were performed intramuscularly in the area behind the ear. Blood samples were taken on 1, 7 and 14 days after farrowing and on 1, 7 and 14 days of life in pigs for the specific IgG analysis. It has been established that parenteral immunization of sows against porcine epidemic diarrhea provides induction of specific IgG and reduces the risk of newborn piglets' infection in the first days of life. The obtained results show that oral immunization of sows against EDF contributes to seroconversion in 40% of animals of specific IgG in the titre of 1: 200, and for double parenteral immunization, specific IgGs are registered in the diagnostic titer in 70% of sows. Also, an increase in the antibody level in sows of the experimental group was detected by almost 40% in the first 14 days after farrowing against the background of an increase in homogeneity of the S/P index by 14.4% relative to the values in sows after oral immunization. It has been shown that parenteral vaccination of sows contributes to the formation of a specific colostral IgG immunity in 100% of piglets, which is preserved during the first 14 days of life in more than 60% of the animals. Oral immunization of farrowing sows provides the formation of specific IgG immune protection in 60% of animals, which is preserved during the first 14 days of life in only 20% of pigs.

Keywords: immunization; specific IgG; PED; sows; neonatal piglets.

Особливості формування гуморального імунітету за пероральної та парентеральної імунопрофілактики епідемічної діареї свиней

Д. М. Масюк, А. В. Кокареєв, О. І. Сосницький, Т. О. Василенко, Ю. В. Густова
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Анотація. Дослідження проведені на базі Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Для дослідження було сформовано дослідну та контрольну групи свиноматок другого – третього опоросу по 10 голів. Кожну свиноматку контрольної групи імунізували за 21 добу до опоросу шляхом індивідуального перорального згодовування 50 г вірусомісного тканинного гомогенату, який виготовляли з кишечників підсисних поросят, що загинули з клінічними проявами діарейного синдрому. Свиноматкам дослідної групи вводили шляхом парентеральної ін'єкції аутогенну живу вакцину проти епідемічної діареї свиней двічі, на 90 та 100 добу поросності, у дозі 2 см³. Ін'єкції виконували внутрішньом'язово в ділянку позаду вуха. Для дослідження специфічних IgG у свиноматок після опоросу та народжених від них поросят відбирали проби крові на 1, 7 і 14 добу. Встановлено, що парентеральна імунізація свиноматок проти епідемічної діареї свиней забезпечує індукцію в них антигенспецифічного IgG та сприяє зменшенню ризику інфікування новонароджених поросят у перші доби життя. Пероральна імунізація свиноматок проти епідемічної діареї свиней сприяє сероконверсії у 40% тварин специфічних IgG в титрі 1:200, а за дворазової парентеральної імунізації специфічні IgG реєструються в діагностичному титрі в 70% свиноматок. За пероральної імунізації свиноматок проти епідемічної діареї свиней у 60% поросят добового віку виявлено специфічні IgG в титрі 1:200, які зберігалися протягом 14 діб життя лише у 20% тварин. За парентеральної імунізації свиноматок у 100% поросят добового віку містилися специфічні IgG, які зберігалися в діагностичному титрі 14 діб у 67% тварин.

Ключові слова: імунізація; специфічний IgG; свиноматки; неонатальні поросята.

Вступ

В останні роки, у зв'язку з активним розвитком свиначства, великого значення набувають захворювання, які раніше не реєструвалися на території нашої держави. Однією з таких інфекцій є епідемічна діарея свиней (ЕДС), яка індукується РНК-геномним вірусом з роду *Alphacoronavirus* сімейства *Coronaviridae* (Hanke et al., 2017; Jang et al., 2018). Уперше на території України ЕДС була зареєстрована J. Carr у 2014 році (Dastjerdi et al., 2015). Результати епізоотологічного моніторингу 2016–2017 р. указують на значне поширення ЕДС серед свиней сільськогосподарських підприємств в Україні (Masiuk et al., 2017a).

До вірусу ЕДС сприйнятливі свині всіх вікових груп, але найбільш чутливими і вразливими є поросята перших 10 днів життя (Jung et al., 2015). Ураження свиней вірусом ЕДС супроводжується розвитком водянистої діареї та дегідратацією їх організму, що спричиняє загибель тварин, особливо в підсисний період. За повідомленнями Т. Appamalai зі співавторами (2015), інфікування збудником ЕДС поросят у перші 9 днів життя може викликати стовідсоткову смертність тварин протягом 2–4 днів, що завдає господарствам значних економічних збитків. Зараження поросят віком понад 10 днів від народження знижує рівень летальності до 50%, а за індукції ЕДС у групах тварин, які старше тритижневого віку, летальність не перевищує 5–6% (Hanke et al., 2017). З огляду на викладене, у неблагополучних з ЕДС господарствах нагальним стає проведення лікувально-профілактичних заходів, які спрямовані на попередження інфікування молодняку свиней у перші доби життя.

Одним з основних заходів попередження виникнення та поширення інфекційних хвороб тварин є активна імунопрофілактика (Kravtsov & Maslianko, 2008). Імунізація поросних свиноматок забезпечує формування в новонароджених поросят колострального імунітету, специфічного до ЕДС, що попереджує інфікування молодняку свиней у перші тижні життя, а відповідно й сприяє зниженню економічних збитків (Vjuström-Kraft et al., 2016). Натепер свиначські господарства України найчастіше використовують методи активної імунопрофілактики ЕДС з-поміж яких є пероральна та парентеральна імунізація свиноматок (Masiuk et al., 2017b). Кожен з цих методів має ряд недоліків, які пов'язані зі способом застосування, із впливом на організм тощо. У зв'язку з цим метою наших досліджень було з'ясувати особливості формування гуморального імунітету за пероральної та парентеральної імунопрофілактики епідемічної діареї свиней.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені на базі Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету відповідно до наукової теми «Визначення теоретичних аспектів епізоотичного процесу з урахуванням генетичних варіантів штамів вірусу епідемічної діареї свиней» (державний реєстраційний № 0117U004293).

Експериментальну частину проведено в одному зі свиначських підприємств західного регіону України, яке є стаціонарно неблагополучним з ЕДС. Загальна чисельність поголів'я на підприємстві становить понад 20 000 свиней. Щотижня на свинокомплексі народжується понад 2 800 поросят.

Для дослідження було сформовано дослідну та контрольну групи свиноматок другого–третього опоросу, по 10 голів. Кожну свиноматку контрольної групи імунізували за 21 добу до опоросу шляхом індивідуального перорального згодовування 50 г вірусомісного тканинного гомогенату, який виготовляли з кишечників підсисних поросят, що загинули з клінічними проявами діарейного синдрому. Свиноматкам дослідної групи вводили шляхом парентеральної ін'єкції аутогенну живу вакцину проти епідемічної діареї свиней двічі, на 90 та 100 добу поросності, у дозі 2 см³. Ін'єкції виконували внутрішньом'язово в ділянку позаду вуха.

Для дослідження специфічних IgG у свиноматок після опоросу та народжених від них поросят відбирали проби крові на 1, 7 і 14 добу їх життя. Дослідження рівня специфічного IgG у сироватці крові від свиноматок та поросят проводили методом ELISA з використанням аналізатора-фотометра EL×800 («BioTek», США) та тест-системи «Swinecheck® PED» («Biovet», Канада). Згідно з настановою до тест-системи сироватки досліджували в діагностичному титрі 1:200. Проби вважали позитивними за ЕДС, якщо значення їх показника S/P було понад 40%.

Варіаційно-статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення Statistica 6 (StatSoft Inc, USA). Вірогідність відмінностей оцінювали за критерієм Стьюдента або його непараметричного аналога – критерія Вілкоксона. Вибіркові параметри, представлені в роботі, мали такі позначення: \bar{x} – вибіркове середнє; SE – стандартна похибка середнього; CV – коефіцієнт варіації показника в групі.

Результати

У результаті проведеного дослідження з'ясовано особливості формування специфічного імунітету у свиноматок та народжених від них поросят за активної імунопрофілактики епідемічної діареї шляхом пероральної імунізації вірусомісного тканинного гомогенату та парентеральної вакцинації живою аутогенною вакциною.

За пероральної імунізації свиноматок у першу добу після опоросу серопозитивними були лише 40% тварин, тоді як за дворазової внутрішньом'язової ін'єкції живою вакциною кількість свиноматок, у сироватці крові яких виявлено специфічні IgG, становила 70% (табл. 1).

Рівень специфічного IgG у сироватці крові тварин дослідної групи зареєстровано вищим на 43,8%, а коефіцієнт варіації (CV) – на 11,4% нижчим відносно значень у тварин контрольної групи.

На 7 добу після опоросу кількість серопозитивних свиноматок у контрольній групі становила 20%, а в дослідній – 50%. Рівень S/P у тварин контрольної групи зменшився на 47,8%, а у

Таблиця 1. Рівень специфічного IgG у сироватці крові свиноматок за активної імунопрофілактики ЕДС ($\bar{x} \pm SE$; n = 10)

Час після опоросу, доба	Контрольна група			Дослідна група		
	кількість серопозитивних, тварин	S/P, %	CV, %	кількість серопозитивних, тварин	S/P, %	CV, %
1	4	69,02 ± 13,51	44	7	99,25 ± 17,53	39
7	2	36,11 ± 6,94	52	5	48,78 ± 11,35	43
14	1	22,57 ± 6,01	60	3	30,40 ± 9,69	71

свиноматок дослідної групи – на 50,9%, тоді як показник CV у тварин контрольної групи збільшився на 18,2%, а у свиней дослідної групи – на 10,3% відносно значень, отриманих у першу добу після опоросу. Відзначимо, що рівень S/P у тварин дослідної групи перевищує значення у тварин контрольної групи на 35,1%, а показник CV зафіксовано меншим на 17,3%.

На 14 добу після опоросу виявлено лише 10% серопозитивних свиноматок контрольної групи та 30% – дослідної групи. Значення показника S/P у цей час, як у тварин дослідної, так і у тварин контрольної груп були найменшими за період дослідження, а показник CV, навпаки, найвищим за всі 14 днів після опоросу. Підкреслимо, що тенденція до збільшення показника S/P у свиноматок дослідної групи зберігалася, і становила 34,7% відносно значень у тварин контрольної групи.

Отже, пероральна імунізація свиноматок вірусомісним тканинним гомогенатом сприяє сероконверсії в титрі 1:200 сироваткових імуноглобулінів класу G у 40% тварин, а дворазова внутрішньом'язова вакцинація свиноматок живою вакциною забезпечує синтез специфічних IgG у 70% тварин та підвищення рівня антитіл у перші 14 днів після опоросу майже на 40% на тлі підвищення рівня гомогенності показника S/P на 14,4% відносно значень у свиноматок після пероральної імунізації.

Дослідження IgG специфічних до вірусу ЕДС у сироватці крові неонатальних поросят указує на формування колострального імунітету у 60% поросят контрольної групи та стовідсоткове в поросят дослідної групи в першу добу життя (табл. 2).

На 7 добу життя кількість серопозитивних поросят у контрольній групі становила на 11,2% менше за значення 1-ої доби. Серед поросят дослідної групи кількість серопозитивних тварин на 7 добу життя зменшилася на 6,7% порівняно зі значенням 1-ої доби життя (93,3%).

На кінець другого тижня життя специфічні IgG у сироватці крові виявлено у 20% поросят контрольної групи та у 66,7% тварин дослідної групи, що в 3,3 рази більше за значення контрольної групи.

Отже, парентеральна вакцинація свиноматок сприяє формуванню специфічного колострального імунітету в 100% поросят, який зберігається протягом перших 14 днів життя більш ніж у 60% тварин. Пероральна імунізація поросних свиноматок забезпечує формування специфічного імунного захисту у 60% тварин, який перші 14 днів життя зберігається лише у 20% поросят.

Порівняння вмісту антитіл за показником S/P свідчить про те, що в поросят дослідної групи в 1-шу добу життя рівень специфічних імуноглобулінів реєструється вірогідно вищим на 35,0% ($P < 0,01$), а показник варіабельності меншим на 58,9% відносно тварин контрольної групи.

На 7 добу життя у крові поросят дослідної та контрольної груп виявлено зниження рівня специфічних IgG, що означає зниження показника S/P у середньому на 24,8%, ніж у свиней 1-ої доби життя. Рівень специфічних антитіл у крові поросят дослідної групи є вірогідно вищим (на 36,1%; $P < 0,01$), а показник CV нижчим (на 55,0%) порівняно з показниками у тварин дослідної групи.

Вірогідність різниці між рівнем імуноглобулінів зберігалася до 14-добового віку. У цей час показник S/P у тварин дослідної групи був вищим на 57,6% ($P < 0,05$) відносно тварин контрольної групи. Зберігалася тенденція й до зниження значення варіабельності рівня антитіл, яке є нижчим у тварин дослідної групи на 30,0%, ніж у свиней контрольної групи.

Дані переконують, що активна імунізація проти ЕДС свиноматок перед опоросом шляхом дворазової внутрішньом'язової ін'єкції живої вакцини сприяє формуванню в поросят більш високого та гомогенного рівня колостральних специфічних IgG і посилює його тривалість порівняно з пероральною імунізацією свиноматок.

Обговорення

Роботу проведено для визначення імунної відповіді свиноматок та рівня антиген специфічного IgG у неонатальних поросят за активної імунопрофілактики епідемічної діареї методами пероральної та парентеральної імунізації поросних свиноматок. У науковій літературі є повідомлення про те, що вірус епідемічної діареї свиней індукує кишкову інфекцією (Lin et al., 2016; Hanke et al., 2017; Masiuk et al., 2018). Найбільш тяжко інфекція проявляється в новонароджених поросят (Annamalai et al., 2015). Зважаючи на це, стратегія специфічної імунопрофілактики повинна бути зосереджена на індукції імунітету слизової оболонки в новонароджених поросят для захисту цільових кишкових ентероцитів. Імунітет, індукований у поросної свиноматки і пасивно перенесений до молочних поросят через молоко і молоко (колостральний імунітет), має вирішальне значення для захисту новонароджених поросят від ЕДС (Bjstrom-Kraft et al., 2016).

Нашими дослідженнями встановлено, що за пероральної імунопрофілактики ЕДС свиноматок на 90 добу поросності специфічні IgG у титрі 1:200 виявлено в 40% імунізованих тварин на 1-шу добу після опоросу зі середнім рівнем S/P ($69,02 \pm 13,51$). Висока варіабельність рівня антитіл серед тварин контрольної групи вказує на низький рівень імунної відповіді їх організму в цілому. Надалі виявлено різке зменшення рівня антитіл у сироватці крові тварин контрольної групи. Отримані дані узгоджуються з результатами інших дослідників, які підтверджують швидке зникнення з периферичної крові специфічних IgG (Poonsuk et al., 2016; Scherba et al., 2016).

За внутрішньом'язової вакцинації на 90 та 100-ту добу поросності виявлено збільшення кількості серопозитивних тварин на 75% та підвищення рівня антитіл на 35,1% станом на 1-шу добу після опоросу, що сприяло зниженню показника варіабельності на 11,4%. Scherba G. зі співавторами (2016) такі результати пов'язують із більш вираженою дією парентеральної імунізації свиноматок на формування гуморальної імунної відповіді їх організму в цілому.

Результати наших досліджень указують на те, що парентеральна імунізація сприяє індукції специфічної імунної відповіді у свиноматок, яка супроводжується сероконверсією більш високого рівня специфічного IgG, ніж за пероральної імунізації.

Таблиця 2. Рівень специфічного IgG у сироватці крові підсисних поросят за активної імунопрофілактики ЕДС у свиноматок ($\bar{x} \pm SE$; $n = 15$)

Вік поросят, доба	Контрольна група			Дослідна група		
	кількість серопозитивних тварин	S/P, %	CV, %	кількість серопозитивних тварин	S/P, %	CV, %
1	9	74,27 ± 7,40	39	15	100,27 ± 4,30**	16
7	8	55,67 ± 5,70	40	14	75,74 ± 3,44**	18
14	3	31,95 ± 5,81	70	10	50,35 ± 6,32*	49

Примітка: різниця вірогідна за значення * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ відносно показників контрольної групи.

ції, та пролонгованим часом їх циркуляції у кров'яному руслі тварин. Відомо, що зі загальної кількості імуноглобулінів у сироватці крові свиней понад 70% припадає на білки класу G (Setcavage & Kim, 1976). Останні шляхом селективного транспорту надходять з крові безпосередньо до молозива, де, завдяки своїм опсонізуючим властивостям, кон'югують антигени, що сприяє посиленню їх фагоцитозу та елімінації з організму (Опорієнко, 2011). З огляду на такі процеси, наголосимо, що підвищення рівня циркулюючих у крові свиноматок дослідної групи специфічних IgG підвищує їх рівень у молозиві.

Після споживання перших порцій молозива в новонароджених поросят формується колостральний імунітет (Kokarev & Masiuk, 2014) як на слизових оболонках за рахунок SIgA, так і в організмі в цілому за рахунок специфічних IgG, що посилює рівень імунного захисту поросят (Ogawa et al., 2016). Тому виявлене в результаті дослідження підвищення рівня IgG, специфічного до вірусу ЕДС, у крові свиноматок сприятиме формуванню в новонароджених більш високого рівня імунного захисту, який перешкоджатиме реплікації вірусу в клітинах епітелію кишечника поросят.

Отримані результати дослідження сироваток крові від поросят, народжених свиноматками дослідної та контрольної груп, узгоджуються з наведеною інформацією і вказують на більш ефективне формування гуморального імунітету за специфічним IgG у поросят дослідної групи відносно контролю. Зауважимо, що серед поросят, народжених від свиноматок після пероральної імунізації, 40% тварин належать до серонегативних. Дослідження Gerber & Opriessnig (2015) указують на відсутність кореляції між рівнем специфічних сироваткового IgG та секреторного SIgA в молозиві свиноматок (Clement et al., 2016). Проте відзначимо, що серонегативні тварини є критичною ланкою в ензоотії, оскільки характеризуються як сприйнятливі до патогенної дії збудника ЕДС (Lin et al., 2015). Дані наукової літератури (Ouyang et al., 2015) зазначають, що пероральна імунізація свиноматок проти ЕДС зупиняє ензоотію, але сприяє реінфекції, адже імунізовані свиноматки виділяють збудник захворювання в навколишнє середовище протягом 25 днів після останньої інюкуляції. Пероральна імунізація свиноматок також забезпечує зниження репродуктивних якостей свиноматок шляхом зменшення частоти опоросів на 12% та збільшення кількості абортів і муміфікованих плодів, відповідно, на 1,3% і 2% (Olanratmanee et al., 2010).

Парентеральна імунізація свиноматок забезпечує формування в поросят групового імунітету на 100%, а рівень антитіл у тварин дослідної групи вірогідно вищий відносно значень у тварин контрольної групи. Це сприяло збільшенню тривалості циркуляції у крові поросят дослідної групи специфічних IgG. За повідомленнями D. I. Shoup (1997), специфічні антитіла сироватки крові не можуть забезпечити належного захисту як проти ТГС, так і проти ЕДС, оскільки протективний імунітет проти кишкових інфекцій формується внаслідок активної стимуляції імунної системи кишечника, яка шляхом клітинно-опосередкованого імунітету активує індукцію секреторного SIgA (Chattha et al., 2015). Останній формує імунний захист у поросят та перешкоджає реплікації вірусу ЕДС в ентероцитах (Gimenez-Lirola et al., 2016).

За повідомленнями Scherba зі співавторами (2016), народжені поросята від парентерально імунізованих проти ЕДС свиноматок, які містять у крові специфічні IgG, не проявляють клінічних ознак інфекції протягом першого тижня життя за парентерального інфікування, а тварини, яким інюкулювали вірус у більш старшому віці (5 днів життя), мають м'якший перебіг, відносно проявів первинного спалаху захворювання, які реєструються в поросят уже з перших днів життя. Схожі результати отримані й іншими дослідниками, які дійшли висновку, що циркулюючі антитіла 100%-во не захищають поросят від інфікування вірусом ЕДС, але забезпечують більш м'який перебіг

захворювання та значно знижують рівень смертності поросят (Poonsuk et al., 2016).

Узагальнюючи результати аналізу літературних джерел і отримані нами експериментальні дані, можна зазначити, що парентеральна імунізація проти ЕДС свиноматок забезпечує індукцію в них антигенспецифічного IgG та сприяє зменшенню ризику інфікування новонароджених поросят у перші доби життя.

Висновки

Пероральна імунізація свиноматок проти епідемічної діареї свиней сприяє сероконверсії у 40% тварин специфічних IgG у титрі 1:200, а за дворазової парентеральної імунізації специфічні IgG реєструються в діагностичному титрі в 70% свиноматок.

За пероральної імунізації свиноматок проти ЕДС у 60% поросят добового віку виявлено специфічні IgG у титрі 1:200, які зберігаються протягом 14 днів життя лише у 20% тварин. За парентеральної імунізації свиноматок у 100% поросят добового віку містяться специфічні IgG, які перебувають у діагностичному титрі два тижні у 67% тварин.

References

- Annamalai, T., Saif, L. J., Lu, Z., & Jung, K. (2015). Age-dependent variation in innate immune responses to porcine epidemic diarrhea virus infection in suckling versus weaned pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 168(3–4), 193–202.
- Bjostrom-Kraft, J., Woodard, K., Gimenez-Lirola, L., Rotolo, M., Wang, C., Sun, Y., Lasley, P., Zhang, J., Baum, D., Gauger, P., Main, R., & Zimmerman, J. (2016). Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) detection and antibody response in commercial growing pigs. *BMC Veterinary Research*, 12(1).
- Chattha, K. S., Roth, J. A., & Saif, L. J. (2015). Strategies for Design and Application of Enteric Viral Vaccines. *Annual Review of Animal Biosciences*, 3(1), 375–395.
- Clement, T., Singrey, A., Lawson, S., Okda, F., Nelson, J., Diego, D., Nelson, E., & Christopher Hennings, J. (2016). Measurement of neutralizing antibodies against porcine epidemic diarrhea virus in sow serum, colostrum, and milk samples and piglet serum samples after feedback. *Journal of Swine Health and Production*, 24, 1–10.
- Dastjerdi, A., Carr, J., Ellis, R. J., Steinbach, F., & Williamson, S. (2015). Porcine epidemic diarrhea virus among farmed pigs, Ukraine. *Emerging infectious diseases*, 21(12), 2235–2237.
- Gerber, P. F., & Opriessnig, T. (2015). Detection of immunoglobulin (Ig) A antibodies against porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) in fecal and serum samples. *MethodsX*, 2, 368–373.
- Gimenez-Lirola, L., Kraft, J. B., Woodard, J. B., Wang, C., Baum, D., Zimmerman, J., & Main, R. (2016). PEDV antibody responses in fecal and oral fluid specimens. *American Association of Swine Veterinarians*. New Orleans, 64.
- Hanke, D., Pohlmann, A., Sauter-Louis, C., Höper, D., Stadler, J., Ritzmann, M., Steinrigl, A., Schwarz, B. A., Akimkin, V., Fux, R., Blome, S., & Beer, M. (2017). Porcine epidemic diarrhea in Europe: in-detail analyses of disease dynamics and molecular epidemiology. *Viruses*, 9(7), 177.
- Jang, J., Yoon, S. H., Lee, W., Yu, J., Yoon, J., Shim, S., & Kim, H. (2018). Time-calibrated phylogenomics of the porcine epidemic diarrhea virus: genome-wide insights into the spatio-temporal dynamics. *Genes & Genomics*, 40(8), 825–834.
- Jung, K., Annamalai, T., Lu, Z., & Saif, L. J. (2015). Comparative pathogenesis of US porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) strain PC21A in conventional 9-day-old nursing piglets vs. 26-day-old weaned pigs. *Veterinary Microbiology*, 178(1–2), 31–40.
- Kokarev, A., & Masiuk, D. (2014). The dynamics of factors non-specific immune protection in colostrum of sows at action of drug «Imunolak». *Science and Technology Bulletin of Scien-*

- tific research center for biosafety and environmental control of agro-industrial complex, 2(1), 75–80 (in Ukrainian).
- Kravtsiv, R. Y., & Maslianko, R. P. (2008). Suchasnyi stan rozvytku imunoprofilaktyky infektsiynykh zakhvoriuvan tvaryn. Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 10(2), 148–155 (in Ukrainian).
- Lin, C.-M., Annamalai, T., Liu, X., Gao, X., Lu, Z., El-Tholoth, M., Hu, H., Saif, L. J., & Wang, Q. (2015). Experimental infection of a US spike-insertion deletion porcine epidemic diarrhea virus in conventional nursing piglets and cross-protection to the original US PEDV infection. *Veterinary Research*, 46(1).
- Lin, C.-M., Saif, L. J., Marthaler, D., & Wang, Q. (2016). Evolution, antigenicity and pathogenicity of global porcine epidemic diarrhea virus strains. *Virus Research*, 226, 20–39.
- Masiuk, D. M., Sosnitsky, O. I., Nedzvetsky, V. S., Kokarev, A. V., & Koliada, S. G. (2017a). Epidemiology, etiology and gene analysis of spike S protein of porcine epidemic diarrhea virus infection in Ukraine during 2016–2017. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(4), 602–610.
- Masiuk, D. M., Sosnitsky, O. I., Nedzvetsky, V. S., Kokarev, A. V., & Koliada, S. G. (2017b). Endemic course of epidemic diarrhea of pigs in the stabilized focus of infection. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(3), 410–416.
- Masiuk, D. N., Nedzvetsky, V. S., Sosnitskiy, A. I., Kokarev, A. V., & Koliada, S. G. (2018). The characteristics, emergent properties and manner of spread in Ukraine of the Porcine Epidemic Diarrhea Virus. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(3).
- Ogawa, S., Tsukahara, T., Imaoka, T., Nakanishi, N., Ushida, K., & Inoue, R. (2016). The effect of colostrum ingestion during the first 24 hours of life on early postnatal development of piglet immune systems. *Animal Science Journal*, 87(12), 1511–1515.
- Olanratmanee, E. O., Kunavongkrit, A., & Tummaruk, P. (2010). Impact of porcine epidemic diarrhea virus infection at different periods of pregnancy on subsequent reproductive performance in gilts and sows. *Animal Reproduction Science*, 122, 42–51.
- Onoprienko, L. V. (2011). Molecular mechanisms regulating the activity of macrophages. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 37(4), 437–451 (in Russian).
- Ouyang, K., Shyu, D. L., Dhakal, S., Hiremath, J., Binjawadagi, B., Lakshmanappa, Y. S., Guo, R., Ransburgh, R., Bondra, K. M., Gauger, P., Zhang, J., Specht, T., Gilbertie, A., Minton, W., Fang, Y., & Renukaradhya, G. J. (2015). Evaluation of humoral immune status in porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) infected sows under field conditions. *Veterinary Research*, 46, 140.
- Poonsuk, K., Giménez-Lirola, L. G., Zhang, J., Arruda, P., Chen, Q., Correa da Silva Carrion, L., Magtoto, R., Pineyro, P., Sarmiento, L., Wang, C., Sun, Y., Madson, D., Johnson, J., Yoon, K.J., Zimmerman, J., & Main, R. (2016). Does circulating antibody play a role in the protection of piglets against porcine epidemic diarrhea virus? *PLOS ONE*, 11(4), e0153041.
- Scherba, G., Bromfield, C. R., Jarrell, V. L., & Shipley, C. F. (2016). Evaluation of responses to both oral and parenteral immunization modalities for porcine epidemic diarrhea virus in production units. *Journal of Swine Health and Production*, 24(1), 21–28.
- Setcavage, T. M., & Kim, T. B. (1976). Characteristics of porcine serum immunoglobulins IgG, IgM and IgA and the preparation of monospecific anti-chain sera. *Immunochem*, 13, 643–652.
- Shoup, D. I., Jackwood, D. J., & Saif, L. J. (1997). Active and passive immune responses to transmissible gastroenteritis virus (TGEV) in swine inoculated with recombinant baculovirus-expressed TGEV spike glycoprotein vaccines. *American Journal of Veterinary Research*, 58, 242–250.

Original researches

Economic Trait of Cows with Different Duration of Prenatal Growth Period

O. M. Chernenko, O. I. Chernenko

Dnipro State Agrarian and Economics University, Dnipro, Ukraine

Received: 08 June 2018
Revised: 25 June 2018
Accepted: 27 June 2018

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

Tel.: +38-056-268-54-29
E-mail: chernenko.o.m@dsau.dp.ua

Cite this article: Chernenko, O. M.,
& Chernenko, O. I. (2018). Economic trait
of cows with different duration of prenatal
growth period. *Theoretical and Applied
Veterinary Medicine*, 6(3), 23–28.
doi: 10.32819/2018.63005

Abstract. The study presents the research of prenatal growth period duration of Ukrainian red dairy breed and explains the relation of this process to the productive and reproductive qualities. Experimental animals have been divided into three groups depending on the duration of their prenatal period: less than 274 days is short (Group I); 274–284 days is average (Group II) and longer than 284 days is extended (Group III). The boundaries between the groups have been determined on the basis of the standard deviation in the variation in the number of signs: short duration of prenatal period is less than $-0,5\sigma$; average – from $-0,5\sigma$ to $+0,5\sigma$; extended – more than $+0,5\sigma$. It has been found out that the most significant difference according to the live weight among the studied groups of animals is at the age of 6 and 12 months. During these periods, it was statistically significant in favor of animals with short and medium duration of the prenatal period ($P > 0.95$). In animals of all groups, the period of intensive growth was the first six months of life, which are characterized by the highest absolute, daily average and relative growth. However, heifers with an extended period of prenatal growth were inferior to animals with a short and average duration of these signs, respectively: 11.4 kg (9.1%) for $P > 0.99$, 63.4 g (9.2%) for $P > 0.999$, 6.0% for $P > 0.95$ and 9.3 kg (7.4%) for $P > 0.99$, 51.9 g (7.6%) for $P > 0.999$ and 4.2% for $P > 0.95$. At the age from 12 to 18 months, heifers with an extended period of prenatal period grew more intensively than those of the same age who had a short and medium duration. Between the specified groups of animals, a statistically significant difference has been established according to the growth rates of live weight ($P > 0.99$). The body measurements of the firstlings of all groups were typical of dairy cattle livestock production. There was no significant difference in these qualities between experimental animal groups. Animals of all experimental groups after the first calving had a higher body mass compared to the standard for Ukrainian red breed (470 kg). But a significantly higher live weight was observed in firstlings of a short period of prenatal growth compared to those who had an extended duration, the difference is statistically significant and is 37 kg (7.7%) for $P > 0.99$. For 305 days of the first three complete lactation periods, the advantage over the diets and the yield of the resulting milk fat belongs to animals with a short duration of prenatal growth period compared to animals who had extended period with a statistically significant difference ($P > 0.95-0.999$). There are no differences between experimental groups of animals for fatty milk. Herd mates with an average duration of prenatal period took the intermediate position. It has been found out that in animals of the Group I, the age of the first insemination and calving, in comparison with the herd mates of the Group III, was earlier, respectively: 5.9 and 11.4 days. Although all experimental groups of animals are showed satisfactory reproductive qualities, there is still a tendency to better values of these characteristics in animals with short duration of prenatal period.

Keywords: duration of prenatal growth period; body weight; weight gain; milk yield; reproductive ability.

Господарсько-корисні ознаки корів з різною тривалістю пренатального періоду росту

O. M. Черненко, O. I. Черненко

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

Анотація. Наведено результати вивчення тривалості пренатального періоду росту корів української червоної молочної породи та досліджено зв'язки цієї ознаки з продуктивними і відтворювальними якістьями. Дослідні тварини розподілені на три групи залежно від тривалості їх пренатального періоду: менше 274 днів – коротка (I група); 274–284 доби – середня (II група) і понад 284 доби – подовжена (III група). Межі між групами визначали на основі значення стандартного відхилення у варіаційному ряду ознак: коротка тривалість пренатального періоду – менше $-0,5\sigma$; середня – від $-0,5\sigma$ до $+0,5\sigma$; подовжена – понад $+0,5\sigma$. Найсуттєвіша різниця за живою масою серед груп тварин спостерігали у віці 6 та 12-ти місяців. У ці періоди вона статистично значуща на користь особин із короткою та середньою тривалістю пренатального періоду ($P > 0,95$). У тварин усіх груп періодом інтенсивнішого росту виявилися перші шість місяців життя, які характеризуються найвищими абсолютними, середньодобови-

ми та відносними приростами. Проте телиці з подовженим періодом пренатального росту поступалися тваринам із короткою та середньою його тривалістю за цими ознаками відповідно на: 11,4 кг (9,1%) за $P > 0,99$; 63,4 г (9,2%) за $P > 0,999$; 6,0% за $P > 0,95$ та 9,3 кг (7,4%) за $P > 0,99$; 51,9 г (7,6%) за $P > 0,999$ і 4,2% за $P > 0,95$. У віці від 12 до 18-ти місяців інтенсивніше зростали телиці з подовженою тривалістю пренатального періоду порівняно з однолітками, що мали коротку та середню тривалість. Між групами тварин встановлена статистично значуща різниця за показниками приростів живої маси ($P > 0,99$). Проміри тіла первісток всіх груп характерні для худоби молочного напрямку продуктивності. Суттєвої різниці за цими ознаками між дослідними групами тварин не встановлено. Тварини всіх дослідних груп після першого отелення мали вищу масу тіла відносно стандарту для української червоної молочної породи (470 кг). Але значно вищою живою масою характеризувалися первістки з коротким періодом пренатального росту порівняно з однолітками, що мали подовжену його тривалість, різниця статистично значуща і становила 37 кг (7,7%) за $P > 0,99$. За 305 днів перших трьох закінчених лактацій перевага за надоями та виходом одержаного молочного жиру належала тваринам із короткою тривалістю пренатального періоду росту порівняно з однолітками, що мали подовжений період, за статистично значущою різницею ($P > 0,95-0,999$). За жирномолочністю відмінностей між дослідними групами тварин не встановлено. Однолітки зі середньою тривалістю пренатального періоду зайняли проміжне положення. З'ясовано, що у тварин I групи, порівняно з однолітками III групи раніше настав вік першого осіменіння і отелення, відповідно, на 5,9 та 11,4 днів. Усі дослідні групи тварин характеризувалися задовільними відтворювальними якостями, проте спостерігалася тенденція до кращого значення цих ознак у тварин із короткою тривалістю пренатального періоду.

Ключові слова: маса тіла; природи; молочна продуктивність; відтворювальна здатність.

Вступ

Важливим питанням системи племінної роботи є дослідження потенційних продуктивних і біологічних особливостей тварин, розробка методів їх прискореної оцінки (Chernenko & Hyl', 2015). На сучасному етапі визначилися такі основні напрями: прогнозування з метою ранньої оцінки племінних і господарсько-корисних ознак та прогнозування продуктивності потомства, одержаного від схрещування. Увагу дослідників привертає жива маса телят при народженні, як одна з найбільш ранніх селекційних ознак, що може мати значення в прогнозуванні крупності тварин, а також у формуванні майбутньої продуктивності (Chernenko & Chernenko, 2010).

З аналізу наукової літератури зрозуміло, що більшість вітчизняних і зарубіжних досліджень обмежуються вивченням взаємозв'язків між рівнем розвитку тварин на ранніх етапах постнатального періоду з продуктивністю і відтворювальною здатністю. Наведено різні дані про зв'язок живої маси з подальшими надоями. Повідомляється, що в разі отримання надто високих приростів із телят виростають менш молочні корови, оскільки надмірна годівля спричиняє утворення та відкладення жиру в тілі, а також змінює тип худоби (Yin & König, 2018).

На думку вчених, маса тіла телиць голштинської породи в подальшому має суттєвий вплив на їх молочну продуктивність. Корови з масою тіла за першого отелення в межах 477–550 кг характеризуються вищими надоями, виходом молочного жиру і білка (Zanton & Heinrichs, 2005).

Встановлено, що рослі телята при народженні виростають у корів, які здатні споживати велику кількість об'ємистих кормів і в першу лактацію дають більше молока без значного навантаження на організм (Van De Stroet et al., 2016). Це досягається за рахунок доброго розвитку лінійних розмірів скелета (осьового та периферичного), середньої частини тулуба і грудей, проте не за рахунок ожиріння та надмірного розвитку мускулатури.

Отже, можливість селекції за масою тіла тварин очевидна, але водночас оцінка корів за цією ознакою потребує вдосконалення, і насамперед з урахуванням типу будови тіла.

Розвиток організму тварини в пренатальний період у меншій мірі залежить від умов доквілля, ніж у постнатальний. Але неможливо стверджувати, що плід зовсім не підлягає зовнішньому впливу. Відомо, що рівень годівлі та склад раціону, хвороби і функціональна напруга організму матері відображаються на розвитку плоду – його величині, здоров'ї, тривалості пренатального розвитку і життєздатності (Azzam et al., 1993; Wolfenson et al., 2000; Hansen et al., 2002; Tao et al., 2012; Merlot et al., 2013; Strong et al., 2015; Guo et al., 2016; Monteiro et al., 2016; Chernenko et al., 2017).

У період пренатального розвитку сільськогосподарських тварин під впливом спадковості та стану материнського організму формуються особливості будови тіла, їх фізіологічні функції, рівень продуктивності, розвиток яких після народження здебільшого визначається умовами в пренатальний період (Chernenko & Hyl', 2015).

Доведено, що за показниками абсолютних, середньодобових та відносних приростів до 6-місячного віку краще зростали та розвивалися телички симентальської породи з короткою і середньою тривалістю пренатального періоду та незалежно від його тривалості; найкращою ембріональною швидкістю росту характеризуються телички зимового сезону народження (Gordiyuchuk et al., 2015; 2017). Автори стверджують, що тривалість пренатального періоду розвитку тварин впливає на вік першого осіменіння та рівень їх надоїв за першу лактацію. Так, у телиць із середньою тривалістю пренатального періоду розвитку (284,6 доби) фізіологічна зрілість настала в 18,1 місяця, тоді як в одноліток із скороченим терміном (278,7 доби) – у 18,6 місяця, із подовженою тривалістю (293,1 доби) – у 18,3 місяця. Вік плідного осіменіння розпочинався раніше у тварин з вищою масою тіла при народженні. Найвищий рівень надоїв (4499 кг) мали первістки зі середньою тривалістю пренатального періоду порівняно з однолітками, у яких він короткий і подовжений.

Отже, слід відмітити існуючу неоднозначність для селекції інтенсивності пренатального розвитку, маси тіла тварин при народженні та їх швидкості росту в постнатальний період. Згадані ознаки відіграють свою роль у селекційному процесі щодо прогнозування майбутньої молочної продуктивності. Зв'язок маси тіла корів і тривалості пренатального розвитку з їх молочною продуктивністю та відтворювальною здатністю недостатньо вивчено на тваринах української червоної молочної породи, яку нині розводять на території центральних і південних регіонів України. У цьому напрямі й були проведені наукові дослідження. Мета – з'ясувати зв'язок інтенсивності пренатального розвитку корів української червоної молочної породи, їх маси тіла при народженні та швидкості росту в постнатальний період із продуктивними і відтворювальними якостями.

Матеріал і методи досліджень

Загальна чисельність поголів'я – 86 корів одноліток за віком і аналогів за фізіологічним станом, які мали три закінчені лактації. Дослідне поголів'я належало СПП «Чумаки» Дніпропетровської області, утримувалося безприв'язним боксовим способом із годівлею з кормових столів та доїнням у доїльній залі на доїльній установці типу авторотор «Карусель».

Тварин розподілили на три групи залежно від тривалості їх пренатального розвитку: менше 274 діб – коротка (I група); 274–284 доби – середня (II група) і понад 284 доби – подовжена (III група). Межі між групами встановлювали на основі значення стандартного відхилення у варіаційному ряду ознак: коротка тривалість пренатального періоду – менше $-0,5\sigma$; середня – від $-0,5\sigma$ до $+0,5\sigma$; подовжена – понад $+0,5\sigma$.

У період проведення досліджень визначали пренатальну швидкість росту як відношення маси тіла телят при народженні до тривалості їх пренатального розвитку та індекс ембріональної скороспілості за відношенням тривалості пренатального періоду розвитку плоду до його живої маси при народженні. У постнатальний період розвитку тварин урахували їх масу тіла в наступні вікові періоди: при народженні, у 3, 6, 9, 12, 18 місяців і після першого отелення на другому місяці лактації; визначали також абсолютний, середньодобовий і відносний прирости за формулами:

$$An = Wt - Wo,$$

де An – абсолютний приріст, кг;

Wo – показник маси тіла на початку періоду, кг;

Wt – показник маси тіла в кінці періоду, кг.

$$Cn = \frac{Wt - Wo}{t} \times 1000,$$

де Cn – середньодобовий приріст, г;

t – тривалість періоду, доба.

$$Bn = \frac{Wt - Wo}{(Wo + Wt) : 2} \times 100,$$

де Bn – відносний приріст за певний проміжок часу, %.

Екстер'єрні особливості первісток визначали шляхом взяття промірів тіла за загальноприйнятими методиками на 2–3-му місяці лактації, використовуючи мірну палицю, циркуль і стрічку.

Результати та їх обговорення

Ріст телиць української червоної молочної породи з різною тривалістю пренатального періоду відбувався неоднаково в постнатальний період (табл. 1). Статистично значущу різницю за живою масою серед досліджуваних груп тварин спостерігали у віці 6 і 12 місяців на користь особин із короткою та середньою тривалістю пренатального періоду. У віці 6-ти місяців телички першої та другої дослідних груп мали живу масу відповідно, 170,9 та 169,7 кг і переважали одноліток третьої групи на 9,7 кг (6,0%) за $P > 0,99$ та 8,5 кг (5,3%) за

$P > 0,95$. У віці 12-ти місяців за показниками живої маси між цими групами тварин спостерігали аналогічну залежність. У 18-місячному віці жива маса телиць трьох груп була практично однаковою.

Встановлена вища ембріональна швидкість росту в пренатальний період у тварин першої й другої груп порівняно з однолітками третьої групи, відповідно на 1,2 та 1 г. Аналогічну залежність між групами тварин спостерігали і за індексом ембріональної скороспілості. Більш виразну уяву про інтенсивність росту організму тварин із різною тривалістю пренатального періоду росту надають дані абсолютних і середньодобових приростів (табл. 2).

Для всіх груп тварин періодом найінтенсивнішого росту були перші шість місяців життя, коли абсолютний і середньодобовий прирости виявилися найвищими. Проте телиці III групи поступалися тваринам I та II груп за цими ознаками, відповідно, на: 11,4 кг (9,1%) за $P > 0,99$; 63,4 г (9,2%) за $P > 0,999$; 9,3 кг (7,4%) за $P > 0,99$ та 51,9 г (7,6%) за $P > 0,999$. У другому півріччі тварини всіх груп суттєво не відрізнялися між собою за показниками приростів. У наступний віковий період (12–18 місяців) більш інтенсивно росли телиці III групи, ніж I та II. Різниця становила за абсолютними приростами, відповідно, 4,9 кг (6,2%) за $P > 0,99$ та 5,9 кг (7,6%) за $P > 0,99$, за середньодобовими приростами 26,7 г (6,2%) за $P > 0,99$ та 32,2 г (7,6%) за $P > 0,99$.

Для детальнішого вивчення особливостей росту та розвитку організму тварин залежно від тривалості їх пренатального розвитку, на нашу думку, важливим було з'ясувати взаємозв'язок між величиною ростучої маси і швидкістю росту, тобто напругу росту організму тварин із різною тривалістю їх пренатального періоду. З цієї метою розраховані відносні прирости.

Вищою енергією росту в перші шість місяців відзначилися телиці з коротким і середнім періодами пренатального розвитку. У наступні два 6-місячні періоди телиці III групи помітно переважали особин I та II груп за показниками відносних приростів, відповідно, на 2,2% і 2,3% за статистично значущою різницею ($P > 0,99$).

У подальшому віковій періоді життя тварини всіх дослідних груп мали досить гармонійну будову тіла і високі показники живої маси (табл. 3).

Після першого отелення у тварин усіх дослідних груп були вищі показники живої маси відносно стандарту для української червоної молочної породи (470 кг). Проте більшою масою тіла характеризувалися особини з I групи, у яких різниця з однолітками II та III груп становила, відповідно, 17 кг (3,4%) та 37 кг (7,7%) за $P > 0,99$.

Таблиця 1. Вікова динаміка живої маси телиць залежно від тривалості пренатального періоду, $\bar{X} \pm S_x$

Віковий період, місяць	Група тварин		
	I, n=20	II, n=47	III, n=19
	тривалість пренатального періоду, доба		
	коротка, до 274	середня, 274–284	подовжена, понад 284
При народженні	33,8 ± 0,5	34,7 ± 0,4	35,5 ± 0,5
3	101,2 ± 2,9	102,1 ± 1,7	93,9 ± 2,3
6	170,9 ± 2,4**	169,7 ± 2,6*	161,2 ± 2,5
9	228,2 ± 2,2	230,2 ± 4,0	221,6 ± 4,2
12	285,7 ± 3,6*	283,9 ± 2,4*	275,5 ± 3,2
18	364,2 ± 5,9	361,4 ± 3,5	359,2 ± 6,1
Ембріональна швидкість росту, г	125,0 ± 1,3	124,8 ± 1,6	123,8 ± 1,3
Індекс ембріональної скороспілості	8,00 ± 0,04	8,01 ± 0,07	8,08 ± 0,05

Примітка: * – $P > 0,95$; ** – $P > 0,99$ порівняно з третьою групою.

Таблиця 2. Вікова динаміка приростів живої маси телиць залежно від тривалості пренатального періоду, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Віковий період, місяць	Група тварин		
	I, n = 20	II, n = 47	III, n = 19
	тривалість пренатального періоду, доба		
	коротка, до 274	середня, 274–284	подовжена, понад 284
Абсолютний приріст, кг			
0–6	137,1 ± 2,6**	135,0 ± 2,5**	125,7 ± 2,4
6–12	114,8 ± 1,9	114,2 ± 1,8	114,5 ± 1,6
12–18	78,5 ± 1,2	77,5 ± 1,1	83,4 ± 1,2**
0–18	330,4 ± 9,8	326,7 ± 9,2	323,4 ± 9,5
Середньодобовий приріст, г			
0–6	749,2 ± 7,4***	737,7 ± 8,8***	685,8 ± 7,2
6–12	630,8 ± 5,9	627,5 ± 6,8	629,1 ± 6,1
12–18	429,0 ± 6,3	423,5 ± 5,9	455,7 ± 6,5**
0–18	602,9 ± 6,6	596,2 ± 7,2	590,1 ± 7,6
Відносний приріст, %			
0–6	133,9 ± 1,6**	132,1 ± 1,5*	127,9 ± 1,3
6–12	50,3 ± 0,7*	50,3 ± 0,7	52,5 ± 0,6
12–18	24,1 ± 0,5**	24,0 ± 0,5	26,3 ± 0,5

Примітка: * – $P > 0,95$; ** – $P > 0,99$; *** – $P > 0,999$ порівняно з третьою групою.

Таблиця 3. Проміри тіла та жива маса первісток залежно від тривалості їх пренатального періоду, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Проміри тіла	Група тварин		
	I, n=20	II, n=47	III, n=19
	тривалість пренатального періоду, доба		
	коротка, до 274	середня, 274–284	подовжена, понад 284
Висота у холці, см	130,8 ± 1,5	129,5 ± 1,7	130,0 ± 1,4
Глибина грудей, см	71,9 ± 1,2	71,3 ± 1,7	71,1 ± 1,4
Ширина грудей, см	45,2 ± 0,9	43,7 ± 1,5	43,6 ± 1,1
Ширина в маклаках, см	53,8 ± 1,3	54,0 ± 1,7	53,3 ± 1,4
Коса довжина тулуба, см	159,5 ± 1,6	158,5 ± 1,3	158,3 ± 1,1
Обхват грудей, см	191,5 ± 2,8	187,2 ± 2,6	188,8 ± 1,9
Обхват п'ястку, см	18,8 ± 0,4	18,6 ± 0,7	18,5 ± 0,5
Жива маса, кг	517 ± 8,4 **	500 ± 10,3	480 ± 10,6

Примітка: ** – $P > 0,99$ порівняно з третьою групою.

У першу закінчену лактацію перевага за надоями належить первісткам з I та II груп порівняно з однолітками III групи. Різниця вірогідна і дорівнює, відповідно: 269 кг (7,4%) за $P > 0,95$ та 208 кг (5,7%) за $P > 0,95$. Аналогічну залежність спостерігали й щодо виходу молочного жиру. За вмістом жиру в молоці дослідні групи тварин майже не відрізнялися (табл. 4).

У другу закінчену лактацію суттєва перевага за надоями належить тваринам I групи порівняно з аналогами II і III груп. Різниця становила, відповідно: 254 кг (6,3%) та 386 кг (10,0%) за $P > 0,99$. За кількістю молочного жиру реєстрували таку саму залежність, що і за надоями. Суттєвих відмінностей між дослідними групами тварин щодо жирномолочності не встановлено.

За кількістю надоеного молока та одержаного молочного жиру в третю закінчену лактацію встановили подібну залежність, що і за дві попередні, з більш значущою різни-

цею. Так, перевага за надоем між крайніми групами тварин становила 518 кг (12,3%) за $P > 0,999$, за молочним жиром – 18,8 кг (12,0%) за $P > 0,99$ на користь особин із коротким періодом пренатального розвитку. За жирномолочністю відмінностей між групами тварин не встановлено. Однолітки зі середньою тривалістю пренатального періоду зайняли проміжне положення.

Відтворювальна здатність поголів'я є одним із численних факторів, що впливають на молочну продуктивність корів. Чим регулярніші отелення, тим більша кількість лактацій протягом життя тварини та більше потомства. Це сприяє вищій вірогідності оцінки молочної продуктивності корів, їх плеємної цінності, дає змогу використовувати інтенсивний відбір нового покоління тварин.

Аналізом відтворювальної здатності корів, залежно від тривалості їх пренатального розвитку, з'ясовано, що вік першого

Таблиця 4. Молочна продуктивність корів залежно від тривалості пренатального періоду, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Ознака	Група тварин		
	I, n = 20	II, n = 47	III, n = 19
	тривалість пренатального періоду, доба		
	коротка, до 274	коротка, до 274	коротка, до 274
Перша лактація			
Надій за 305 діб, кг	3885 ± 82,2 *	3824 ± 78,5 *	3616 ± 63,3
Вміст жиру, %	3,7 ± 0,04	3,7 ± 0,04	3,7 ± 0,05
Молочний жир, кг	145,3 ± 3,6	142,6 ± 3,2	135,6 ± 4,1
Друга лактація			
Надій за 305 діб, кг	4256 ± 99,5**	4002 ± 79,8	3870 ± 96,4
Вміст жиру, %	3,8 ± 0,03	3,8 ± 0,02	3,8 ± 0,03
Молочний жир, кг	160,0 ± 5,0*	150,9 ± 3,1	145,1 ± 4,7
Третя лактація			
Надій за 305 діб, кг	4726 ± 105,1***	4615 ± 72,2	4208 ± 96,1
Вміст жиру, %	3,7 ± 0,04	3,7 ± 0,03	3,73 ± 0,03
Молочний жир, кг	175,8 ± 4,6**	172,1 ± 3,2**	157,0 ± 3,8

Примітка: * – P > 0,95; ** – P > 0,99; *** – P > 0,999 порівняно з третьою групою.

осіменіння та отелення настав раніше у тварин із коротким пренатальним періодом порівняно з однолітками з подовженим періодом, відповідно, на 5,9 доби (1,1%) і 11,4 доби (1,4%) – табл. 5.

Тварини I групи порівняно з однолітками III групи мали коротші сервіс-період на 4,5 доби (4,8%), сухостійний період на 1,9 доби (3,1%) і міжотельний період на 12,8 доби (3,4%). Деяко вищим коефіцієнтом відтворювальної здатності характеризувалися корови I та II груп.

Попередньо встановлено, що телички з меншою живою масою при народженні стають продуктивнішими коровами, а короткий (274,2 доби) і середній (280,3 доби) періоди пренатального розвитку властиві коровам із вищими надоями (Vats'kyu & Velychko, 2013).

З'ясовано вплив маси тіла при народженні телиць на захворюваність після першого отелення на мастит, діарею, респіраторні хвороби та захворювання ратиць (Yin & König, 2018). Встановлено, що телиці, які мали масу тіла при народженні вищу, більш схильні до порушення загального обміну речовин і згаданих хвороб. Визначено коефіцієнт успадкованості маси тіла телят при народженні на рівні 0,47.

Досліджено вплив висоти в кульшових суглобах телят на швидкість росту в подальші періоди онтогенезу та молочну

продуктивність (Van De Stroet et al., 2016). Визначено, що телята, які характеризувалися середньою величиною проміру, були більш продуктивними коровами. Найгіршими по надоях ставали корови, які в ранньому віці мали цей промір найменшим. Крім цього, вони характеризувалися найнижчою життєздатністю і частіше за інших вибували зі стада, ще до завершення першої лактації. У телят, що народилися вищими в кульшовому суглобі, не спостерігали вищих надоев у першу лактацію, але тварини мали вищі життєздатність і живу масу в продуктивному віці.

Визначено, що маса тіла телиць має суттєвий вплив на їх у подальшому молочну продуктивність (Zanton & Heinrichs, 2005). Так, корови, у яких маса тіла за першого отелення була в межах 477–550 кг, характеризувалися вищими надоями та виходом молочного жиру і білка, ніж тварини з меншою масою.

Таким чином, тривалість пренатального періоду росту, жива маса та загальний розвиток організму телиць у постнатальний період мають спадкову зумовленість і впливають на життєздатність та молочну продуктивність корів. Різна тривалість пренатального періоду росту та інтенсивність росту телиць у ранньому онтогенезі можуть бути селекційними ознаками в процесі відбору.

Таблиця 5. Відтворювальна здатність корів залежно від тривалості пренатального періоду, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Ознака, доба	Група тварин		
	I, n=20	II, n=47	III, n=19
	тривалість пренатального періоду, доба		
	коротка, до 274	коротка, до 274	коротка, до 274
Вік першого осіменіння	549,3 ± 3,5	553,0 ± 4,8	555,2 ± 3,9
Вік першого отелення	826,7 ± 4,9	833,2 ± 5,3	838,1 ± 5,7
Сервіс-період	92,3 ± 5,3	92,0 ± 4,5	96,8 ± 5,0
Сухостійний період	60,2 ± 3,3	63,8 ± 3,7	62,1 ± 2,8
Міжотельний період	369,7 ± 5,4	372,2 ± 6,1	382,5 ± 5,9
Коефіцієнт відтворювальної здатності	0,99 ± 0,04	0,98 ± 0,05	0,95 ± 0,04

Висновки

Тривалість пренатального періоду розвитку впливає на масу тіла тварин при народженні, швидкість росту їх організму в постнатальний період, відтворювальні здібності та рівень майбутньої молочної продуктивності. Тварини з коротким (до 274 діб) і середнім (274–284 діб) пренатальним періодом мають вищу інтенсивність росту організму після народження до 18-місячного віку.

Ремонтні телиці з короткою та середньою тривалістю пренатального періоду і з меншою масою тіла при народженні, але в межах допустимих відхилень, виростають у продуктивніших корів. Вік першого осіменіння і отелення в них настає раніше, тривалість сервіс-періоду, сухостійного і міжотельного періодів – коротша.

Коротка та середня тривалість пренатального періоду росту організму тварин поєднується із вищою молочною продуктивністю та кращою функцією відтворення, що слід враховувати при відборі задля подальшого розвитку стада.

Перспектива подальших досліджень полягатиме у вивченні зв'язку інтенсивності росту та розвитку організму тварин у пренатальний і постнатальний періоди з тривалістю їх продуктивного використання.

References

- Azzam, S. M., Kinder, J. E., Nielsen, M. K., Werth, L. A., Gregory, K. E., Cundiff, L. V., & Koch, R. M. (1993). Environmental effects on neonatal mortality of beef calves. *Journal of Animal Science*, 71(2), 282–290.
- Chernenko, O. I., & Chernenko, Y. O. (2010). Produktivnist' molochnoyi khudoby zalezho vid spadu enerhiyi rostu v rann'omu ontogenezi [Productivity of dairy cattle depending on the decline of growth energy in early ontogenesis]. *Visnyk Ahrarnoyi Nauky Prychornomor'ya*, 1(52), 101–106 (in Ukrainian).
- Chernenko, O. M., & Hyl', M. I. (2015). Konstytutsiya ta molokoproduktyvnist' koriv ukrayins'koyi chervonoyi molochnoyi porody [Constitution and milk production of cows of Ukrainian red dairy breeds]. *Tvarynystvo Ukrainy*, 5, 20–26 (in Ukrainian).
- Chernenko, O. M., Chernenko, O. I., & Sanjara, R. A. (2017). The quality of colostrum and vitality of calves, born from cows with different reaction to stress experiences. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(2), 299–303.
- Guo, J.-R., Monteiro, A. P. A., Weng, X.-S., Ahmed, B. M., Laporta, J., Hayen, M. J., Dahl, G. E., Bernard, J. K., & Tao, S. (2016). Short communication: effect of maternal heat stress in late gestation on blood hormones and metabolites of newborn calves. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6804–6807.
- Hansen, P. J. (2002). Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. *Journal of Animal Science*, 80(2), 33–44.
- Gordiyuchuk, N. N., Gordiyuchuk, L. N., & Vakhutkevych, I. U. (2015). The growth, development and productivity of dairy cows depending on the length of embryogenesis. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 17(3), 148–154 (in Ukrainian).
- Gordiyuchuk, N., Denkovich, B., & Gordiyuchuk, L. (2017). The rate of growth calves Simmental depending on the duration of embryogenesis and season of birth. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 19(74), 143–146.
- Merlot, E., Quesnel, H., & Prunier, A. (2013). Prenatal stress, immunity and neonatal health in farm animal species. *Animal*, 7(12), 2016–2025.
- Monteiro, A. P. A., Guo, J.-R., Weng, X.-S., Ahmed, B. M., Hayen, M. J., Dahl, G. E., Bernard, J. K., & Tao, S. (2016). Effect of maternal heat stress during the dry period on growth and metabolism of calves. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3896–3907.
- Strong, R. A., Silva, E. B., Cheng, H. W., & Eicher, S. D. (2015). Acute brief heat stress in late gestation alters neonatal calf innate immune functions. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7771–7783.
- Tao, S., Monteiro, A. P. A., Thompson, I. M., Hayen, M. J., & Dahl, G. E. (2012). Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 95(12), 7128–7136.
- Vats'kyi, V. F., & Velychko, S. A. (2013). Pokaznyky rann'oho ontogenezu molochnoyi khudoby i mozlyvosti yikh vykorystannya dlya pidvyshchennya produktyvnosti molochnykh stad [Indicators of early ontogeny of dairy cattle and the possibility of their use for increasing the productivity of dairy herds]. *Visnyk Poltav's'koyi Derzhavnoyi Ahrarnoyi Akademiyi*, 1, 80–84 (in Ukrainian).
- Van De Stroet, D. L., Calderón Díaz, J. A., Stalder, K. J., Heinrichs, A. J., & Dechow, C. D. (2016). Association of calf growth traits with production characteristics in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 99(10), 8347–8355.
- Wolfenson, D., Roth, Z., & Meidan, R. (2000). Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Animal Reproduction Science*, 60-61, 535–547.
- Yin, T., & König, S. (2018). Genetic parameters for body weight from birth to calving and associations between weights with test-day, health, and female fertility traits. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2158–2170.
- Zanton, G. I., & Heinrichs, A. J. (2005). Meta-Analysis to Assess Effect of Prepubertal Average Daily Gain of Holstein Heifers on First-Lactation Production. *Journal of Dairy Science*, 88(11), 3860–3867.

Original researches

Methods of Diagnosis and Treatment of Ascending Syndrome in Dogs

Received: 19 June 2018
Revised: 04 July 2018
Accepted: 06 July 2018

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

Tel.: +38-097-375-54-97
E-mail: biloshytskyroman@nubip.edu.ua

Cite this article: Biloshytsky, R. V. (2018).
Methods of diagnosis and treatment
of ascending syndrome in dogs. *Theoretical
and Applied Veterinary Medicine*, 6(3), 29-33.
doi: 10.32819/2018.63006

R. V. Biloshytsky
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Abstract. The features of the clinical course and the effectiveness of the proposed schemes of complex therapy with spinal injuries in dogs were determined. The algorithm of complex treatment includes the introduction of glucocorticosteroid and analgesic drugs, vitamin aids with a pronounced antioxidant effect and osmotic diuretics. In cases of secondary complications or the development of ascending syndrome, it is advisable to use beta-lactam antibiotics with the following instillations of glucocorticosteroid drugs in order to block the spinal muscles and intervertebral space in the affected area and operative access. This helps to reduce the accumulation and formation of acid metabolites and carbon dioxide in the injured areas. For spinal cord and spinal cord injuries, the introduction of «Mannitol» osmolar diuretic is recommended to reduce soft tissue edema and prevent the formation of peroxide lipids. It is noted that the development of ascending myelomalacia causes a pronounced neurological deficiency with signs of paresis and limb paralysis, a significant decrease in muscle tone, and often a loss of surface sensitivity. Depending on the etiological factor that causes myelomalacia, a prognosis is anticipated that often has an unfavorable outcome. Conscientious implementation of the recommendations for the treatment of pathological process increases the probability of restoring the function of the axial skeleton. The main diagnostic methods are reduced to the performance of contrast myelography and digital x-ray examination in two projections. For a clear visualization of soft tissues it is necessary to conduct MRI diagnostics with the definition of spinal diseases and the degree of damage to the spinal cord. It has been established that the early performance of MRI diagnostics makes it possible to detect organic damage to the spinal cord and to conduct timely decompression using the hemilaminectomy method.

Keywords: spinal injury; myelography; spinal cord; dogs; limb paralysis; demyelination.

Методи діагностики та лікування висхідного синдрому в собак

Р. В. Білошицький
Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

Анотація. Встановлено особливості клінічного перебігу та визначено ефективність запропонованих схем комплексної терапії за хребтно-спинномозкових травм у собак. Алгоритм комплексного лікування включає введення глюкокортикостероїдних і анальгетичних препаратів, вітамінних засобів із вираженим антиоксидантним ефектом, осмотичних діуретиків. У випадках вторинних ускладнень або розвитку висхідного синдрому є доцільним використання антибіотиків бета-лактамного ряду з подальшими інстиляціями глюкокортикостероїдних засобів у вигляді блокади в м'язи хребта та міжхребцевої простір у зоні ураження і операційного доступу. Це сприяє зменшенню накопичення та утворення кислих метаболітів і вуглекислоти в ушкоджених ділянках. За травм хребта та спинного мозку рекомендовано внутрішньовенне введення осмоларного діуретичного засобу «Манітол» для зменшення набряку м'язів тканин і запобігання утворенню перекисних ліпідів. Розвиток висхідної мієломалії спричиняє виражений неврологічний дефіцит з ознаками парезів і паралічів кінцівок, значне зниження тону м'язів, нерідко втрату поверхневої чутливості. Залежно від етіологічного фактора, що спричиняє мієломалію, формується прогноз, який нерідко має неблагоприємний наслідок. Сумлінне виконання рекомендацій по схемі лікування патологічного процесу збільшує вірогідність відновлення функції осевого скелета. Основні методи діагностики зводяться до виконання контрастної мієлографії та проведення цифрового рентгенологічного дослідження у двох проекціях. Для чіткої візуалізації м'язів тканин необхідне проведення МРТ діагностики з визначенням хвороб хребта та ступеня ушкодження спинного мозку. Раннє виконання МРТ діагностики надає змогу виявити органічне ушкодження спинного мозку і провести своєчасну декомпресію методом геміламінектомії.

Ключові слова: травми хребта; мієлографія; спинний мозок; собаки; параліч кінцівок; демієлінізація.

Вступ

Головний і спинний мозок являє собою м'яку, пухку структуру, яка особливо чутлива до зовнішньої травми. Його підтримують і захищають частково оболонки мозку та спинномозковий ліквор, частково черепна кістка і хребці (Haulton & Taylor, 2016).

Травматичні uszkodження хребта частіше виникають у найбільш функціонально рухливих його ділянках: грудо-поперековому, шийно-грудному, попереково-крижовому переходах (Sherstnev, 2008).

Основні етіологічні чинники, які викликають розвиток дегенеративної мієлопатії, класифікують за такими критеріями: травматичного характеру (перелом, люксація, сублюксація хребців і захворювання міжхребцевих дисків по Hunsen тип I (ознаки гострі та непрогресуючі); судинні патології – емболія волокнисто-хрящового кільця, гостра та безболісна (Yin, 2008; Katz et al., 2017).

Однією з причин виникнення компресії спинного мозку є грижа міжхребцевого диска по Hunsen тип II. Необхідно відзначити, що дегенеративне захворювання міжхребцевих дисків різних типів можна спостерігати в багатьох порід собак. Зокрема, можлива одночасна наявність обох типів дегенеративних захворювань міжхребцевих дисків (Tidwell, 2002; De Risio, 2015). За виникнення грижі розвивається компресія та травматичний струс спинного мозку, в результаті чого проявляються неврологічні ознаки. Контузія призводить до розриву аксонів і демієлінізації нервових волокон, геморагічного некрозу сірої речовини спинного мозку та зниженню кровотоку. Метаболічний механізм зумовлений ішемією внаслідок первинної травми й збільшує утворення вільних радикалів, які перевищують можливості захисних сил організму. Судинний механізм викликає подальший розвиток ішемії спинного мозку, обумовленої первинними та вторинними метаболічними процесами. Спинний мозок до певного часу здатний витримувати стиснення і компенсаторні навантаження, тому для зручності діагностики клінічні ознаки об'єднано в шість категорій. Відповідно, п'ята категорія пов'язана з компресійною ішемією спинного мозку. Якщо останню не усунути протягом 24–36 годин, то поступово, в результаті порушення кровообігу та набряку, розвивається дегенеративна мієломаліяція, що може спричинити деструктивні зміни речовини спинного мозку. Згідно зі статистичними даними, до них відносяться 10% уражень тораколюмбального відділу хребта. До шостої категорії належать пацієнти з висхідною мієломаліяцією, що розвивається після uszkodження спинного мозку або щойно розвинулася. При цьому порушується абдукція і аддукція тазових кінцівок, а клінічно відмічають параплегію, що прогресує до тетраплегії (Lokes et al., 2011).

Висхідна мієломаліяція проявляється руйнуванням тканини спинного мозку за його висхідного розм'якшення, руйнуючи при цьому паренхіму та корінці спинномозкових нервів, які проходять на діафрагму і міжреберні м'язи. Пульпозне ядро міжхребцевого диска внаслідок розриву фіброзного кільця викликає ішемію тканини спинного мозку, яка пов'язана з необоротним uszkodженням тканини спинного мозку (Abramson et al., 2005). У результаті виникає порушення функції дихальної системи, що призводить до асфіксії та летального кінця тварини. Прогресуюча мієломаліяція розвивається за декілька днів після настання паралічу кінцівок. При цьому клінічно реєструється виражена депресія, гіперестезія, прогресуюча втрата рефлексів тазових кінцівок, а ділянка відповіді під час перевірки паннікулярного рефлексу змінюється краніально у 3–6% собак із серйозними неврологічними розладами, пов'язаними з дископатіями в тораколюмбальному відділі (Griffiths, 1972; Davies & Sharp, 1983; Wheeler & Thomas, 2011; Katz et al., 2017). Із літературних даних відомо, що висхідний синдром може бути пов'язаний з генетичними порушеннями фермента супероксид-

дисмутази (СОД1) у певних порід собак, наприклад німецький боксер і пемброк вельш коргі (Abramson et al., 2005).

Фізикальні методи діагностики ґрунтуються на клініко-неврологічному обстеженні, результатом якого повинен бути нейроанатомічний діагноз з описом найбільш вірогідної локалізації патології, відповідно до поділу спинного мозку на відділи С1–С5 і С6–Т2. Зокрема, під час проведення цифрової рентгенографії не можливо ідентифікувати спинний мозок, оцінити ступінь компресії та виявити ділянку ураженого сегмента. Тому в разі ураження нижніх рухомих нейронів прогноз часто неблагоприятний, а з пошкодженням верхніх рухомих нейронів – переважно обережний. За своєчасного надання консервативного лікування одужують до 50% тварин (Yin, 2008). Для встановлення діагнозу рекомендують використання магнітно-резонансного томографа, оскільки візуалізація спинного мозку при рентгенографії без введення контрастних речовин вважається неможливою. Враховуючи небезпечність розвитку висхідного синдрому після виконання оперативних втручань у ділянці хребта, дослідники визнають доцільним застосування його на практиці (Chang et al., 2007). На МР-томограмах краще відображаються м'які тканини, зокрема м'язи, хрящі, судини, елементи спинного мозку (Lokes et al., 2011).

Використання контрастної речовини під час виконання мієлографії дозволяє виявити зміни в менингеальних структурах, коли гематоменінгальний бар'єр стає проникним. У цьому випадку деякі uszkodження спинного мозку можна своєчасно діагностувати. Причиною незадовільної візуалізації міри ураженого міжхребцевого диска на мієлограмах є набряк спинного мозку, який блокує контрастну колону вздовж декількох хребців і рівней міжхребцевих дисків, відповідно. У результаті є підстави характеризувати мієлографію як чутливий метод для визначення місця компресії спинного мозку, але він не дозволяє визначити етіологічні фактори, які спричинили uszkodження (Fishchenko et al., 1997; Shelton et al., 2012).

У нормі контрастна речовина навколо спинного мозку на рентгенограмах відображається у вигляді двох паралельних смуг, вентральної та дорсальної колон. Без контрастної речовини контур спинного мозку не визначається, візуалізуються тільки контури кісткової тканини хребців. У випадку контузії спинного мозку в перші години після отриманої травми, мієлографію виконують для виявлення ділянки набряку останнього. З розвитком мієломаліяції контрастна речовина зміщується з частками некротизованих тканин ураженої ділянки спинного мозку, що також призводить до появи в ній помутніння чи гетерогенності рідини. Якщо захворювання не має гострого перебігу, то мієлографія вказує на фізіологічну норму чи локальну атрофію спинного мозку.

Мета роботи – визначити ефективну схему надання консервативної допомоги собакам під час розвитку висхідного синдрому внаслідок хребетно-спинномозкової травми.

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для досліджень слугували 3 собаки: 2 німецькі вівчарки віком 5 (♂) і 7 років (♀); короткошерста такса віком 4 роки (♂). Мієлографічне дослідження виконували з використанням рентгеноконтрастної речовини Томогексол 240 і 350 (мг/мл) залежно від живої маси тіла тварини. Переважна більшість авторів рекомендують дози від 0,2 до 0,4 мл/кг, але не більше 10 мл на 1 тварину. Після попередньо проведеного клінічного огляду та повного неврологічного дослідження застосовували седатію. На місці введення шерсть вистригали ножицями, шкіру обробляли розчином етилового спирту 70%, речовину в субарахноїдальний простір вводили через голку Spinosan з репером для недопущення розсікання спинномозкових нервів. Кількість введеного препарату становила від 3 до 6 мл у люмбо-сакральному відділі хребта. Рентгенологічне дослідження (RTG) проводили за використанням апарату ВАТЕЛ-1 з подаль-

шим виготовленням знімків у форматі DICOM для якісного аналізу отриманого матеріалу. Як додатковий метод діагностики використовували магнітно-резонансний томограф закритого типу з потужністю 0.3 Т. Для клінічних станів, які загрожували небезпеці стану тварини, використовували глюкокортикостероїдний препарат преднізолон (Prednisolone) двічі на добу протягом 3 діб. Наступні 3–5 діб дозу препарату знижували до 0,5 мг/кг через добу. Для відтермінованих станів проводили внутрішньом'язове введення метилпреднізолону натрію ацетат (Деро-Medrol) із комплексним уведенням вітамінних засобів із антиоксидантним ефектом.

Результати та їх обговорення

Під час введення контрастної речовини в люмбосакральний відділ хребта тваринам виконували премедикацію і загальну анестезію. У положенні на животі, собакам підтягували тазові кінцівки наперед, щоб відкрити доступ до люмбосакрального простору поперекового відділу хребта. Після обробки операційного поля пальпували остистий відросток поперекового хребця на рівні L5–L6 і вводили спінальну голку 18–20 G розміру з мандреном у каудальному напрямку під кутом 60–90° відносно поверхні шкіри. При потрапленні голки в епідуральний простір виникає відчуття «провалу». Томогексол важчий за ліквор, тому попереково-крижовий відділ хребта повинен знаходитися вище рівня розташування голови. Голку обережно просували до зіткнення з кісткою дна хребтового каналу, а потім вводили вперед доти, доки вона не потрапляла в субарахноїдальний простір. Мандрен видаляли та отримували ліквор шляхом обережної аспірації. Повільно вводили контрастну рідину та виконували рентгенівські знімки хребта в боковій і вентродорсальній (VD) проєкціях (табл. 1).

Після проведеної контрастної мієлографії з виконаною серією рентгенівських знімків у німецької вівчарки 5-ти років встановлено підозру на набряк спинного мозку в ділянці L1–L2. Наявність клінічних ознак у вигляді гіперекстензії грудних кінцівок і зниження чутливості до стану гіпостезії в ділянці попереково-крижового відділу хребта сприяло проведенню додаткового методу діагностики у вигляді МРТ. Отримані результати свідчили про наявність набряку в ділянці L1–L2 із частковим розривом спинного мозку та вираженою мієломаліцією. У результаті встановлений діагноз із синдромом Шифф-Шеррінгтона є досить небезпечним станом, що проявляється спастично витягнутими грудними кінцівками у вигляді гіперекстензії та одномоментним в'язим паралічем тазових кінцівок. Неврологічний синдром спостерігається за тяжких травм спинного мозку в тораколюмбальному відділі хребта. Рефлекси при цьому є правильними, а відчуття грудних кінцівок і довільна рухова функція – звичайними (Haulton & Taylor, 2016). Повний розрив спинного мозку за закритих переломів хребта зустрічається рідко. Проте при збереженні анатомічної цілісності останнього може бути порушення його функції (Slynko & Honda, 2010).

За ретельного неврологічного дослідження проведена фіксація тварини на ортопедичній дошці та виконана протишокова терапія. За допомогою інфузійного шприца вводили стерильний розчин метилпреднізолону натрію сукцинат (Solu-Medrol) у дозі 30 мг/кг – перше введення 15 мг/кг через 4 години і

7,5 мг/кг – через 6 годин. Через 8 годин після третього введення болісно застосували 2,5 мг/кг. Для зменшення утворення перекисних ліпідів внутрішньом'язово вводили α -токоферол ацетат як антиоксидант протягом 5-ти діб. Для зняття больового ефекту при синдромі пошкоджених каудальних відділів спинного мозку ін'єктували Бутомідор, один раз на добу, 5 діб підряд. У пізній період лікування препарат вводили симптоматично. Засіб володіє седативним ефектом, що сприяло зниженню рухливості пацієнта та дозволило повноцінно проводити медикаментозне лікування (табл. 2). Через 4 тижні лікування неврологічний дефіцит був менш виражений порівняно з первинним оглядом, зокрема, й ригідність хребта при пальпації. Повний курс реабілітації становив 19 тижнів, на момент огляду виявлені когнітивні явища у вигляді періодичного ступору, відмічені стирання кігтів на грудних кінцівках.

Синдром пошкоджених каудальних відділів спинного мозку характеризується відсутністю рухових порушень, які можуть проявлятися у вигляді плегій чи парезів у дистальних відділах кінцівок, іноді зі збереженням рефлексів; відсутність анального рефлексу або зменшення його чутливості по типу гіпостезії, порушення сечовипускання периферичного типу. Синдром епіконуса зумовлений травмами поперекового відділу, які нерідко супроводжуються вираженими крововиливами, що уражують і тиснуть на мозковий конус, часто ускладнюється арахноїдитами чи новоутвореннями ділянки хребта (Slynko & Honda, 2010).

У німецької вівчарки віком 7 років після проведеного рентгенологічного дослідження виявлено «взбуховий», компресійний перелом тіла хребця L2. За клінічного огляду діагностована значна ригідність хребта, виражений больовий синдром при пальпації тораколюмбального відділу, обмежені рухи у вигляді абдукції і аддукції тазових кінцівок. Пацієнту виконана протишокова терапія, підшкірно використовували глюкокортикостероїдні препарати у вигляді преднізолону (Prednisolone) у дозі 1 мг/кг живої маси тіла 2 рази на добу протягом 5 діб. Наступні 3–5 діб дозу знижували до 0,5 мг/кг через добу. Інфузійно вводили розчин аскорбінової кислоти – 100 мг на добу протягом 5 діб як антиоксидантний засіб. На 3 добу провели МРТ дослідження для встановлення цілісності спинного мозку. Виявлені ознаки розвитку висхідного синдрому в ділянці L1–L3 з осколковим переломом тіла хребця L2. Курс інтенсивної терапії виконували в повній мірі, і для зняття набряку спинного мозку внутрішньовенно вводили розчин «Манітол». На 6-ту добу після клінічного огляду відмічено зменшення неврологічного дефіциту, припинилися явища мідріазу. Проведений курс лікування надав змогу виконати оперативне втручання по стабілізації уламків другого поперекового хребця. Курс реабілітації тривав 9 тижнів; повторна рентгенологічна діагностика свідчила про відновлення функції опорно-рухового апарату (табл. 2).

Дослідження короткошерстої такси віком 4 роки встановило виражений больовий поріг у тораколюмбальному відділі хребта; обмежені рухи, обережність при пересуванні, ригідність хребта проявлялися незначно. Після проведеної контрастної мієлографії визначили топографічне розташування грижі міжхребцевого диска в ділянці L2. Згодом виконали МРТ дослідження грудо-поперекового відділу хребта за загальною

Таблиця 1. Локалізація ураження спинного мозку та вибір рентгеноконтрастної речовини

Тварина, вік, стать	Локалізація ураження спинного мозку	Контрастна речовина	Кількість введеної контрастної речовини, мл
Німецька вівчарка, 5 р. (♂)	L1–L2	Томогексол 240	6,0
Німецька вівчарка, 7 р. (♀)	L1–L3	Томогексол 240	4,8
Короткошерста такса, 4 р. (♂)	L1–L3	Томогексол 350	3,0

Таблиця 2. Методи діагностики та етіологічні фактори хребетно-спинномозкових патологій

Тварина	Основний етіологічний фактор	Супутні неврологічні синдроми	Форма перебігу процесу	Методи діагностики
Німецька вівчарка, 5 р. (♂)	Частковий розрив спинного мозку внаслідок контузії хребта (синдром Шифф-Шеррінгтона)	«Корінцевий синдром»; синдром пошкоджених каудальних відділів спинного мозку	Гостра	RTG; контрастна мієлографія; МРТ (як додатковий)
Німецька вівчарка, 7 р. (♀)	Компресійний перелом тіла хребця L2	«Корінцевий синдром»	Гостра	RTG; контрастна мієлографія; МРТ (як додатковий)
Короткошерста такса, 4 р. (♂)	Грижа міжхребцевого диска по Hunsen тип II	«Корінцевий синдром»	Хронічна	RTG; контрастна мієлографія; МРТ (як додатковий)

анестезії. Результат дослідження свідчив про наявність грижі міжхребцевого диска по Hunsen тип II, «корінцевий синдром». Комплексний курс лікування становив 30 днів із використанням глюкокортикостероїдних препаратів у вигляді метилпреднізолону натрію ацетат (Деро-Medrol) у дозі 1 мг/кг маси тіла тварини внутрішньом'язово, 1 раз на тиждень із кратністю 2–3 ін'єкції. Кількість введень залежала від ступеня ушкодження хребта та нервів і неврологічного дефіциту. Для обмеження больового ефекту при грижі міжхребцевого диска по Hunsen тип II ін'єктували Бутомідор, 1 раз на добу, 5 днів підряд. У пізній період лікування препарат вводили симптоматично. Вітамінний засіб Вітаксон вводили глибоко внутрішньом'язово через добу, 5 ін'єкцій. На 3 добу виконана геміламінектомія з подальшою декомпресією спинного мозку. У м'язи хребта і м'які тканини проводили інстиляцію Solu-Medrol для зняття запального процесу та зменшення набряку. На 8 добу лікування встановлено розвиток висхідної мієломаляції, курс лікування якої тривав 2 тижні. Загальний курс реабілітації становив 4 тижні, функція опорно-рухового апарату відновлена до фізіологічної норми (табл. 3).

Корінцевий синдром, який виникає в результаті здавлювання нервів у ділянці С6–Т2 за латерального зміщення диска характеризується сильною болючістю в ділянці попереку.

Випинання диска з формуванням грижі може виникнути з одного боку дорсальної продовгуватої зв'язки, що формує дно хребтового каналу. Внаслідок цього може розвинутися більше ураження однієї з кінцівок, ніж іншої. Поступове вип'ячування міжхребцевого диска може клінічно не проявлятися до певного моменту, оскільки нервова тканина здатна витримувати поступово наростаючу компресію набагато краще, ніж швидко здавлювання міжхребцевого диска по Hunsen тип II.

У всіх клінічних випадках проводили антибіотикотерапію препаратом із групи бета-лактамів «Тіенам» у кратності 2 рази на добу від 3-х до 5-ти внутрішньовенних введень. Враховуючи патогенез формування висхідного синдрому та потрапляння продуктів розпаду до спинномозкової рідини, застосували комплексний підхід для запобігання прогресування синдрому по висхідному чи низхідному типу.

У пацієнтів встановлений діагноз «висхідна мієломаляція» мав вторинний характер розвитку внаслідок дії на хребет і спинний мозок зовнішніх етіологічних факторів. Відповідно, ушкодження верхніх рухомих нейронів зберігало тенденцію до довготривалого лікування і терміну реабілітації з формуванням обережного прогнозу, тоді як за ураження нижніх рухомих нейронів прогноз, як правило, був ближче до неблагоприятного.

Таблиця 3. Лікарські засоби та методи консервативного лікування висхідного синдрому собак

Тварина	Схема лікування	Визначення методів лікування	Прогноз	Курс реабілітації, тиждень
Німецька вівчарка, 5 р. (♂)	Solu-Medrol α-токоферол ацетат; Бутомідор.	4-кратне введення глюкокортикостероїдів; введення антиоксидантів (вітамінів); протишокова терапія; фіксація на ортопедичній дошці.	Обережний (ушкодження верхніх рухомих нейронів)	19
Німецька вівчарка, 7 р. (♀)	Преднізолон; розчин аскорбінової кислоти; Манітол.	5-ти добове введення глюкокортикостероїдів; введення антиоксидантів (вітамінів); протишокова терапія; стабілізація уламків тіла хребця L2.	Обережний – до благоприємного (ушкодження верхніх рухомих нейронів)	9
Короткошерста такса, 4 р. (♂)	Деро-Medrol; Вітаксон; Бутомідор.	5-ти кратне введення глюкокортикостероїдів; введення вітамінів групи В; геміламінектомія.	Обережний – до благоприємного (ушкодження верхніх рухомих нейронів)	4

Висновки

За часткового розриву спинного мозку при синдромі Шифф-Шеррінгтона є доцільним введення розчину «Solu-Medrol» з 3-кратною ін'єкцією « α -токоферола ацетат» на добу протягом 5 днів і якісним знеболенням препаратом «Бутомідор» надає змогу запобігти розвитку висхідного синдрому в перші 72 години.

У випадку виникнення висхідного синдрому через 72–96 годин після отриманої травми або пошкодження цілісності спинного мозку рекомендовано введення антибіотиків бета-лактамового ряду з подальшою інстиляцією розчину «Solu-Medrol» у м'язи хребта та міжхребцевий простір у зоні пошкодження.

Виконуючи оперативні втручання в поперековому відділі хребта за можливості інвазивні оперативні доступи змінюють на менш травматичні.

За ранньої підозри на травму хребта та контузію спинного мозку доцільно провести МРТ дослідження після виконаної схеми консервативного лікування для усунення травматичного набряку та встановлення топічного діагнозу.

Обов'язковою умовою за хреботно-спинномозкових травм є внутрішньовенне введення осмоларного діуретичного засобу «Манітол» для зменшення набряку м'яких тканин спинного мозку.

Перспективи подальших пошуків. Планується подальша розробка нових схем лікування з наданням допомоги тваринам за хреботно-спинномозкових травм і розробка алгоритму діагностичних заходів для пацієнтів без даних детального анамнезу.

References

Abramson, C. J., Garosi, L., Platt, S. R., Dennis, R., & McConnell, J. F. (2005). Magnetic resonance imaging appearance of suspected ischemic myelopathy in dogs. *Veterinary Radiology Ultrasound*, 46(3), 225–229.

Chang, Y., Dennis, R., Platt, S. R., & Penderis, J. (2007). Magnetic resonance imaging of traumatic intervertebral disc extension in dogs. *Veterinary Record*, 160(23), 795–799.

Davies, J. V., & Sharp, N. J. H. (1983). A comparison of conservative treatment and fenestration for thoracolumbar intervertebral disc disease in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 24(12), 721–729.

De Risio, L. (2015). A review of fibrocartilaginous embolic myelopathy and different types of peracute non-compressive interver-

tebral disk extrusions in dogs and cats. *Frontiers in Veterinary Science*, 2(24), 1–9.

Fishchenko, V. Y., Guba, G. P., & Stashkevich, A. T. (1997). *Spravochnyk po neyroortopedyy* [Handbook for neuroorthopedics]. Uniti-Atlant, Kyiv (in Russian).

Griffiths, I. R. (1972). The extensive myelopathy of intervertebral disc protrusions in dogs ("the ascending syndrome"). *Journal of Small Animal Practice*, 13(8), 425–437.

Haulton, D. E. F., & Taylor, P. M. (2016). *Travmatologiya sobak i koshek* [Traumatology of dogs and cats]. Aquarium Print, Moscow (in Russian).

Katz, M. L., Jensen, C. A., Student, J. T., Johnson, G. C., & Coates, J. R. (2017). Cervical spinal cord and motor unit pathology in a canine model of SOD1-associated amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences*, 378, 193–203.

Lokes, P. I., Stovba, V. G., Kravchenko, S. O., Karisheva, L. P., & Grischuk, A. V. (2011). *Komp'yuterna, mahnitno-rezonansna tomohrafiya ta inshi suchasni metody diahnostryky u veterynarniy medytsyni dribnykh tvaryn* [Computer, magnetic resonance imaging and other modern diagnostic methods in veterinary medicine of small animals]. Dovkillya-K, Poltava (in Ukrainian).

Shelton, G. D., Johnson, G. C., O'Brien, D. P., Katz, M. L., Pesayco, J. P., Chang, B. J., Mizisin, A. P., & Coates, J. R. (2012). Degenerative myelopathy associated with a missense mutation in the superoxide dismutase 1 (SOD1) gene progresses to peripheral neuropathy in Pembroke Welsh Corgis and Boxers. *Journal of the Neurological Sciences*, 318(1–2), 55–64.

Sherstnev, S. V. (2008). *Chteniyе rentgenovskogo izobrazheniya pri issledovanii travmaticheskikh povrezhdeniy i zabolovaniy u koshek i sobak* [X-ray image reading in the study of traumatic injuries and diseases in cats and dogs]. Goschitsky, Yekaterinburg (in Russian).

Slynko, I. E., & Honda, A. N. (2010). *Travmaticheskiye povrezhdeniya pozvonochnika i spinnogo mozga* [Traumatic injuries of the spine and spinal cord]. Gama-Print, Kyiv (in Ukrainian).

Tidwell, L. C. (2002). Computer-Mediated Communication Effects on Disclosure, Impressions, and Interpersonal Evaluations: Getting to Know One Another a Bit at a Time. *Human Communication Research*, 28(3), 317–348.

Wheeler, S. D., & Thomas, V. B. (2011). *Nevrologiya melkikh domashnikh zhyvotnykh* [Neurology of small pets]. Aquarium Print, Moscow (in Russian).

Yin, S. (2008). *Polnyy spravochnik po veterinarnoy medytsine melkikh domashnikh zhyvotnykh* [A complete guide to veterinary medicine for small pets]. Aquarium Print, Moscow (in Russian).

Original researches

Erythrocyte System of Rat Blood During the Application of Fodder Additives of Humic Nature for Combined Stress

Received: 02 July 2018
Revised: 06 July 2018
Accepted: 09 July 2018

L. M. Diachenko, L. M. Stepchenko
Dnipro State Agrarian and Economics University, Dnipro, Ukraine

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

Tel.: +38-056-373-73-31
E-mail: linadyach@ukr.net
stepchenko.l.m@dsau.dp.ua

Cite this article: Diachenko, L. M.,
& Stepchenko, L. M. (2018). Erythrocyte
system of rat blood during the application
of fodder additives of humic nature
for combined stress. *Theoretical
and Applied Veterinary Medicine*, 6(3), 34–38.
doi: 10.32819/2018.63007

Abstract. The article is devoted to the research of possibility of preventive influence of antioxidants, feed additives of humic nature on the state of the erythrocytic system under the influence of combined water-immobilization stress. The animals were divided into five groups of 6 animals each: I – the group of intact animals (control); I–V – experimental groups. The animals of all experimental groups were added «Humilid» feed supplement orally (5 mg/kg of body weight per active ingredient), each animal individually with the help of a probe for 18 days, «Eco-Impulse Animal» (2.5 mg/kg of body weight), water and vitamin E (50 mg/kg of body weight). In the later period the animals of II, III, IV and V group were conditioned under stress simulation. The blood was analyzed by the number of erythrocytes, erythrocyte content, hematocrit, color index and calculated erythrocytic coefficients. It was established that in animals of group II, after the effect of combined water-immobilization stress, there is a significant decrease in the number of erythrocytes, hemoglobin content and the percentage ratio of formed blood elements is changing. The indices in animals received before the stress period of adding «Humilid», «Eco Impulse Animal» supplements and vitamin E showed no significant deviations from the control values. However, those rats which before the stress period were added «Eco-Impulse Animal» and vitamin E supplements to the diet, showed a significant increase in the average volume of red blood cells (MCV) and the average content of hemoglobin in erythrocyte (MCH). This fact points to the ability of these substances to influence the processes of blood condensation. The comparison of the influence of antioxidants, «Humilid» and «Eco-Impulse Animal» food additives with vitamin E on the hematological parameters of blood in rats indicates the presence of almost similar effect in the studied substances.

Keywords: erythrocytes; «Humilid»; «Eco-Impulse Animal»; alpha-tocopherol; stress.

Еритроцитарна система крові щурів на тлі застосування кормових добавок гумінової природи за комбінованого стресу

Л. М. Дяченко, Л. М. Степченко
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Анотація. Розглянуто можливість превентивного впливу антиоксидантів, кормових добавок гумінової природи на стан еритроцитарної системи за впливу комбінованого водно-імобілізаційного стресу. Тварин розділили на п'ять груп по 6 тварин: I – група інтактні тварини (контроль); II–V – дослідні групи. Тварини дослідних груп додатково отримували перорально, індивідуально за допомогою зонду протягом 18 діб воду, кормові добавки «Гумілід» (в розрахунку 5 мг/кг маси тіла за діючою речовиною), «Еко Імпульс Анімал» (2,5 мг/кг маси тіла) та вітамін Е (50 мг/кг маси тіла). У тварин II, III, IV та V груп моделювали стрес. У крові визначали кількість еритроцитів, вміст еритроцитів, гематокрит, кольоровий показник і розраховували еритроцитарні коефіцієнти. Встановили, що у тварин II групи, після впливу комбінованого водно-імобілізаційного стресу відбувається достовірне зменшення кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну та відсоткове співвідношення формених елементів. Показники тварин, які отримували в достресовий період кормові добавки «Гумілід», «Еко Імпульс Анімал» та вітамін Е, не зазнавали істотних відхилень від контрольних значень. Однак у щурів, які отримували в достресовий період додатково до раціону кормову добавку «Еко Імпульс Анімал» та вітамін Е, показники середнього об'єму еритроцитів і середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті достовірно збільшувалися. Цей факт указує на здатність цих речовин впливати на процеси згущення крові. Порівняння впливу антиоксидантів, кормових добавок «Гумілід», «Еко Імпульс Анімал» із вітаміном Е на гематологічні показники крові щурів свідчать про майже синонімічну дію досліджуваних речовин.

Ключові слова: Еритроцити; «Гумілід»; «Еко Імпульс Анімал», альфа-токоферол, стрес.

Вступ

За життя організм людини та тварин зазнає неодноразового впливу стрес-факторів різного генезу, який невід'ємно пов'язаний із проявами різних типів гіпоксії. Як наслідок, в організмі утворюється велика кількість активних форм кисню (АФК), які в свою чергу окислюють фосфоліпіди і білки клітинних мембран, порушуючи їх цілісність, інактивують клітинні та мембранні ферменти. У відповідь на прояви гіпоксичних станів у живому організмі запускається каскад адаптативних реакцій, які нівелюють функціональні порушення гомеостазу. Комбінування впливу різних стрес-факторів викликає надмірне утворення та накопичення АФК, призводить до запуску ланцюга патологічних станів, що створюють передумови для розвитку великої кількості захворювань (атеросклероз, ішемічна хвороба серця та ін.).

Першими в організмі тварин на дію стресу реагують компоненти периферичної крові. Негативний вплив АФК, передусім, приймають на себе еритроцити, які преважують серед інших клітин крові, мають велику площу клітинної мембрани і найбільшу концентрація кисню порівняно з іншими клітинами організму.

У мембрані еритроцитів, за впливу стресу, спостерігається зміна конформації ліпід-білкового бішару з його ущільненням. Це зумовлює зниження трансмембранної функції та формування більш жорсткої структури мембрани еритроцитів (Mastaloudis et al., 2004; Bordbar et al., 2011).

Одночасно, за дії стрес-факторів відбувається зростання в'язкості цитозолу еритроцитів, особливо в примембранному шарі (глікокаліксі), що призводить до накопичення в мембрані високотоксичних продуктів обміну речовин. Як наслідок, відбувається зниження транспорту речовин через мембрану, змінюється форма та розмір еритроцитів, з'являються аномальні за своїми агрегаційними властивостями клітини (Satoshi et al., 1989; Miller et al., 2003).

Структурно-функціональні перебудови еритроцитарної мембрани, викликані АФК за дії стрес-факторів, призводять до таких негативних порушень гомеостазу, які можуть запускати процеси еритроцитозу (від англ. Eryptosis – клітинна смерть), які характеризуються зменшенням об'єму еритроцитів, мембранним блебінгом (утворення випинань мембрани), активацією протеаз і виходом фосфатидилсерину на зовнішню частину мембранної поверхні (Manno et al., 2004). Поява високих концентрацій АФК супроводжується виникненням про- та антиоксидантного дисбалансу, зменшенням проникності кальційзалежних іонних каналів та виснаженням енергетичних ресурсів клітин (Lang, Duranton et al., 2003; Lang, Myssina et al., 2003).

Система антиоксидантного захисту (САЗ) включає цілий комплекс ферментативних та неферментативних систем, що дозволяють утилізувати вільні радикали, попередивши їх негативний вплив на організм. Однак САЗ тварин активна не постійно і залежить від низки факторів, зокрема від характеру, тривалості та сили стрес-факторів. Якщо процеси утворення АФК перевищують антиоксидантну здатність клітини, то має місце оксидативний стрес.

Основною групою препаратів, здатною протистояти оксидативному стресу, є антиоксиданти (АО), які інактивують вільні радикали та перешкоджають їх утворенню, беруть участь у відновленні САЗ, тобто препарати, що мають опосередковану антиоксидантну активність. Останні безпосередньо не є антиоксидантами, проте здатні активізувати САЗ, чи підвищувати ефективність природних антиоксидантів, або перешкоджати окисненню потенційних субстратів (Gubsky & Yurshenko, 2006).

Але терапевтичне використання таких сполук на практиці в багатьох випадках нереальне або з причини їх нестійкості, або через те, що вони не всмоктуються в організмі. Крім того, деякі АО ідеально ефективні в біохімічному плані як інактиватори пероксидів в експериментах *in vitro*, проте за парентерального

чи перорального вживання викликають виражені побічні ефекти, що робить неможливим їх застосування в клінічній практиці (Ivanov, 2001)

Одним з основних антиоксидантів вважають вітамін Е, який здатний захищати клітини організму від окисного стресу, за рахунок, мембрано-протекторних властивостей, реагувати з гідроксильним радикалом, інактивувати супероксидний радикал і пригнічувати ланцюгову реакцію перекисного окиснення мембранних ліпідів (Belay et al., 2001). Використання вітаміну Е зменшує ризик розвитку та прогресування атеросклерозу, дещо знижує високий рівень ліпопероксидів у крові хворих хронічними формами ішемічних хвороб серця, артеріальної гіпертензії (Ivanov, 2001). Тому перспективним напрямом досліджень є пошук природних речовин, здатних знижувати негативні наслідки окисного стресу та тим самим підвищувати неспецифічну резистентність та адаптаційну здатність організму тварин.

Відомо, що гумінові речовини можуть проявляти антиоксидантні властивості, які обумовлені наявністю великої кількості функціональних груп. Карбоксильні групи в структурі гумінових речовин, забезпечують їх участь в реакціях іонного обміну, присутність гідроксильних груп – у комплексоутворенні, а наявність ароматичних фрагментів – в окисно-відновних, донорно-акцепторних і гідрофобних взаємодіях (Stepchenko & Skorik 2006). Крім того, гумінові речовини можуть впливати на саму оксидантно-антиоксидантну систему, шляхом стимуляції процесів обміну та синтезу в організмі (Skorik & Stepchenko, 2006; Paronik et al., 2015). Вони здатні також швидко засвоюватись і включатись у метаболічні процеси організму, не мають токсичної дії, здатні підвищувати рівень резистентності організму тварин (Мухайленко et al., 2017). Можливість превентивного використання природних кормових добавок гумінової природи «Гумілід» та «Еко Імпульс Анімал» за дії водно-імобілізаційного комбінованого стресу на морфо-функціональні показники крові шурів не досліджено. Тому, метою роботи було з'ясувати вплив цих кормових добавок природного походження з антиоксидантними властивостями і вітаміна Е на стан еритроцитарної системи крові шурів за впливу водно-імобілізаційного комбінованого стресу.

Матеріал та методи дослідження

Роботи з впливу кормових добавок «Гумілід» та «Еко Імпульс Анімал» порівняно з вітаміном Е проводили на білих статевозрілих молодих щурах-самцях масою тіла 180–200 г на базі віварію Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Протягом усього експерименту шурів утримували в стандартних умовах, з вільним доступом до води та корму.

Тварин поділили на п'ять груп по 6 тварин: I група – інтактні тварини (контроль); II–V – дослідні групи. Щурам II групи для чистоти експерименту давали додатково очищену воду; III група – отримувала водний розчин кормової добавки «Гумілід» (ТУ У15.7-00493675004, 2009) у розрахунку 5 мг/кг маси тіла за діючою речовиною; IV – тварини, які отримували додатково водний розчин кормової добавки «Еко Імпульс Анімал» (ТУ У10.9-00493675-008, 2016) у розрахунку 2,5 мг/кг маси тіла за діючою речовиною; тварини V групи отримували вітамін Е (масляний розчин) у розрахунку 50 мг/кг маси тіла за діючою речовиною (Diachenko & Stepchenko, 2017). Воду, кормові добавки та вітамін Е тваринам експериментальних груп вводили перорально, індивідуально за допомогою зонда протягом 18 діб. Потім, у тварин II, III, IV та V груп моделювали стрес. За основу було взято модель водно-імобілізаційного стресу (Takagi & Okabe, 1968; Weiner, 1996) в комбінації з моделлю емоційного стресу, за рахунок чого досягнуто ефект комбінованого стресу.

Кров для досліджень відбирали з хвостової вени (у перший день експерименту) та з правого шлуночка серця під тіопен-

таловим наркозом (60 мг/кг) на наступну добу після моделювання стресу. У стабілізованій крові щурів визначали кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну, гематокрит, кольоровий показник на автоматичному гематологічному аналізаторі Automated Veterinary Hematology Analyzer PCE 90Vet (High Technology Inc., США) на базі Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Окремо розраховували еритроцитарні коефіцієнти: середній об'єм еритроцита (MCV), MCH – середній вміст гемоглобіну в еритроциті, MCHC – середня концентрація гемоглобіну в еритроциті.

Усі маніпуляції з тваринами, які використовуються в експериментальних і наукових цілях, проводили відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страбурґ, 1986 р.).

Вірогідність різниць оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента. Результати вважали вірогідними за $P \leq 0,05$.

Результати власних досліджень

Морфологічно-функціональні показники крові щурів є важливими діагностичними ознаками, які тонко відображають реакцію організму на різні типи стресових подразників. Такі показники, як вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, гематокрит, кольоровий показник та інші, дають змогу оцінити зміни стану еритроциту крові щурів, які виникли на тлі гіпоксичного та окисного станів.

На першу добу експерименту досліджувані показники знаходилися в межах норми, що вказує на фізіологічний стан щурів і однорідність сформованих груп за обраними параметрами. На 21 добу експерименту після моделювання комбінованого стресу вміст гемоглобіну в крові тварин II дослідної групи зменшився на 32% ($p < 0,001$) порівняно з цими показником у тварин інтактної групи (табл. 1).

У щурів III, IV та V експериментальних груп, де тваринам додатково, протягом 18 діб у достресовий період отримували кормові добавки «Гумілід», «Еко Імпульс Анімал» і вітамін Е, вміст гемоглобіну був вищим на 41% ($p < 0,01$), 45% ($p < 0,001$) та на 53% ($p < 0,001$), відповідно ніж у щурів II групи, яким задавали очищену воду. Використання в достресовий період кормових добавок і вітаміну Е викликало збереження вмісту гемоглобіну в межах фізіологічної норми.

Кількість еритроцитів у крові тварин II групи зменшилася на 30% порівняно зі щурами I групи ($p < 0,05$). Тобто на тлі зменшення вмісту гемоглобіну та кількості еритроцитів за дії

комбінованого водно-імобілізаційного стресу можливе руйнування зрілих клітин крові (ериптоз). Цей показник у крові тварин III, IV та V експериментальних груп знаходився в межах фізіологічної норми та вірогідно підвищувався на 33% ($p < 0,01$), 33% ($p < 0,01$) та 41% ($p < 0,001$), відповідно, стосовно тварин II дослідної групи.

У тварин II групи показник гематокриту, який характеризує відсоткове співвідношення об'єму формених елементів і загального об'єму крові, зменшився на 29% порівняно з показником у тварин I групи ($p < 0,001$). Таке різке зменшення гематокритного числа може бути наслідком пригнічення гемопоєзу та можливої наявності гіперпротеїнемії, що може виникати на тлі впливу водно-імобілізаційного стресу. Показник гематокриту у тварин III, IV та V груп, які отримували «Гумілід», «Еко Імпульс Анімал» і вітамін Е, вірогідно вищий на 35% ($p < 0,001$), 33% ($p < 0,001$) та 42% ($p < 0,001$) порівняно з цим показником у тварин II групи. Важливо зазначити, що в крові щурів III, IV та V груп співвідношення формених елементів крові (головним чином кількості еритроцитів – найчисленніших клітин крові) та загального об'єму крові достовірно не відрізнялися від значень в інтактних тварин.

Гематологічні показники крові щурів III, IV та V дослідних груп підтверджують позитивний вплив профілактичного використання кормових добавок гумінової природи на стан еритроцитарної системи крові та їх можливий схожий вектор направленості дії зі загальновідомим антиоксидантом вітаміном Е.

За впливу водно-імобілізаційного комбінованого стресу у тварин II дослідної групи достовірних змін кольорового показника не відбувалося. Хоча у тварин IV та V дослідних груп кольоровий показник достовірно збільшувався на 5% ($p < 0,01$), 4% ($p < 0,01$) порівняно зі значеннями в щурів I дослідної групи та на 8% ($p < 0,01$), 7% ($p < 0,001$) у щурів II дослідної групи, відповідно. Тобто використання кормової добавки «Еко Імпульс Анімал» і вітаміну Е в достресовий період впливає на насиченість еритроцитів гемоглобіном, що може приводити до зміни функціональної здатності еритроцитів. У разі застосування кормової добавки «Гумілід» у достресовий період у щурів III групи значення кольорового показника не відрізнялося від значень в інтактних тварин.

Показник середнього об'єму еритроцитів (MCV) у тварин усіх експериментальних груп знаходився в межах норми на першу добу експерименту (табл. 2).

Так, вплив водно-імобілізаційного стресу на організм щурів II дослідної групи викликав достовірні зміни в об'ємі еритроцитів, але був на 2% ($p < 0,05$) вищим порівняно зі значенням в інтактних тварин. Відомо, що зміни значення

Таблиця 1. Стан еритроцитарної системи крові щурів за умов стресу та додаткового використання кормових добавок гумінової природи і вітаміну Е ($M \pm m$; $n = 6$)

Показники	Доба	Група I (інтактні)	Група II (стрес)	Група III («Гумілід»)	Група IV («Еко Імпульс Анімал»)	Група V (вітамін Е)
Гемоглобін, г/л	1	99,00 ± 1,140	99,80 ± 0,860	101,40 ± 0,872	97,60 ± 1,661	102,00 ± 0,707
	21	98,17 ± 3,546	66,80 ± 3,664***	94,40 ± 3,412###	97,00 ± 1,732###	102,20 ± 4,045###
Еритроцити, 10 ¹² /л	1	5,568 ± 0,237	5,120 ± 0,322	5,570 ± 0,130	6,086 ± 0,157	5,46 ± 0,086
	21	5,64 ± 0,184	4,04 ± 0,270***	5,39 ± 0,0169###	5,36 ± 0,150##	5,72 ± 0,302###
Гематокрит, %	1	33,14 ± 1,099	32,74 ± 1,197	34,42 ± 0,881	33,94 ± 0,940	33,42 ± 0,707
	21	33,25 ± 0,969	23,66 ± 1,356***	31,90 ± 0,893###	31,40 ± 0,843###	33,70 ± 1,401###
Кольоровий показник, од.	1	0,94 ± 0,008	0,94 ± 0,005	0,93 ± 0,005	0,94 ± 0,008	0,93 ± 0,008
	21	0,93 ± 0,009	0,91 ± 0,015	0,92 ± 0,008	0,98 ± 0,014***###	0,97 ± 0,007***###

Примітка. Різниця вірогідна порівняно з контролем: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$; різниця вірогідна відносно II групи: # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$.

Таблиця 2. Еритроцитарні індекси за умов стресу та додаткового використання кормових добавок гумінової природи і вітаміну Е (M ± m; n = 5)

Показники	Доба	Група I (інтактні)	Група II (стрес)	Група III («Гумілід»)	Група IV («Еко Імпульс Animal»)	Група V (вітамін Е)
MCV, фл (10–15/л)	1	59,66 ± 1,296	60,13 ± 2,709	61,90 ± 1,709	62,13 ± 1,908	61,14 ± 1,064
	21	57,73 ± 0,189	58,91 ± 0,246*	57,60 ± 0,142## ^{oo}	58,55 ± 0,363	58,94 ± 0,375*
МСН, пг (10–12г)	1	18,12 ± 0,681	18,31 ± 0,349	18,25 ± 0,455	18,30 ± 0,245	18,67 ± 0,204
	21	17,14 ± 0,157	16,69 ± 0,380	17,02 ± 0,152 ^{oo}	18,12 ± 0,261**#	17,89 ± 0,138***#
МСНС, %	1	30,39 ± 1,157	30,63 ± 1,004	29,56 ± 0,976	29,55 ± 0,891	30,57 ± 0,572
	21	29,76 ± 0,231	28,42 ± 0,909	29,55 ± 0,298	30,96 ± 0,553#	30,18 ± 0,049

Примітка. Різниця вірогідна порівняно з контролем: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001; різниця вірогідна відносно групи II: # – p < 0,05; ## – p < 0,01; ### – p < 0,001; різниця вірогідна відносно V групи: ^o – p < 0,05; ^{oo} – p < 0,01; ^{ooo} – p < 0,001.

MCV можуть характеризувати порушення водно-електролітного балансу та дати можливість більш точно визначити розмір еритроцитів. Так, у тварин V групи, які отримували вітамін Е, середній корпускулярний об'єм збільшився на 2% (p < 0,05) відносно I групи тварин. Можливо, наслідком впливу стрес-факторів на еритроцитарну систему у щурів був розвиток незначного макроцитозу. Такі зміни можуть порушувати процеси мікроциркуляції, оскільки клітини з великим об'ємом здатні уповільнювати швидкість току крові та процеси транспорту кисню до тканин. У досліді з використанням кормової добавки «Гумілід» спостерігалось достовірне зниження MCV у тварин III групи на 2,3% (p < 0,01) порівняно з вітаміном Е, при цьому, достовірної різниці з тваринами контрольної групи не виявлено.

МСН (середній вміст гемоглобіну в еритроциті) – відображає абсолютний рівень гемоглобіну в одному еритроциті. За літературними джерелами, МСН у тварин варіює в межах 15,0–22,0 пг, у всіх тварин в експериментальних групах не виходять за межі контрольних значень. Проте цей показник достовірно збільшувався у тварин IV та V дослідних груп, відповідно, на 5% (p < 0,01), 4% (p < 0,01) відносно щурів I дослідної групи та на 9% (p < 0,05), 7% (p < 0,05) II дослідної групи, відповідно. Цей факт указує на зростання середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті без зменшення кількості еритроцитів на тлі превентивного використання кормової добавки «Еко Імпульс Animal» і вітаміну Е та за дії стрес-факторів. У тварин, які в достресовий період отримували додатково до раціону кормову добавку «Гумілід» (III група), значення МСН знаходилися в межах контрольних значень.

Значення МСНС (середня концентрація гемоглобіну в еритроциті) – це істинний показник дефіциту заліза в організмі. Зміни МСНС свідчать про порушення засвоєння заліза еритроцитами, що пов'язано зі зменшенням кількості еритроцитів. МСНС у нормі для лабораторних щурів у середньому дорівнює 30,0–35,0%, у щурів усіх дослідних груп знаходилася в межах референтних значень.

Отже, за дії водно-імобілізаційного комбінованого стресу встановлено достовірне зменшення вмісту гемоглобіну, гематокритного числа та кількості еритроцитів у тварин на наступний день після дії стрес-факторів. На тлі отриманих змін стану еритроцитарної системи у тварин після моделювання водно-імобілізаційного комбінованого стресу погіршується забезпечення органів і тканин киснем, що може спричинити розвиток тяжкої анемії та ериптозу.

Використання в достресовий період протягом 18 днів природних кормових добавок «Гумілід» та «Еко Імпульс Animal», викликало підтримання вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів, гематокритного числа та еритроцитарних індексів у ме-

жах референтних значень. Крім того, рівень впливу природних антиоксидантів, кормових добавок на стан еритроцитарної системи у щурів за впливу водно-імобілізаційного комбінованого стресу схожий з антиоксидантом вітаміном Е. Однак використання вітаміну Е та «Еко Імпульс Animal» обумовлює незначне зростання середнього об'єму еритроцитів і середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті, що може призвести до згущення крові.

Висновки

На наступний день після моделювання водно-імобілізаційного стресу в щурів знижуються вміст гемоглобіну на 32%, кількість еритроцитів на 30%, гематокритне число на 29% відносно інтактних тварин.

Використання природних антиоксидантів, кормових добавок гумінової природи «Гумілід» і «Еко Імпульс Animal» протягом 18 днів у достресовий період має синонімічну направленість дії з вітаміном Е на стан еритроцитарної системи щурів та підтримує досліджувані показники в межах контрольних значень.

References

- Belay, I. M., Dunaev, V. V., & Tyshkin, V. S. (2001). Investigation of hypolipidemic and antioxidant properties of picamilon and carnitine chloride. *Ukrainian Rheumatologic Journal*, 1(3), 58–63.
- Bordbar, A., Jamshidi, N., & Palsson, B. O. (2011). iAB-RBC-283: A proteomically derived knowledge-base of erythrocyte metabolism that can be used to simulate its physiological and patho-physiological states. *BMC Systems Biology*, 5(1), 110.
- Diachenko, L. M., & Stepchenko, L. M. (2017). Influence of feed additives humic nature on morphological parameters of rat blood. *Scientific and Technical Bulletin*, 18(2), 71–75.
- Gubsky, Y. I., & Yurshenko, N. M. (2006). Influence of peroxide oxidation on the structure of serum lipoproteids. *Odessa Medical Officer Journ*, 5, 67–73.
- Ivanov, I. I. (2001). Mechanisms of protective action of tocopherols in biological membranes and some related questions. *Biomembranes*, Riga.
- Lang, K. S., Durant, C., Poehlmann, H., Myssina, S., Bauer, C., Lang, F., Wieder, T., & Huber, S. M. (2003). Cation channels trigger apoptotic death of erythrocytes. *Cell Death & Differentiation*, 10(2), 249–256.
- Lang, K. S., Myssina, S., Brand, V., Sandu, C., Lang, P. A., Berchtold, S., Huber, S. M., Lang, F., & Wieder, T. (2003). Involvement of ceramide in hyperosmotic shock-induced death of erythrocytes. *Cell Death & Differentiation*, 11(2), 231–243.

- Manno, S., Takakuwa, Y., & Mohandas, N. (2004). Modulation of Erythrocyte Membrane Mechanical Function by Protein 4.1 Phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, 280(9), 7581–7587.
- Mastaloudis, A., Morrow, J. D., Hopkins, D. W., Devaraj, S., & Traber, M. G. (2004). Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(10), 1329–1341.
- Myhaylenko, E. O., Dyomshyna, O. O., & Stepchenko, L. M. (2017). Protein and amino acid metabolism in the muscles of broiler chickens Cobb500 during thearment feed additive «Humilid». *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 19(77), 110–116.
- Miller, M. W., Miller, W. M., & Battaglia, L. F. (2003). Biological and environmental factors affecting ultrasound-induced hemolysis in vitro: 3. antioxidant (Trolox®) inclusion. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 29(1), 103–112.
- Paronik, V. A., Stecchenko, L. M., Diachenko, L.M., Levyi, A. E., & Shevtsova, A. I. (2015) Influence of corvitine and humidid on the state of the oxidative-antioxidant system of rats on the background of adrenaline introduction. *Animal Biology*, 17(4), 109–114.
- Satoshi, S., Kiyoji, T., Hiroyo, K., & Fumio, N. (1989). Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *International Journal of Biochemistry*, 21(8), 835–838.
- Skorik, M. V., & Stepchenko, L. M. (2006). Relationship glutathione metabolism of blood parameters of laying hens on the background of hudrohumate. *Veterinary medicine*, 86, 292–297 (in Ukrainian).
- Stepchenko, L. M., & Skorik, M. V. (2006). Condition of erythrocyte antioxidant laying hens for the actions of humic substances. *Technical bulletin Scientific Institute of Animal Biology and State Research Control Institute of Veterinary Preparations and Feed Additives*, 7(3–4), 137–143 (in Ukrainian).
- Takagi, K., & Okabe, S. (1968). The effects of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 18(1), 9–18.
- Weiner, H. (1996). Use of Animal Models in Peptic Ulcer Disease. *Psychosomatic Medicine*, 58(6), 524–545.

Original researches

Contamination of Frozen Fish with Mesophilic and Psychrotrophic Microorganisms Depending on Biochemical Quality Indices

Received: 12 July 2018
Revised: 25 July 2018
Accepted: 27 July 2018

National Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary-Sanitary Examination, Donetska Str., 30, Kyiv, 03151, Ukraine

Ternopil Ivan Puluj National Technical University, Ruska Str., 56, Ternopil, 46001, Ukraine

Ternopil Research Station of the Institute of Veterinary Medicine, NAAS, Troleibusna Str., 12, Ternopil, 46001, Ukraine

Tel.: +38-099-138-66-10
+38-097-239-20-57
+38-067-290-92-92

E-mail: z_malimon@ukr.net
kuchtynnic@gmail.com
yperkiy@ukr.net

Cite this article: Malimon, Z. V., Kukhtyn, M. D., & Perkiy, Y. B. (2018). Contamination of frozen fish with mesophilic and psychrotrophic microorganisms depending on biochemical quality indices. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 6(3), 39-43. doi: 10.32819/2018.63008

Z. V. Malimon¹, M. D. Kukhtyn², Y. B. Perkiy³

¹National Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary-Sanitary Examination, Kyiv, Ukraine

²Ternopil Ivan Puluj National Technical University, Ternopil, Ukraine

³Ternopil Research Station of the Institute of Veterinary Medicine, NAAS, Ternopil, Ukraine

Abstract. Because of the high nutritional and biological value, fish is a good nutrient for the development of all groups of microorganisms, making it a perishable kind of food. The conditions of fish storage require appropriate temperature regimes to stop the development of microorganisms. The purpose of the research is to investigate the bioassay of frozen mesophilic and psychrotrophic microflora, depending on the biochemical parameters which characterize its freshness. Mesophilic aerobic and elective anaerobic organisms in samples were found at a temperature of 30 ± 1 °C within bioassay incubation for 72 hours and psychrotrophic microflora at a temperature of 6.5 ± 0.5 °C within incubation for 10 days. Biochemical parameters include reaction with copper sulfate, peroxidase, total volatile base nitrogen and pH by generally accepted methods. It was discovered that frozen fish in reaction with copper sulfate, that was prior classified as fresh and benign, according to the content of mesophilic aerobic and elective anaerobic organisms, in of 25% of cases on average did not meet the microbiological standard of DSTU 4868:2007. At the same time, approximately 70% of samples of frozen fish which contained psychrotrophic microflora were found to be higher than established norm for mesophilic aerobic and elective anaerobic organisms, and $25.9 \pm 1.4\%$ of samples exceeded the number of 100.000 CFU/g. It was determined that for a positive reaction to peroxidase, the number of frozen fish samples complying with the microbiological standard according to the content of mesophilic aerobic and elective anaerobic organisms was $64.9 \pm 2.7\%$, which is 1.6 times higher than in samples with such quantity of psychrotrophic microorganisms. The benign fish in response to peroxidase was contaminated with mesophilic microflora from 50.000 to 1 million CFU/g in $32.5 \pm 1.3\%$ of cases, and with psychrotrophic microflora 1.7 times more. This indicates a significant insemination of the fish microflora, which, based on the results of studies on peroxidase, is fresh. For a negative reaction to volatile base nitrogen, 30% of frozen fish samples, which were contaminated with mesophilic aerobic and elective anaerobic organisms, were found to have more than 50.000 CFU/g and $46.2\% \pm 1.8\%$ of psychrotrophs. It was established that 48% of fish samples according to the content of mesophilic aerobic and elective anaerobic organisms and 57.6% by content of psychrotrophs did not meet the microbiological standard of DSTU 4868:2007 for the pH quality indicator in fresh fish. Consequently, the results of the research indicate that with satisfactory biochemical parameters of frozen fish in reaction with copper sulfate, peroxidase, the content of total volatile base nitrogen and pH, 25-50% of fish samples with over-normative (more than 50.000 CFU/g) content of mesophilic aerobic and elective anaerobic organisms. It was discovered that the psychrotrophic microflora is quantitatively predominant in the content of mesophilic aerobic and elective anaerobic organisms of frozen fish. In fish samples, which according to biochemical parameters are related to benign fresh, psychrotrophs exceeded the number of 50.000 CFU/g in 60-70% of cases.

Keywords: fish; psychrotrophic microflora; mesophilic microflora; biochemical indices.

Контамінація мезофільними та психротрофними мікроорганізмами замороженої риби залежно від біохімічних показників якості

З. В. Малімон¹, М. Д. Кухтин², Ю. Б. Перкій³

¹Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ, Україна

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

³Тернопільська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини, м. Тернопіль, Україна

Анотація. Встановлено рівень обсіменіння замороженої риби мезофільною та психротрофною мікрофлорою, залежно від біохімічних показників, що ха-рактеризують її свіжість. Заморожену рибу, яка за результатами досліджень у реакції з сірчанокис-

лою міддю, відносили до свіжої – доброякісної за вмістом МАФАНМ, у середньому в 25% випадків не відповідали допустимим рівням, зазначеним у ДСТУ 4868:2007. Виявлено близько 70% проб замороженої риби з умістом психротрофної мікрофлори більше визначеного нормативу для МАФАНМ, та $25,9 \pm 1,4\%$ проб, у яких рівень обсіменіння переважав кількість 100 тис. КУО/г. З'ясовано, що за позитивної реакції на пероксидазу (показник для свіжої риби) кількість проб замороженої риби, які відповідали за вмістом МАФАНМ, становила $64,9 \pm 2,7\%$, що в 1,6 раза більше, ніж проб із такою кількістю психротрофних мікроорганізмів. Доброякісна риба за реакцією на пероксидазу контамінована мезофільною мікрофлорою від 50 тис. до 1 млн КУО/г у $32,5 \pm 1,3\%$ випадків, а психротрофною мікрофлорою – в 1,7 раза більше. Це вказує на значне обсіменіння мікрофлорою риби, яка за результатами досліджень на пероксидазу свіжа. За негативної реакції на леткі основи азоту виявлено 30% проб замороженої риби, які контаміновані МАФАНМ понад 50 тис. КУО/г та $46,2 \pm 1,8\%$ проб – психротрофами, 48% проб риби – за вмістом МАФАНМ і 57,6% за вмістом психротрофів не відповідали нормативу, згідно з ДСТУ 4868:2007, показника рН, властивого для свіжої риби. За задовільних біохімічних показників замороженої риби реакція зі сірчаною кислотою міддю, реакція на пероксидазу, вміст загальних летких основ азоту та рН виявляються від 25% до 50% проб риби з перевищеним умістом МАФАНМ (більше 50 тис. КУО/г). Психротрофна мікрофлора кількісно переважає вміст МАФАНМ замороженої риби. У пробах риби, які за біохімічними показниками відносили до доброякісної свіжої, психротрофи в 60–70% випадків переважали кількість у 50 тис. КУО/г.

Ключові слова: свіжість риби; психротрофна мікрофлора; мезофільна мікрофлора; біохімічні показники; якість.

Вступ

Головне завдання ветеринарно-санітарного контролю харчових продуктів полягає в забезпеченні надходження доброякісної продукції шляхом здійснення постійного нагляду за дотриманням санітарно-гігієнічних вимог і системного санітарно-мікробіологічного контролю (AbdElNady et al., 2017).

Вважають, що основним кількісним мікробіологічним тестом є МАФАНМ продукту – кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів, що утворили колонії на щільному живильному середовищі під час посіву 1 г чи 1 см³ продукту при культивуванні посівів за температури +30–37 °C протягом 48–72 год (Daczowska-Kozon & Morales-Huaman, 1987; Kapreliants et al., 2006). Дані МАФАНМ вказують на розвиток переважно мезофільних сапрофітних мікроорганізмів, зокрема гнильних спорових і неспорових бактерій груп кишкових паличок, кокової мікрофлори (стафілококів, мікрококів, сарцин) та деяких патогенних бактерій, наприклад, сальмонел (Kapeiliants et al., 2006; Ercolini et al., 2009). Тому чим вище мікробне обсіменіння харчового продукту, тим більша ймовірність присутності в ньому патогенних мікроорганізмів (Sanjee & Karim, 2016; Tolstorebrov et al., 2016).

Згідно з результатами досліджень, кількісний уміст МАФАНМ не має значення для харчових продуктів, які зберігаються за низьких температур холодильника, оскільки значна частина мезофільної мікрофлори гине під час зберігання за температури –5 °C і нижче (Akinbowale et al., 2006; Usyus et al., 2008; Ercolini et al., 2009; Kobayashi & Park, 2017; Salata et al., 2017a; Roiha et al., 2018). Для мікробіологічної оцінки сировини та харчових продуктів, які зберігають в умовах холодильника (охолоджене, приморожене, заморожене м'ясо і риба), кращим є визначення психротрофних (холодолюбних) мікроорганізмів за інкубації посівів від +5 до +7 °C протягом 10 діб (Zambuchini et al., 2008; Ercolini et al., 2009; Salata et al., 2017a). Однак згідно з ДСТУ 4868:2007 Риба заморожена. Технічні умови (2008) дозволяється в реалізацію заморожена риба з умістом МАФАНМ до 50 тис. КУО/г, бактерії групи кишкових паличок не дозволені в 0,001 г риби, а золотистий стафілокок – у 0,01 г. Дослідження з визначення обсіменіння замороженої риби психротрофною мікрофлорою цим стандартом не передбачені.

Актуальним є проведення комплексних досліджень із визначення контамінації замороженої риби мезофільними та психротрофними мікроорганізмами, яка за біохімічними показниками відповідає свіжій доброякісній (Omoguyi & Abolagba, 2015). Отримані в такий спосіб дані дадуть можливість охарактеризувати рівень санітарно-гігієнічних умов виробництва, холодильного зберігання та транспортування замороженої риби щодо контамінації найчисельнішою групою мікрофлори, яка призводить до мікробного псування.

Мета роботи – виявити обсіменіння замороженої риби мезофільною і психротрофною мікрофлорою залежно від біохімічних показників, які визначають її свіжість.

Матеріал і методи досліджень

Робота виконана в Державному науково-дослідному інституті з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДЛДВСЕ, м. Київ) та в Тернопільській дослідній станції Інституту ветеринарної медицини НААН України.

Досліджено 175 проб замороженої риби за мікробіологічними та біохімічними показниками. Проби відбирали та готували для мікробіологічних досліджень згідно з ДСТУ 4868:2007 Риба заморожена. Технічні умови (2008). У пробах визначали МАФАНМ за температури 30 ± 1 °C, інкубацію посівів – протягом 72 год та психротрофну мікрофлору за температури $6,5 \pm 0,5$ °C; інкубація –10 діб (Salata et al., 2017b; 2018).

Біохімічні показники (реакція зі сірчаною кислотою міддю, на пероксидазу, кількість загальних летких основ азоту та рН) – загально визначеними методами. У дослідженнях використано проби риби з невиявленими антибіотиками мікробіологічним методом.

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за загально визначеними методами варіаційної статистики. Різницю між порівнюваними величинами вважали достовірною за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Наведено дослідження з розподілу проб замороженої риби за вмістом мезофільної та психротрофної мікрофлори, які за показником реакції зі сірчаною кислотою міддю відносили до свіжої та доброякісної риби (рис. 1,а).

Показник реакції зі сірчаною кислотою міддю не може замінити мікробіологічні дослідження замороженої риби. Із проб риби, які в реакції зі сірчаною кислотою міддю відносили до свіжої, за вмістом МАФАНМ вклалися в стандартний норматив (50 тис. КУО/г) $74,0 \pm 3,2\%$ проб. Близько 20% проб з умістом мезофільних мікроорганізмів до 1 млн КУО/г і більше 1 млн – $3,9 \pm 0,2\%$ проб. Взаємозв'язок між умістом психротрофної мікрофлори та реакцією зі сірчаною кислотою міддю в 2,1 раза ($p < 0,05$) менший порівняно з обсіменінням мезофільними мікроорганізмами до 50 тис. КУО/г. Психротрофна мікрофлора замороженої риби кількісно переважає мезофільну групу, проте тільки $31,7 \pm 1,5\%$ проб доброякісної риби за вмістом психротрофів відповідали рівню, визначеному для мезофільних мікроорганізмів 50 тис. КУО/г. Лише $42,4 \pm 2,1\%$ проб риби за вмістом психротрофної мікрофлори були в межах від 50 тис. КУО/г до 100 тис. КУО/г, $17,2 \pm 0,4\%$ – до 1 млн КУО/г і в 2,0 раза менше проб мали перевищення понад 1 млн КУО/г.

Отже, заморожена риба, яку за реакцією з сірчаною кислотою відносили до свіжої – доброякісної, за вмістом МАФАНМ у середньому в 25% не вкладалися у визначений ДСТУ мікробіологічний норматив.

Одночасно, виявлено близько 70% проб замороженої риби з умістом психротрофної мікрофлори більше для визначеного нормативу для МАФАНМ, а $25,9 \pm 1,4\%$ проб містили психротрофні мікроорганізми, кількість яких перевищувала 100 тис. КУО/г. Загалом реакція зі сірчаною кислотою не враховує обміненія психротрофною мікрофлорою.

Наведено результати досліджень із розподілу проб замороженої риби щодо вмісту МАФАНМ та психротрофної мікрофлори, які проявляли позитивну реакцію на пероксидазу, тобто рибу відносили до свіжої доброякісної (рис. 1,б). За позитивної реакції на пероксидазу кількість проб замороженої риби, що відповідали мікробіологічному нормативу за вмістом МАФАНМ, становила $64,9 \pm 2,7$, що в 1,6 раза ($p < 0,05$) більше, ніж проб із такою кількістю психротрофних мікроорганізмів. Доброякісна риба за реакцією на пероксидазу контамінована мезофільною мікрофлорою від 50 тис. до 1 млн КУО/г у $32,5 \pm 1,3\%$ випадків, а психротрофною – в 1,7 раза більше ($p < 0,05$). Це вказує на можливість значного обміненія мікрофлорою риби, яку за цією реакцією відносили до свіжої. Крім того, виявлено $5,3 \pm 0,2\%$ проб риби, рівень обміненія яких перевищував 1 млн КУО/г психротрофною

мікрофлорою, що в середньому удвічі ($p < 0,05$) більше, ніж проб, які контаміновані мезофільними мікроорганізмами. У цілому позитивна реакція на пероксидазу замороженої риби в меншій мірі співпадає з визначеним мікробіологічним нормативом для МАФАНМ відносно реакції зі сірчаною кислотою міддю. Наведено результати досліджень із розподілу проб замороженої риби щодо вмісту МАФАНМ та психротрофної мікрофлори, які за показником загальних летких основ азоту відносили до доброякісної свіжої риби (рис. 2,а).

Проби замороженої риби, у яких загальна кількість летких основ азоту не перевищувала МДР у 30 мг/100 г, контаміновані МАФАНМ до 50 тис. КУО/г у $71,4 \pm 4,3\%$ випадків, а психротрофною мікрофлорою в 1,3 раза ($p < 0,05$) менше. Виявлено у 2,2 раза ($p < 0,05$) більше проб замороженої риби з умістом психротрофів від 50 до 100 тис. КУО/г порівняно з кількістю МАФАНМ. Проби доброякісної риби за вмістом летких основ азоту контаміновані МАФАНМ і психротрофами в 10,4% і 9,1% випадків, відповідно, в кількості від 100 тис. до 1 млн КУО/г.

Отже, отримані дані свідчать про те, що за негативної реакції на леткі основи азоту, припадає в середньому 30% проб замороженої риби, які контаміновані МАФАНМ більше 50 тис. КУО/г; і $46,2 \pm 1,8\%$ психротрофами.

Наведено дослідження щодо обміненія мікрофлорою замороженої риби, яку за показником рН відносили до доброякісної свіжої риби (рН 6,6–6,8 од.). За величини рН,

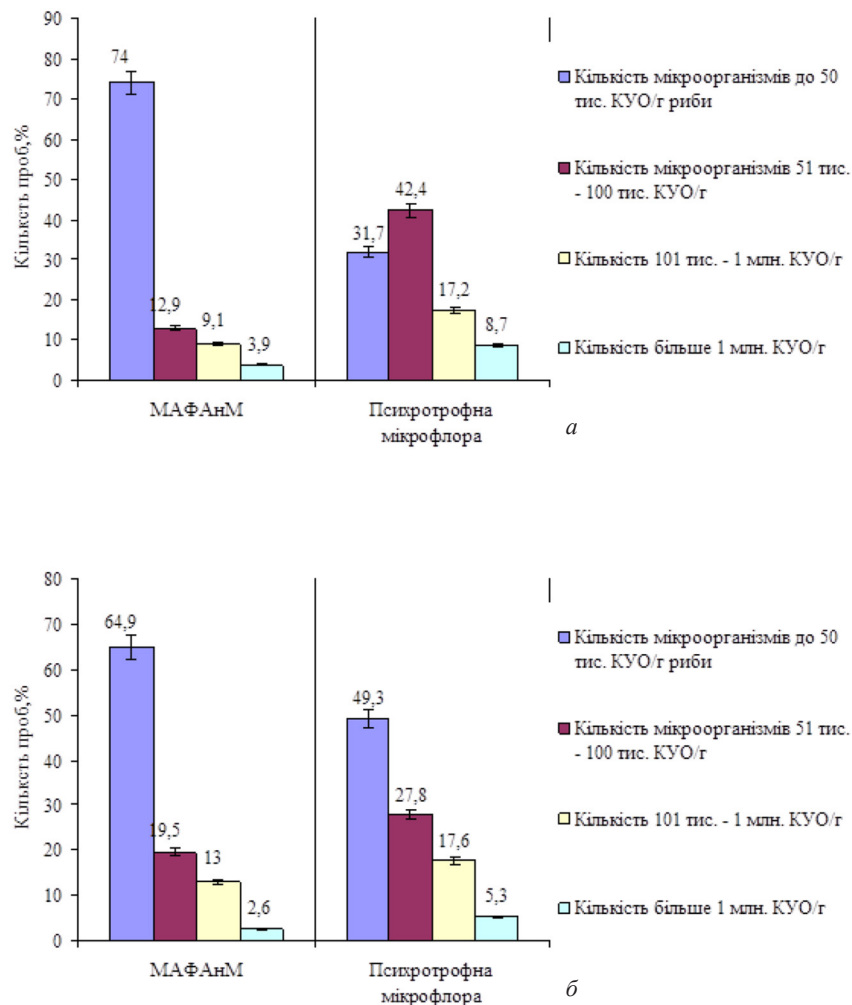


Рис. 1. Розподіл проб замороженої риби, які відносили до доброякісної свіжої риби за показником реакції: а – зі сірчаною кислотою міддю; б – на пероксидазу

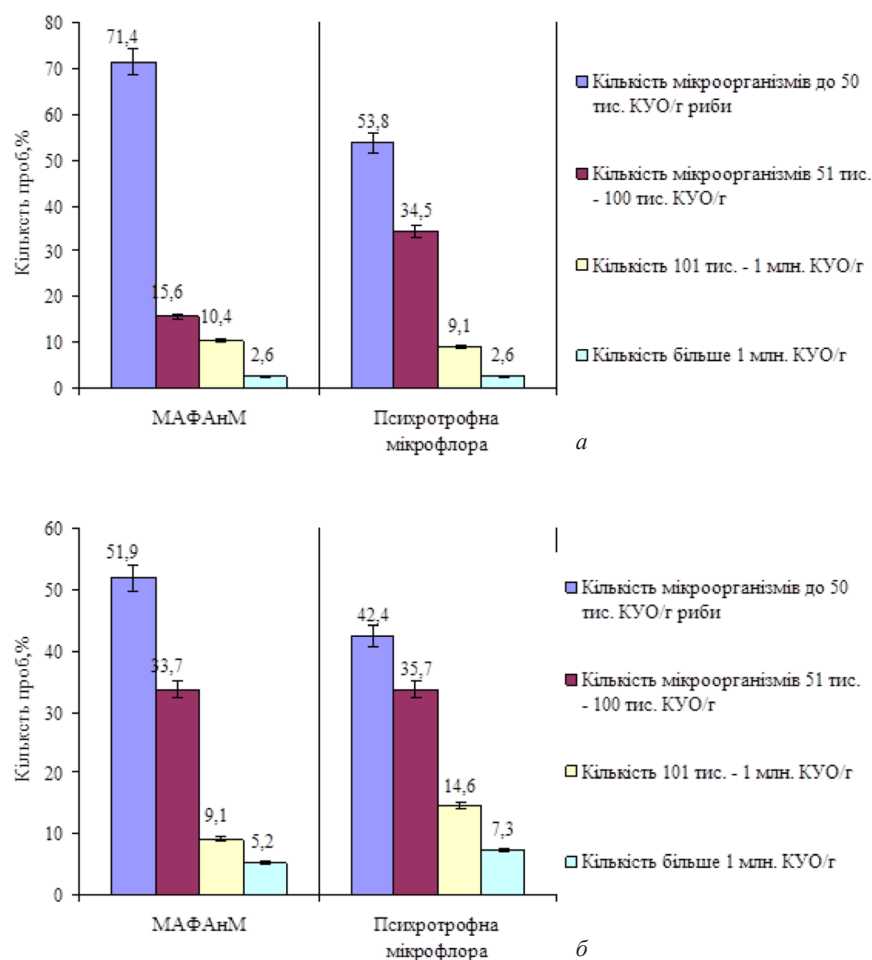


Рис. 2. Розподіл проб замороженої риби, які відносили до доброякісної свіжої риби: а – за показником загальних летких основ азоту; б – за показником рН.

яке характерне для свіжої риби (6,6–6,8 од.), кількість проб за вмістом МАФАНМ до 50 тис. КУО/г становила $51,9 \pm 2,7\%$, а за вмістом психротрофів у 1,2 раза ($p < 0,05$) менше (рис. 2,б). Тобто в середньому 48% проб риби за вмістом МАФАНМ не відповідали нормативу ДСТУ за показника рН, властивого для свіжої риби. У середньому $34,2 \pm 1,9\%$ проб доброякісної замороженої риби за показником рН контаміновані мезофільними і психротрофними мікроорганізмами від 50 до 100 тис. КУО/г. Виявлено збільшення в 1,6 раза ($p < 0,05$) кількості проб риби за вмістом психротрофної мікрофлори від 100 тис. до 1 млн КУО/г відносно кількості проб за вмістом МАФАНМ. В 1,4 раза ($p < 0,05$) більше виявлено проб із кількістю психротрофів понад 1 млн КУО/г, ніж проб із вмістом мезофільних мікроорганізмів.

Висновки

За задовільних біохімічних показників замороженої риби в реакції зі сірчаноокислюю міддю, на пероксидазу, вміст загальних летких основ азоту та величини рН виявляється від 25% до 50% проб риби з понаднормативним (більше 50 тис. КУО/г) вмістом МАФАНМ. Психротрофна мікрофлора кількісно переважає вміст МАФАНМ замороженої риби. У пробах риби, які за біохімічними показниками відносили до доброякісної

свіжої, психротрофи в 60–70% випадків переважали кількість у 50 тис. КУО/г.

Перспективи подальших розробок полягають у всебічному дослідженні обміненні замороженої риби психротрофною мікрофлорою та обґрунтування мікробіологічних критеріїв за вмістом цих мікроорганізмів. Удосконалення нормативно-правової документації щодо контролю замороженої риби імпортованого виробництва.

References

- AbdelHady, H., Ali, G., & Yassin, S. (2017). Assessment of the Bacterial Quality and Toxic Heavy Metal Residues of Frozen Fish Fillet In Kafereisheikh Markets. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 54(1), 108.
- Akinbowale, O. L., Peng, H., & Barton, M. D. (2006). Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *Journal of Applied Microbiology*, 100(5), 1103–1113.
- Daczowska-Kozon, E., & Morales-Huaman, M. (1987). Effect of frozen storage at -30°C on the survival of chosen indicator microorganisms in minced fish. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 17(1), 97–103.
- Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P., & Villani, F. (2009). Mesophilic and Psychrotrophic Bacteria from Meat and Their

- Spoilage Potential In Vitro and in Beef. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(7), 1990–2001.
- Kapreliants, L. V., Pylypenko, L. M., Yehorova, A. V., Kananykhina, O. M., Kobielieva, S. M., & Velychko, T. O. (2006). *Tekhnichna mikrobiolohiia* [Technical microbiology]. Druk, Odesa (in Ukrainian).
- Roiha, I. S., Tveit, G. M., Backi, C. J., Jónsson, Á., Karlsdóttir, M., & Lunestad, B. T. (2018). Effects of controlled thawing media temperatures on quality and safety of prerigor frozen Atlantic cod (*Gadus morhua*). *LWT – Food Science and Technology*, 90, 138–144.
- Kobayashi, Y., & Park, J. W. (2017). Biochemical and physical characterizations of fish protein isolate and surimi prepared from fresh and frozen whole fish. *LWT*, 77, 200–207.
- Omoruyi, K., & Abolagba, O. (2015). Biochemical and organoleptic changes in some frozen commercially important freshwater fish species in Benin metropolis, Edo state, Nigeria. *Tropical Freshwater Biology*, 23(1), 65.
- Tolstorebrov, I., Eikevik, T. M., & Bantle, M. (2016). Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish. *International Journal of Refrigeration*, 63, 37–47.
- Sanjee, S. A., & Karim, M. E. (2016). Microbiological Quality Assessment of Frozen Fish and Fish Processing Materials from Bangladesh. *International Journal of Food Science*, 2016, 1–6.
- Salata, V. Z. & Kuchtin, M. D. (2017a). Mikroflora okholodzhenoï i prymorozhenoi yalovychyny za kholodylnoho zberihannia [Microflora of cooled and frozen beef for cooling storage]. *Problems of Zoengineering and Veterinary Medicine*, 34(2), 332–336 (in Ukrainian).
- Salata, V., Kuhtyn, M., Semanjuk, V., & Perkiy, Y. (2017b). Dynamics of microflora of chilled and frosted beef during storage. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, 19(73), 178–182.
- Salata, V., Kukhtyn, M., & Perkiy, Y. (2018). The development of a method for psychotropic microflora segregation from frozen and iced meat and from the equipment of meat processing enterprises. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 6(1), 30–34.
- Usydus, Z., Szlinder-Richert, J., Polak-Juszczak, L., Kanderska, J., Adamczyk, M., Malesa-Cieciewicz, M., & Ruczynska, W. (2008). Food of marine origin: Between benefits and potential risks. Part I. Canned fish on the Polish market. *Food Chemistry*, 111(3), 556–563.
- Zambuchini, B., Fiorini, D., Verdenelli, M. C., Orpianesi, C., & Balini, R. (2008). Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. *LWT–Food Science and Technology*, 41(9), 1733–1738.

Original researches

Hemocytopoiesis of Functionally Active Newborn Calves and Calves in the State of Hypoxia

A. A. Zamazyi
Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine

Received: 25 July 2018
Revised: 03 August 2018
Accepted: 06 August 2018

Poltava State Agrarian Academy,
Scovorodu Str., 1a, Poltava, 30003, Ukraine

Tel.: +38-053-222-28-93

E-mail: ganavar@gmail.com

Cite this article: Zamazyi, A. A. (2018). Hemocytopoiesis of functionally active newborn calves and calves in the state of hypoxia. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 6(3), 44–49. doi: 10.32819/2018.63009

Abstract. Fetal resistance to hypoxia is defined by its continuous affinity with the mother's body, and the transition of various substances depends on their concentration in the blood, the intensity of hemocirculation, and the permeability of cell membranes. We investigated the blood of functionally active newborn calves with signs of hypoxia, which were divided into three groups: I – animals in a state of asphyxia with meconium in the amniotic fluid (n = 9); II – animals with inadequate spontaneous respiratory movements (n = 9); III – with spontaneous adequate respiratory movements (n = 9). The hematological analyzer was used to determine the dynamics of hemogram parameters and to calculate hematological indices during the first month of life. At the same time, we determined the indicators of hemo-, leuko- and thrombogram blood of cows pregnant with functionally active calves with signs of hypoxia. It has been established that a significant reduction in the number of red blood cells in calves' blood occurs in the first 5 days of life with an increase in the average volume of erythrocytes in the blood of functionally active calves by an average of 1.19 times ($p < 0.01$), a decrease in hemoglobin concentrations in erythrocyte especially in calves with low prenatal development. It should be noted that the above-mentioned processes in calves born with signs of hypoxia occur more «slowly» with the preservation of the dynamics inherent in functionally active calves. Hematologic indices allow to objectively determine qualitative and quantitative changes of concentrations and functional activity of leukocytes. In particular, there was a decrease during the neonatal period of LI, NLK and INS, and the growth of IP. Hemograms of cows, the mothers of functionally active and in the state of hypoxia newborn calves differ significantly. In the cows-mothers of functionally active newborn calves, the number of erythrocytes in the blood, hemoglobin and hematocrit content, the average content of platelets and thrombocyte were higher, while the average content of hemoglobin in the erythrocyte and the width of red blood cells distribution were higher in cows that gave birth to calves in a state of hypoxia.

Keywords: hypoxia; calves; erythrocytes; leukocytes; platelets; indices; blood.

Гемоцитопоез функціонально активних новонароджених та в стані гіпоксії телят

A. A. Замазій
Полтавська державна аграрна академія, м. Полтава, Україна

Анотація. В умовах гіпоксії для задоволення потреб метаболізму в організмі виникає ланцюг біохімічних і фізіологічних змін, необхідних для забезпечення оптимальних функцій життєво важливих органів. Стійкість плода до гіпоксії обумовлена його безперервним зв'язком з організмом матері, а перехід різноманітних речовин з одного організму в інший залежить від концентрації їх у крові матері, рівня гемоциркуляції, проникності клітинних мембран. Досліджено кров новонароджених функціонально активних телят і телят з ознаками гіпоксії, яких ділили на три групи: I – тварини в стані асфіксії з меконієм у навколоплідній рідині (n = 9); II – з неадекватними спонтанними дихальними рухами (n = 9); III – з спонтанними адекватними дихальними рухами (n = 9). За допомогою гематологічного аналізатора визначали динаміку показників гемограми та обчислювали гематологічні індекси протягом першого місяця життя. Одночасно вивчали показники гемо-, лейко- та тромбограм крові корів-матерів телят функціонально активних та з ознаками гіпоксії. Значне зниження кількості еритроцитів у крові телят відбувається в перші 5 днів життя зі зростанням середнього об'єму еритроцитів функціонально активних телят у середньому в 1,19 рази ($p < 0,01$), зниженням концентрації гемоглобіну в еритроциті в телят із низьким рівнем пренатального розвитку. Зазначені процеси в телят, що народилися з ознаками гіпоксії, відбуваються «повільніше» із збереженням динаміки, притаманної функціонально активним телятам. Гематологічні індекси дозволяють об'єктивно визначати якісні та кількісні зміни концентрацій і функціональної активності лейкоцитів. Виявлено зниження протягом неонатального періоду лейкоцитарного індексу, нейтрофільно-лімфоцитарного коефіцієнта та індексу нейтрофільного зсуву, зростання індексу резистентності. Гемограми корів-породіль функціонально активних і в стані гіпоксії новонароджених телят суттєво відрізняються. У корів-матерів функціонально активних новонароджених телят кількість еритроцитів у крові, вміст гемоглобіну та гематокриту, середній об'єм тромбоцитів і тромбокрит вищі, тоді як середній вміст гемоглобіну в еритроциті та ширина розподілу еритроцитів за об'ємом крові вищі в корів, від яких отримали телят у стані гіпоксії.

Ключові слова: гіпоксія, телята; еритроцити; лейкоцити; тромбоцити; індекси; кров.

Вступ

В умовах недостатнього забезпечення тканин киснем для задоволення потреб метаболізму в організмі виникає ланцюг біохімічних і фізіологічних змін (Edinger & Eisenman, 1970; Tolova, 1974; Fedoniuk et al., 2001; Burka et al., 2006; Ippolitova, 2007; Zhuravin et al., 2007; Stevenson et al., 2015). Ці зміни необхідні для забезпечення оптимальних функцій життєво важливих органів в умовах гіпоксії. Відносно висока стійкість плода до гіпоксії значною мірою обумовлена його безперервним зв'язком з організмом матері. При цьому перехід різноманітних речовин від матері до плода залежить від концентрації останніх у крові матері, рівня гемоциркуляції, проникності клітинних мембран. Важлива роль у даному процесі належить навколорідній рідині, завдяки якій здійснюється постійний і швидкий обмін речовин між організмом матері та плода (Stevenson et al., 2015). Біохімічний склад навколорідної рідини залежить від життєдіяльності та стану плода, характеризує процеси в його організмі зокрема, гемоцитопоез та забезпечення організму киснем, а в подальшому і в новонароджених телят (Balika et al., 1986; Korneev, 1991; Lebkova, 2000; Bellows et al., 2002; Plesnova et al., 2007; Shtemberg & Farber, 2007; Zamazii, 2008; Berry et al., 2014; Stevenson et al., 2015; Zamaziy et al., 2018).

Встановлено, що оксигензалежні тканини (мозок, міокард) у плода мають підвищену здатність до анаеробного метаболізму. Однак за нормальних умов метаболізм цих тканин має аеробний характер. Спостереження авторів співпадають із даними дослідників, які довели, що інтенсивність використання кисню тканинами як материнського організму, так і плода перед пологами суттєво зростає (Zamaziy et al., 2018). Після народження організм плода позбавляється глюкози, як основного та постійного енергетичного субстрату, і переходить на окиснення депонованих жирних запасів. Обмін речовин новонароджених тварин у такий спосіб «налаштований» на окиснення жирів і легко переходить на живлення молозивом, яке містить їх багато (Tolova, 1974; Korneev, 1991; Bellows et al., 2002; Ippolitova, 2007; Plesnova et al., 2007; Zhuravin et al., 2007).

Доведено, що за нестачі кисню гальмується електротранспортна функція дихального ланцюжка на НАД-залежній ділянці (Berry et al., 2014). Висока її стійкість до нестачі кисню визначається здатністю тканин утилізувати субстрати, які окиснюються поза ушкодженою ділянкою. Окиснення жирних кислот каталізує флавінзалежна А-дегідрогеназа, при цьому електрони надходять у дихальний ланцюг на рівні коферменту Q (Shtemberg & Farber, 2007). Високу резистентність організму новонароджених пов'язують із характером субстратів, що вони використовують, тобто жирні кислоти, гліцерол (Hammond et al., 2014). За даними дослідників метаболічна перебудова, яка відбувається у цей період, сприяє формуванню біохімічного стану організму дорослої тварини (Bellows et al., 2002; Shtemberg & Farber, 2007; Berry et al., 2014; Hammond et al., 2014). І чим швидше організм стабілізує свій енергетичний метаболізм, тим активніше він буде протидіяти гіпоксичному впливу. Вважають, що період від початку зниження стійкості організму до гіпоксії до початку її відновлення є тим періодом, протягом якого відбувається метаболічна перебудова (Shtemberg & Farber, 2007).

Узагальнюючи викладене, підкреслимо основні положення, які впливають з експериментальних досліджень щодо забезпечення організму киснем у пре- та постнатальний періоди його існування та дії гіпоксії на функціональні системи гомеостатичного рівня організації. Безперечно те, що за гострої гіпоксії головним руйнівним фактором є оксигенова недостатність і викликана нею дезорганізація метаболічних процесів. Фактори, які визначають розвиток постгіпоксичних змін, чисельні та залежать від характеру і ступеня зрілості структур, які підлягають дії гіпоксії одночасно.

Матеріал і методи досліджень

При народженні телят з ознаками гіпоксії (n = 27) ділили на три групи: I – телята, що народились у стані асфіксії або з наявним меконієм у навколорідних рідинах (n = 9); II – телята з неадекватними, спонтанними дихальними рухами (n = 9); III – телята, які після народження мали спонтанні адекватні дихальні рухи (n = 9). Із телят без ознак гіпоксії (функціонально активних) сформовано IV групу – контрольну. Проби крові в новонароджених телят отримували з судин пуповини. Визначали такі показники гемограми: кількість еритроцитів (1012/л); гематокрит, %; середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг; середній об'єм еритроцитів, мкм3; середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті крові, г/л; кисневу ємність гемоглобіну за загальноприйнятою формулою; кисневу ємність крові за формулою:

$$КЕК = 1,03 \times Hb + 4,36 \text{ об\%}$$

Крім цього, вивчали показники лейкограми і тромбограми, а саме: кількість лейкоцитів і тромбоцитів, тромбоцит, середній об'єм тромбоцитів, ширину розподілу тромбоцитів за об'ємом; кількість лімфоцитів у відсотках до загальної кількості лейкоцитів, абсолютні значення лімфоцитів; кількість моноцитів у відсотках до загальної кількості лейкоцитів, абсолютні значення моноцитів; кількість гранулоцитів у відсотках до загальної кількості лейкоцитів, абсолютні значення гранулоцитів; кількість лейкоцитів – 109/л; лейкоцитарну формулу.

Виразовували гематологічні індекси – лейкоцитарний (ЛІ), резистентності (ІР), нейтрофільно-лімфоцитарний коефіцієнт (НЛК), індекс нейтрофільного зсуву (ІНЗ) за загальноприйнятими формулами.

Паралельно з дослідженням крові телят визначали гемо-, лейко- та тромбограми корів, від яких отримані функціонально активні телята (n = 5) та телята з ознаками гіпоксії (n = 15).

Показники еритроцитопоезу функціонально активних телят і тих, що народилися з ознаками гіпоксії, визначали на гематологічному аналізаторі «ABX MICROS 60-OT» (Франція). Біохімічні показники крові: загальний білок, альбуміни, сечову кислоту та креатинін визначали на автоматичному біохімічному аналізаторі «Miura 200» (Італія) з використанням наборів реагентів High Technology (США), PZ Cormay S.A. (Польща) та Spinreact S.A. (Іспанія), глобуліни – методом розрахунку.

Під час проведення експериментальних досліджень дотримувалися міжнародних вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.) та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV від 21. 06. 2006 р.

Отриманий цифровий матеріал оброблений статистично з визначенням середньої арифметичної (M), статистичної помилки середньої арифметичної (m), вірогідності різниці (p) між середніми арифметичними двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (t) Стьюдента. Різницю між двома величинами вважали вірогідною за $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$.

Результати та їх обговорення

Значні зміни виявлено в показниках лейко- та тромбограм функціонально активних телят і телят, що народились у стані гіпоксії (табл. 1).

Кількість лейкоцитів у гіпоксичних телят при народженні значно вища, ніж у функціонально активних телят. Кількість тромбоцитів в 1,59; 1,39 та 1,63 раза вища в крові функціонально активних телят, ніж у телят, що народились у стані гіпоксії ($p < 0,01$). Тромбоцит крові телят, що народилися з ознаками гіпоксії, у 2,19; 1,92 та 2,57 раза ($p < 0,001$) нижчий, ніж у телят без ознак гіпоксії при народженні. Поряд із низьким показником тромбоцитів встановлено і зниження середнього об'єму тромбоцитів крові в телят, що народилися з ознаками гі-

Таблиця 1. Показники лейко- та тромбограм функціонально активних телят і телят, що народилися з ознаками гіпоксії (M ± m; n = 20)

Показники	Функціонально активні телята (контроль)	Група гіпоксичних телят			середнє по групах гіпоксичних телят
		I	II	III	
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	9,80 ± 0,29	15,63 ± 0,97	40,18 ± 0,74***	15,08 ± 0,36**	32,65 ± 0,69**
Тромбоцити, 10 ⁹ /л	725,20 ± 3,94	455,2 ± 5,60**	526,00 ± 7,57**	445,00 ± 1,02**	475,30 ± 4,75**
Тромбоцитрит, %	0,73 ± 0,10	0,33 ± 0,01***	0,38 ± 0,05***	0,29 ± 0,002***	0,33 ± 0,02***
Середній об'єм тромбоцитів, мкм ³	10,10 ± 0,04	7,44 ± 0,31**	7,24 ± 0,07**	6,48 ± 0,40**	7,05 ± 0,26**
Ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом, %	3,92 ± 0,74	1,18 ± 0,48***	1,44 ± 0,60***	1,35 ± 0,51***	1,35 ± 0,51**
Кількість лімфоцитів:					
– % до загальної кількості лейкоцитів	68,72 ± 0,05	89,60 ± 7,92*	89,44 ± 0,02*	76,28 ± 0,57	85,11 ± 0,50*
– абсолютне значення, 10 ⁹ /л	6,73 ± 0,04	38,24 ± 1,22**	35,94 ± 2,04***	11,50 ± 0,31***	28,61 ± 1,19**
Кількість моноцитів:					
% до загальної кількості	8,24 ± 0,02	2,68 ± 0,66	2,62 ± 0,34	5,51 ± 0,07	3,60 ± 0,36
– абсолютне значення моноцитів, 10 ⁹ /л	0,81 ± 0,02	1,14 ± 0,18	1,04 ± 0,024	0,83 ± 0,01	1,00 ± 0,07
Кількість гранулоцитів:					
% до загальної кількості лейкоцитів	23,04 ± 0,09	7,70 ± 0,60***	7,96 ± 0,34***	18,22 ± 0,59**	11,29 ± 0,84**
– абсолютне значення гранулоцитів, 10 ⁹ /л	2,26 ± 0,05	3,29 ± 0,97**	3,20 ± 0,81**	2,75 ± 0,09*	3,08 ± 0,62*

Примітка: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** p < 0,001 відносно показників функціонально активних телят.

поксії. Даний показник у телят I–III груп в 1,36; 1,40 і 1,56 раза (p < 0,01) нижчий, ніж у телят контрольної групи. Ширина розподілу тромбоцитів за об'ємом виявилася в 3,32–2,72 раза (p < 0,001) нижчою в телят, віднесених до I–III груп. Значно вищим був відсоток лімфоцитів у крові телят залежно від їх стану при народженні. У крові функціонально активних телят кількість лімфоцитів до загальної кількості лейкоцитів становила 68,72 ± 0,05%.

У телят I–III груп кількість лімфоцитів до загальної кількості лейкоцитів виявилася на 20,88–7,56% вищою, ніж у телят контрольної групи. Загальна кількість лімфоцитів у крові телят, що народилися з ознаками гіпоксії, в 5,68; 5,34 і 1,71 раза вища, ніж у крові телят контрольної групи (p < 0,001). Результати досліджень свідчать про значне зниження відсотка моноцитів до загальної кількості лейкоцитів у крові телят, що народилися у стані гіпоксії. У телят контрольної групи кількість моноцитів до загальної кількості лейкоцитів та абсолютне значення моноцитів становило, відповідно, 8,24 ± 0,02% та 0,81 ± 0,02 10⁹/л.

У телят I групи відсоток моноцитів у крові був нижчим, ніж у телят, що народилися функціонально активними, в 3,11 раза (p < 0,001), а їх кількість становила 1,14 ± 0,18 10⁹/л (в 1,41 раза вище, ніж у тварин контрольної групи; p < 0,01).

Виявлена динаміка змін кількості лімфоцитів і моноцитів у крові телят, що народилися з ознаками гіпоксії, супроводжується значним зниженням кількості гранулоцитів та їх відсотка до загальної кількості лейкоцитів у крові. Відсоток гранулоцитів у крові телят I–III груп у 2,99; 1,89 і 1,26 раза нижчий, ніж у крові телят контрольної групи (p < 0,001; p < 0,01). Кількість даних клітин у крові телят, що народилися з ознаками гіпоксії (I–II груп), в 1,46–1,42 раза вища, ніж у функціонально активних телят при народженні (p < 0,01).

У середньому кількість лейкоцитів по групах телят, що народилися з ознаками гіпоксії, виявлялася після народження в 3,33 раза частіше, ніж у тварин контрольної групи (p < 0,001), а тромбоцитів – у 1,53 раза (p < 0,01). Тромбоцитрит крові в гіпоксичних телят (I–III груп) реєстрували у 2,21 раза рідше, ніж у функціонально активних телят (p < 0,001). Відсоток гранулоцитів у крові телят, що народилися з ознаками гіпоксії, у середньому у 2,04 раза нижчий (p < 0,01), а їх кількість – в 1,35 раза більша, ніж у телят контрольної групи (p < 0,05).

Дослідження показало, що лейкоцитарна формула крові функціонально активних телят суттєво змінювалася протягом 30-добового періоду їх життя. Про це свідчать гематологічні індекси тварин при народженні та в динаміці (рис. 1).

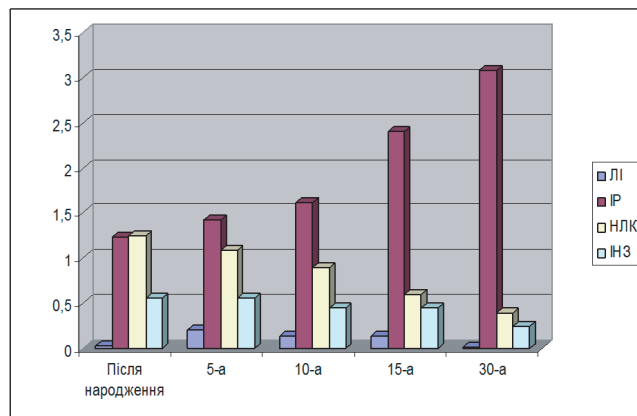


Рис. 1. Гематологічні індекси функціонально активних телят

Встановлена відмінність у гематологічних показниках функціонально активних телят. За період від народження до 30-ї доби життя у функціонально активних телят співвідношення різних форм лейкоцитів суттєво змінювалося. Найбільш значні зміни виявлені в крові функціонально активних новонароджених телят по індексу резистентності. На 1-шу добу життя в телят даний індекс становив $1,24 \pm 0,02$, у подальшому він послідовно зростав (в 1,15 раза на 5-у і 2,48 раза на 30-у добу життя телят; $p < 0,001$). Це свідчить про те, що в новонароджених функціонально активних телят кількість лімфоцитів у крові поступово зростала. У той же час динаміка змін кількості сегментоядерних нейтрофілів мала протилежний напрям. Лейкоцитарний індекс, який характеризує співвідношення різних форм агранулоцитів і гранулоцитів, у крові функціонально активних телят мав хвилюподібну динаміку від моменту народження до 30-ї доби. На 1-шу добу життя даний індекс становив $0,025 \pm 0,001$ і зріс у 8,04 раза вже на 5-у добу ($p < 0,001$). До 10-ї доби життя телят він знизився і становив $0,13 \pm 0,001$, що порівняно з показником лейкоцитарного індексу на 5-у добу нижче в 1,62 раза ($p < 0,01$). У подальшому, на 15-у добу життя, індекс у функціонально активних телят практично не змінювався, а на 30-у добу знизився в 10,8 раза ($p < 0,01$) порівняно з даним показником на 15-у добу життя телят. Це ще раз підтверджує суттєве зростання кількості лімфоцитів і моноцитів у крові функціонально активних телят за досліджуваній період.

Загальне співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів у крові телят контрольної групи на 1-шу добу життя становило $1,25 \pm 0,001$. Далі, до 30-ї доби, індекс у телят I групи послідовно знижувався. На 5–10-ту добу життя телят він в 1,15–1,39 раза був нижчим, ніж після їх народження ($p < 0,05$). На 15-ту добу даний коефіцієнт у телят групи знизився у 2,08, а на 30-ту добу – в 3,13 раза ($p < 0,001$) порівняно з показником даного індексу після народження тварин.

Індекс нейтрофільного зсуву в телят, що народилися функціонально активними, становив $0,56 \pm 0,0002$ після народження. До 30-ї доби життя в телят I групи він знижувався у 2,33 раза ($p < 0,001$). Про зміни в процесах лейкопоезу (в середньому) свідчать гематологічні індекси телят, що народилися з ознаками гіпоксії (рис. 2).

Відзначимо, що після народження гематологічні індекси телят, що народилися з ознаками гіпоксії, суттєво відрізнялися від телят, що народилися функціонально активними. Лейкоцитарний індекс телят, що народилися з ознаками гіпоксії, на 1-шу добу життя був вищим, ніж у функціонально активних телят в 1,56 раза ($p < 0,01$). Можливо, це пов'язано з тим, що гіпоксія, впливаючи на організм як негативний фактор, спонукає його до викиду в кров клітин, які є визначальними у імунній відповіді організму та відповідають за збереження інформації щодо ан-

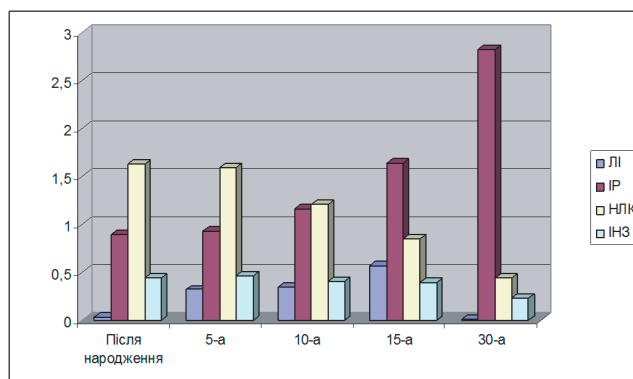


Рис. 2. Гематологічні індекси гіпоксичних телят

тигенів (тобто лімфоцитів і моноцитів). За період від 5-ї до 30-ї доби життя тварин лейкоцитарний індекс телят, що народилися з ознаками гіпоксії, вище в 1,52 ($p < 0,01$); 2,69 та 4,38 раза, ніж у функціонально активних телят ($p < 0,001$).

Наведені дані свідчать про те, що в організмі телят, що народилися із ознаками гіпоксії, порушуються гемопоетичні процеси. Індекс резистентності в гіпоксичних телят після народження виявився в 1,39 раза нижчим, ніж у функціонально активних ($p < 0,01$), зростав до 30-ї доби в 3,18 раза ($p < 0,001$), однак залишався нижчим, ніж у функціонально активних телят.

Нейтрофільно-лімфоцитарний коефіцієнт виявився після народження у телят II групи (гіпоксичні телята) вищим, ніж у функціонально активних телят в 1,31 раза ($p < 0,05$). Це свідчить про значно більшу кількість лімфоцитів у крові телят, що народилися з ознаками гіпоксії. На 5-ту добу життя в телят II групи нейтрофільно-лімфоцитарний коефіцієнт практично не змінився і становив $1,59 \pm 0,001$ при $1,63 \pm 0,001$ на 1-шу добу. У подальшому відбулося зниження нейтрофільно-лімфоцитарного коефіцієнта до $0,44 \pm 0,001$ (в 3,70 раза; $p < 0,001$).

Підкреслимо, що у корів, від яких отримані функціонально активні телята та телята з ознаками гіпоксії, значно відрізнялися показники гемоцитопоезу. Вивчення цього питання показало істотні відмінності в показниках гемограми вже в день отелу корів-матерів (табл. 2).

Так, кількість еритроцитів у крові, вміст гемоглобіну та гематокрит у корів-матерів функціонально активних телят більші, ніж у корів-матерів телят з ознаками гіпоксії в 1,14; 1,06 і 1,11 раза. Середній вміст гемоглобіну в еритроциті крові в корів-матерів телят з ознаками гіпоксії виявився в 1,22 раза

Таблиця 2. Показники еритрограми корів-матерів функціонально активних новонароджених телят та телят у стані гіпоксії ($M \pm m$; $n = 20$)

Показники	Корови-матері телят	
	функціонально активних	із ознаками гіпоксії
Еритроцити, $10^{12}/л$	$7,0 \pm 0,01$	$6,1 \pm 0,04$
Гемоглобін, г/л	$116,0 \pm 1,34$	$109,8 \pm 0,49$
Гематокрит, %	$32,8 \pm 0,002$	$29,5 \pm 0,01$
Середній об'єм еритроцитів, $\mu\text{м}^3$	$42,4 \pm 1,57$	$48,4 \pm 0,24$
Середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг	$14,9 \pm 0,62$	$18,2 \pm 0,12^*$
Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах, г/л	$35,0 \pm 4,00$	$370,4 \pm 4,15$
Ширина розподілу еритроцитів за об'ємом, %	$16,8 \pm 0,56$	$19,1 \pm 0,18$
Киснева ємність крові, об%	$123,8 \pm 3,24$	$117,4 \pm 2,86$

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з показником корів-матерів функціонально активних телят.

Таблиця 3. Показники лейко- та тромбограм корів-матерів телят, функціонально активних та у стані гіпоксії ($M \pm m$; $n = 20$, після отелу)

Показники	Корови-матері телят	
	функціонально активних	із ознаками гіпоксії
Лейкоцити, $10^9/\text{л}$	$7,72 \pm 0,52$	$8,72 \pm 1,56^*$
Тромбоцити, $10^9/\text{л}$	$524,40 \pm 8,10$	$449,00 \pm 6,20^*$
Тромбоцитрит, %	$0,41 \pm 0,07$	$0,26 \pm 0,004^{**}$
Середній об'єм тромбоцитів, $\mu\text{м}^3$	$7,88 \pm 0,40$	$5,84 \pm 0,11^*$
Ширина розподілу тромбоцитів по об'єму, %	$4,60 \pm 0,07$	$0,48 \pm 0,29$
Кількість лімфоцитів: % до загальної кількості лейкоцитів	$55,04 \pm 0,26$	$35,16 \pm 2,01$
– абсолютне значення лімфоцитів, $10^9/\text{л}$	$4,25 \pm 0,77$	$3,07 \pm 0,46$
Кількість моноцитів: % до загальної кількості лейкоцитів	$5,40 \pm 0,22$	$14,45 \pm 0,07^{***}$
– абсолютне значення моноцитів, $10^9/\text{л}$	$0,42 \pm 0,053$	$1,26 \pm 0,23^{***}$
Кількість гранулоцитів: % до загальної кількості лейкоцитів	$39,56 \pm 0,38$	$50,39 \pm 2,09$
– абсолютне значення гранулоцитів, $10^9/\text{л}$	$3,05 \pm 0,23$	$4,40 \pm 0,92^{**}$

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ відносно показників корів-матерів функціонально активних новонароджених телят.

($p < 0,05$) вищим, ніж у крові корів-матерів функціонально активних телят. Вищими виявилися й середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах, і ширина розподілу еритроцитів за об'ємом (в $1,06$ – $1,17$ раза; $p < 0,05$) крові в корів-матерів телят з ознаками гіпоксії.

Значніші зміни встановлено в показниках лейкограми і тромбограми крові корів (табл. 3).

Кількість лейкоцитів у крові корів-матерів після отелення функціонально активних телят нижча, а тромбоцитів вища, відповідно, в $1,13$ та $1,17$ раза, ніж у корів іншої групи. Тромбоцитрит у корів-породіль функціонально активних телят виявився в $1,58$ раза вищим ($p < 0,01$), ніж у корів-породіль телят з ознаками гіпоксії. В останніх відсоток лімфоцитів у крові був у $1,57$ раза ($p < 0,01$) нижчий, ніж у корів-матерів функціонально активних телят. Загальна кількість клітин даної групи виявилася в корів-матерів телят з ознаками гіпоксії в $1,38$ раза нижчою ($p < 0,01$). Відсоток і загальна кількість моноцитів у крові корів-матерів функціонально активних телят, відповідно, у $2,68$ та $3,04$ раза ($p < 0,001$) нижчий, ніж у корів іншої групи.

Висновки

Встановлена загальна динаміка зниження кількості еритроцитів у крові функціонально активних новонароджених телят і телят неонатального періоду в $1,28$ – $1,41$ раза. Значне зниження показника відбувається в перші 5 днів життя. Середній об'єм еритроцитів у крові функціонально активних телят у середньому зростає в $1,19$ раза ($p < 0,01$), знижується концентрація гемоглобіну в еритроциті, особливо в телят із низьким рівнем пренатального розвитку. Згадані процеси в телят, що народилися з ознаками гіпоксії, перебігають «повільніше», із збереженням динаміки, притаманній функціонально активним телятам.

Використання гематологічних індексів дозволяє об'єктивно визначати якісні та кількісні зміни концентрацій і функціональної активності лейкоцитів. Визначено, наприклад, зниження протягом неонатального періоду лейкоцитарного індексу, нейтрофільно-лімфоцитарного коефіцієнта та індексу нейтрофільного зсуву, зростання індексу резистентності.

Спостерігаються відмінності в гемограмах корів-матерів функціонально активних телят і новонароджених телят у ста-

ні гіпоксії. Кількість еритроцитів у крові, вміст гемоглобіну та гематокрит, середній об'єм тромбоцитів і тромбоцитрит вищі в корів-матерів функціонально активних телят, тоді як середній вміст гемоглобіну в еритроциті та ширина розподілу еритроцитів за об'ємом крові реєструвалися вищими в корів-матерів телят з ознаками гіпоксії.

References

- Balika, J. D., Abubakirova, A. M., & Kozlova, S. I. (1986). Biohimeskie pokazateli krovi materi, pupovinnj krovi i okolo-plodnyh ridini pri gipoksii ploda [Biochemical indices of maternal blood, cord blood and amniotic fluid during fetal hypoxia]. *Akusherstvo i Ginekologija*, 7, 23–25 (in Russian).
- Bellows, D. S., Ott, S. L., & Bellows, R. A. (2002). Review: Cost of Reproductive Diseases and Conditions in Cattle. *The Professional Animal Scientist*, 18(1), 26–32.
- Berry, D. P., Wall, E., & Pryce, J. E. (2014). Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal*, 8(s1), 105–121.
- Burka, S. A., Kose, B. A., & Matviienko, M. A. (2006). Zminy systemnoi hemodynamiky u novonarodzhenykh v krytychnykh stanakh [Changes in systemic hemodynamics in newborns in critical conditions]. *Aktualni Problemy Suchasnoi Medytsyny: Visnyk Ukrainskoi Medychnoi Stomatolohichnoi Akademii*, 6(4), 129 (in Ukrainian).
- Edinger, H., & Eisenman, J. (1970). Thermosensitive neurons in tuberal and posterior hypothalamus of cats. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 219(4), 1098–1103.
- Fedoniuk, Y. I., Bilyk, L. S., & Mykula, N. K. (2001). Anatomii ta fiziologii z patolohiieiu [Anatomy and physiology with pathology]. *Ukrmedknyha*, Ternopil (in Ukrainian).
- Hammond, E. M., Asselin, M.-C., Forster, D., O'Connor, J. P. B., Senra, J. M., & Williams, K. J. (2014). The Meaning, Measurement and Modification of Hypoxia in the Laboratory and the Clinic. *Clinical Oncology*, 26(5), 277–288.
- Ippolitova, T. V. (2007). Adaptacionnye reakcii nervnoj i serdechno-sosudistoj sistemy zhivotnyh [Adaptive reactions of the nervous and cardiovascular systems of animals]. *XX S'ezd Fiziologicheskogo Obshhestva im I. P. Pavlova: tezisy dokladov. Russkij vrach, Moscow*, 41 (in Russian).

- Korneev, A. A. (1991). O formirovanii individual'noj rezistentnosti organizma k ostroj gipoksicheskoj gipoksii v processe ontogeneza [On the formation of individual body resistance to acute hypoxic hypoxia in the process of ontogenesis]. *Patologicheskaja Fiziologija i Jeksperimental'naja Terapija*, 7, 41–44 (in Russian).
- Lebkova, N. P. (2000). Sovremennye predstavlenija o vnutrikletochnyh mehanizmah obespechenija jenergeticheskogo gomeostaza v norme i patologii [Modern ideas about the intracellular mechanisms of energy homeostasis in health and disease]. *Vestnik Rossijskoj akademii meditsinskikh nauk*, 9, 16–22 (in Russian).
- Plesnova, S. A., Dubrovskaja, N. M., & Nalivaeva, N. N. (2007). Prenatal'naja gipoksija narushaet metabolizm amiloidnogo peptida i formirovanie kognitivnyh funkcij v ontogeneze mlekopitajushchih [Prenatal hypoxia disrupts the metabolism of the amyloid peptide and the formation of cognitive functions in the ontogeny of mammals]. *XX S'ezd Fiziologicheskogo Obshhestva im I. P. Pavlova: tezis dokladov. Russkij vrach, Moscow*, 74 (in Russian).
- Shtemberg, A. S. & Farber, J. V. (2007). Tipy ustojchivosti i taktiki adaptacii krysa k povtornym vozdeystvijam ostroj gipobariticheskoj gipoksii [Types of resistance and tactics of rat adaptation to repeated effects of acute hypobaritic hypoxia]. *XX S'ezd Fiziologicheskogo Obshhestva im I. P. Pavlova: tezis dokladov. Russkij vrach, Moscow*, 108 (in Russian).
- Stevenson, J. S., Hill, S. L., Bridges, G. A., Larson, J. E., & Lamb, G. C. (2015). Progesterone status, parity, body condition, and days postpartum before estrus or ovulation synchronization in suckled beef cattle influence artificial insemination pregnancy outcomes. *Journal of Animal Science*, 93(5), 2111–2123.
- Tolova, L. P. (1974). Nekotorye pokazateli uglernodnogo obmena pri asfiksii novorozhdennyh [Some indicators of carbon metabolism in the asphyxiation of newborns]. *Zdravohranenie Belorusii*, 2, 31–32 (in Russian).
- Zamaziy, A. A., Kambur, M. D., & Butov, O. V. (2018). Physiological and biochemical changes in the body of cows during pregnancy, natal and postnatal processes. *Science and Technology Bulletin of SRC for Biosafety and Environmental Control of AIC*, 6(2), 79–84 (in Ukrainian).
- Zamazii, A. A. (2008). Umovy hazoobminu v orhanizmi teliat zalezno vid yikh prenatalnoho rozvytku [Conditions of gas exchange in the body of calves depending on their prenatal development]. *Naukovyi Visnyk Natsionalnoho Ahramoho Universytetu*, 127, 105–110 (in Ukrainian).
- Zhuravin, I. A., Vasil'ev, D. D., & Dubrovskaja, N. M. (2007). Vlijanie gipoksii na metabolizm amiloidnogo peptida i razvittie funkcii mozga [The effect of hypoxia on the metabolism of amyloid peptide and the development of brain function]. *XX S'ezd Fiziologicheskogo Obshhestva im I. P. Pavlova: tezis dokladov. Russkij vrach, Moscow*, 37 (in Russian).

Original researches

Study on the Prevalence of Subclinical Mastitis in Goat Milk

N. M. Zazharska, S. O. Rosenko

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Received: 06 August 2018

Revised: 13 August 2018

Accepted: 14 August 2018

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

Tel.: +38-056-268-54-87

E-mail: zazharskayan@gmail.com

Cite this article: Zazharska, N. M.,
& Rosenko, S. O. (2018). Study on the
prevalence of subclinical mastitis in goat milk.
Theoretical and Applied Veterinary Medicine,
6(3), 50-53. doi: 10.32819/2018.63010

Abstract. The study on the prevalence of subclinical mastitis in goat milk and comparison of different methods of determining the number of somatic cells in goat milk were carried out. The goat herds of German white, Anglo-Nubian, Alpine and local breeds, were studied twice to determine the subclinical mastitis: 83 dairy goats were examined in autumn, and 144 animals in spring. The first portions of milk were examined by mastoid test and the California mastitis test (CMT). Samples of milk were studied at the Laboratory of Food Hygiene at the Department of Parasitology, Veterinary and Sanitary Expertise at the Dnipro State Agrarian and Economic University. The settling test was conducted and the determination of somatic cell count in milk was carried out by viscosimetric method. We also made milk films and stained them by the May-Grunwald method. After that the number of somatic cells using microscope was calculated. As a result of bacteriological research of milk on pathogens, mastitis *Staphylococcus aureus* was isolated in autumn. In six months, the number of goats suffering from subclinical mastitis decreased from 12% to 8%, by improving the control of the udder health of farm animals. The mastoid test was better than the California mastitis test with goat milk, due to the formation of a tighter clot. From the milk samples which were positive or questionable on mastoid test, 29% samples were found consistent with the requirements of DSTU 7006:2009 for second-rate quality milk by viscosimetric method and settling test. Using the arbitration method (direct microscopy), it was found that the number of somatic cells did not meet the requirements of DSTU in all tests. The exact somatic cell count in goat milk should be determined only by direct microscopic or fluoroptoelectronic calculation. In samples that showed the largest somatic cell count in milk films (> 20 million/cm³), only $2\ 818 \pm 956 \times 10^3$ cells/cm³ were determined by viscometric method, which proves the accuracy of the arbitration method. For continuous milk production and good-quality goods with a low number of somatic cells using viscometric method (< 600 thousand/cm³), it is recommended to continuously renovate the goat herd, since the lowest number of somatic cells in milk is observed in goats of the first lactation (firstborns).

Keywords: goat milk; somatic cells; mastoid test; california mastitis test; viscosimetric method; milk films.

Дослідження молока кіз на субклінічний мастит

Н. М. Зажарська, С. О. Росенко

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

Анотація. Проведено діагностику субклінічного маститу кіз і порівняння різних методів визначення кількості соматичних клітин у козиному молоці. Двічі на субклінічний мастит досліджено стадо кіз альпійської, англо-нубійської, німецької білої та місцевої порід: восени 83 дійні кози, навесні – 144 тварини. Перші порції молока досліджували мастидиновою пробю та каліфорнійським маститним тестом у господарстві. Лабораторні дослідження виконували в лабораторії гігієни харчової продукції кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Проведено пробу відстоювання, визначення кількості соматичних клітин у молоці за допомогою приладу «Соматос» загальноприйнятими методами. Виготовляли мазки молока та забарвлювали за Май-Грюнвальдом, після чого визначали кількість соматичних клітин під мікроскопом. За результатами бактеріологічного дослідження молока на збудники маститу восени виділено *Staphylococcus aureus*. За півроку кількість кіз, хворих на субклінічний мастит, знизилася з 12% до 8%, чому сприяв посилений контроль здоров'я вимені тварин і своєчасне його лікування в господарстві. Під час дослідження виявлено, що в пробі з мастидином реакція відбувається краще, ніж у каліфорнійському маститному тесті, за рахунок утворення щільнішого згустку. Із проб молока, позитивних або сумнівних за мастидиновою пробю, виявили 29% проб, які відповідали вимогам ДСТУ 7006:2009 для козиного молока другого ґатунку за допомогою віскозиметричного методу і проби відстоювання. Але за арбітражним методом (пряма мікроскопія) кількість соматичних клітин не відповідала вимогам ДСТУ в усіх пробах. Точну кількість соматичних клітин у козиному молоці потрібно встановлювати тільки шляхом прямим мікроскопічним методом або з використанням флуорооптоелектронних лічильників. У пробах молока, де відмічена найбільша кількість соматичних клітин за підрахунку в мазках (> 20 млн/см³), за допомогою

приладу «Соматос» визначено лише $2\ 818 \pm 956$ тис./см³, що доводить точність арбітражного методу. Для постійного отримання молока з низькою кількістю соматичних клітин віскозиметричним методом (< 600 тис./см³) з метою виготовлення високоякісного сиру господарству рекомендовано постійне оновлення стада дійних кіз, оскільки найнижчу кількість соматичних клітин у молоці мають кози першої лактації (первістки).

Ключові слова: козине молоко; соматичні клітини; мастидинова проба; каліфорнійський тест; віскозиметричний метод; мазки молока.

Вступ

Соматичні клітини є важливим компонентом молока. Кількість їх використовують як показник здоров'я молочної залози та якості молока. Здебільшого кількість досліджень присвячено саме вивченню різноманітних факторів, які впливають на кількість соматичних клітин у молоці різних тварин (Paare et al., 2007). Встановлено, що кількість соматичних клітин суттєво залежить від кількості бактерій у коров'ячому молоці, тоді як кількість соматичних клітин не корелює з показником віку тварин або кількості *Hypoderma lineatum* у корів. Результати дослідження вказують на те, що санітарна обробка вимені та процедура доїння, яку застосовують фермери, також впливає на кількість соматичних клітин у молоці (Kline, 2018).

Вітчизняними вченими з'ясовано вплив раціону на показники якості та безпечності козиного молока (Zazharska et al., 2018). Доведено, що концентрація молочного жиру та його склад залежать від типу і кількості корму, породи, стадії лактації, кількості лактацій, сезонних змін (Souza et al., 2009). Склад молока визначається регуляцією бар'єра між кров'ю та паренхімою вимені. Цілісність бар'єра найчастіше обумовлює стан здоров'я вимені. Мастит призводить до пошкодження цього бар'єра під дією мікробних токсинів і продуктів обміну речовин (Leitner et al., 2004; Wagner et al., 2009).

Індійські вчені виявили, що за маститу кількість нейтрофілів збільшується в овець ($74,08 \pm 4,02\%$) та кіз ($79,10 \pm 3,75\%$), тоді як у молоці від здорових овець переважають макрофаги ($54,60 \pm 4,40\%$). Для молока від здорових кіз характерна більшість нейтрофілів ($64,10 \pm 5,91\%$), що показує видові особливості (Shah et al., 2017).

Пошук можливих критеріїв субклінічного маститу в кіз ускладнений відсутністю порогових значень для диференціювання молока від здорової та хворої тварини (Ying et al., 2002; Min et al., 2007). Учені вказують на максимальне значення кількості соматичних клітин для кіз у діапазоні від 200 тис./см³ до декількох мільйонів клітин на 1 см³ (Raynal-Ljutovac et al., 2007). Під час дослідження збірного молока від 1400 кіз отримано середню кількість 779 тис./см³ соматичних клітин (Souza et al., 2009). Іншими дослідниками виявлено середньгеометричне значення кількості соматичних клітин (1345 тис./см³) і середньоарифметичне (1403 тис./см³) від 642 проб збірного козиного молока. Після цього проводили бактеріологічні дослідження проб молока пізньої лактації з кількістю соматичних клітин > 1 млн/см³ ($n = 94$), з яких тільки 29,76% класифіковані як вільні від мікроорганізмів (Vasiu et al., 2008).

Отже, вчені продовжують вести пошук непрямих досліджень, які вказують на субклінічний мастит кіз, крім методу бактеріологічного виявлення збудників (Stuhr & Aulrich, 2010).

Мета нашої дослідження – порівняти різні методи визначення кількості соматичних клітин у козиному молоці для можливості діагностики субклінічного маститу кіз.

Матеріал і методи досліджень

Двічі на субклінічний мастит досліджено стадо кіз альпійської, англо-нубійської, німецької білої та місцевої порід приватного підприємства «Укрсільгоспром», розташоване в місті Підгороднє Дніпропетровського району Дніпропетров-

ської області. У жовтні 2017 року досліджено 83 дійні кози, у квітні 2018 року – 144. Відбирали перші порції молока, після чого їх досліджували за допомогою мастидинової проби та каліфорнійським маститним тестом у лабораторії гігієни харчової продукції кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Проби відстоювання, визначення кількості соматичних клітин у молоці проводили за допомогою приладу «Соматос» загальноприйнятими методами. У виготовлених мазках молока й забарвлених за Май-Грюнвальдом підраховували кількість соматичних клітин під мікроскопом з об'єктивом $\times 100$ (Zazharska, 2018).

Результати та їх обговорення

У жовтні 2017 року, під час дослідження 83 кіз на субклінічний мастит, у 37 тварин виявили позитивний результат мастидиновою пробю. Для остаточного діагнозу від цих тварин відібрали молоко та провели пробу відстоювання. Виявлено 10 тварин, хворих на субклінічний мастит, що становить 12% від стада. Проби від 20 кіз показали сумнівний результат (24%). У 7 кіз субклінічний мастит не виявили, проте спостерігали підвищення кількості соматичних клітин, яке можливо викликано статевим збудженням. Оскільки відсоток хворих тварин високий (12%), то проводили бактеріологічне дослідження молока на збудника маститу, за результатами якого виділено *Staphylococcus aureus*.

Через 6 місяців повторно обстежували стадо зі 144 дійних кіз, з яких 51 тварину відділили в окрему групу зі субклінічним маститом або з підозрою на захворювання. Під час проведення дослідження порівнювали 2 методи виявлення прихованого маститу: мастидинову пробу та каліфорнійський маститний тест. З'ясувалося, у пробі з мастидином реакція відбувається краще, що можна пояснити утворенням більш щільного згустка (рис. 1).



Рис. 1. Дослідження на субклінічний мастит каліфорнійським тестом (ліва частина пластини) і мастидиновою пробю (права частина)

Для визначення кількості соматичних клітин і постановки проби відстоювання було відібрано 31 пробу молока у тварин, які показали позитивний чи сумнівний результат у швидких маститних тестах.



Рис. 2. Виявлений осад на склі пробірки під час оцінювання результатів проби відстоювання

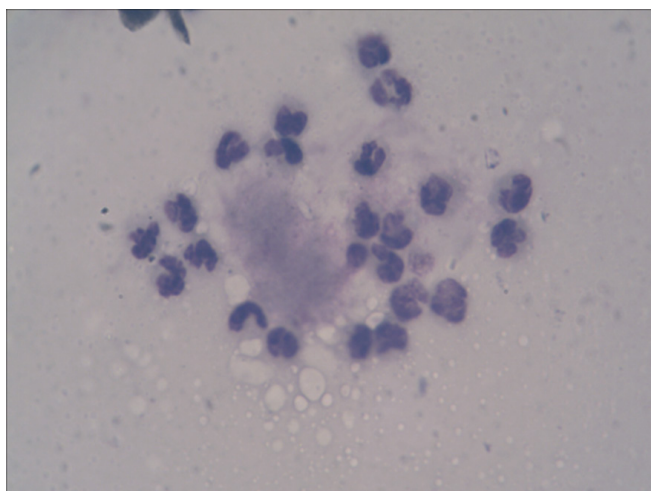


Рис. 3. Соматичні клітини в мазках козиного молока у разі субклінічного маститу. Заб. за Май-Грюнвальдом. $\times 1000$

Відзначимо деякі особливості обліку проби відстоювання з козиним молоком. Краще проводити облік через 24–36 годин. Більш уважно розглядати пробірку з молоком. За субклінічного маститу в нижній половині стовпчика молоко водянисте (зі сіруватим відтінком) або на дні пробірки ледве помітний осад чи згусток. Якщо вилити вміст пробірки у чашку Петрі, то все змішується в однорідну суміш, проте на склі пробірки залишається слід від згустку (рис. 2). За відсутності субклінічного маститу – у пробірці звичайне молоко з шаром вершків.

По результатам визначення кількості соматичних клітин віскозиметричним методом і проведення проби відстоювання зареєстрована допустима кількість соматичних клітин у молоці 9-ти кіз. У процесі одужання, завдяки лікуванню вакциною, перебували 11 тварин, які мали одну уражену долю вимені та несуттєве збільшення кількості соматичних клітин. На нашу думку, збільшення кількості соматичних клітин викликано про- явом статевої охоти, а не субклінічним маститом.

У 8 кіз виявлений субклінічний мастит за результатами аналізів. Рекомендовано подальше спостереження, лікування вакциною та часте здоювання. До вибракування рекомендовані 3 тварини через несприятливий прогноз лікування. Тобто визначення кількості соматичних клітин віскозиметричним методом і проведенням проби відстоювання 31 проби молока виявлено 9 здорових тварин. Але це попередні підсумки, які перевіряли підрахунком кількості соматичних клітин у мазках молока.

За прямого підрахунку соматичних клітин у мазках козиного молока, забарвлених будь-яким методом, виявляли більшу кількість клітин, ніж за допомогою приладів «Соматос» і «SomaCount Flow Cytometer». Виходячи з цього, задля об'єктивного визначення, кількість соматичних клітин вимірювали апаратним і арбітражним методами прямого підрахунку клітин у мазках молока за методом Прескота-Бріда (рис. 3).

Арбітражним вважають метод підрахунку соматичних клітин молока за Прескота-Бріда, коли мазки козиного молока рекомендують забарвлювати піроніном, але барвники для проведення дослідження, зазначимо, мають високу вартість.

За попередніми дослідженнями встановлено, що якість мазків козиного молока для підрахунку кількості соматичних клітин, забарвлених методом Май-Грюнвальда, відповідає рекомендованому методу з піроніном Y, але вартість барвників у 28,4 раза нижча (Zazharska, 2018). Для спрощення обробки результати дослідження молока кіз розподілили на 3 діапазони за кількістю соматичних клітин (таблиця).

Кількість соматичних клітин $> 1,5$ млн/см³ на приладі «Соматос» точно встановити неможливо, тому показник визначали орієнтовно по залишку після витікання суміші з капіляра за хвилину.

У пробах молока, де відмічена найбільша кількість соматичних клітин (> 20 млн/см³) за підрахунку в мазках, за допомогою приладу «Соматос» визначено лише 2818 ± 956 тис./см³, що переконало в точності арбітражного методу. За підрахунком клітин у мазках не виявлено зразків із кількістю соматичних клітин до 1 млн/см³, натомість віскозиметричним методом у 7 пробах молока встановлено такий рівень. Це ще раз доводить, що віскозиметричний прилад «Соматос» є тільки непрямим

Таблиця. Підрахунок соматичних клітин у козиному молоці різними методами

Соматичні клітини у молоці, тис./см ³	Кількість соматичних клітин, визначених різними методами, тис./см ³	
	на приладі «Соматос»	у мазках молока, заб. за Май-Грюнвальдом
до 10 000	550 ± 104	7 020 ± 697
10 000–20 000	2 071 ± 318	15 558 ± 873
Понад 20 000	2 818 ± 956	29 652 ± 3 668

методом визначення кількості соматичних клітин, і в козиному молоці ця різниця між методами суттєвіша.

Від 5 до 10 млн соматичних клітин виявлено у 26% (8) мазків молока, від 10 до 20 млн – у 35% (11) зразків і більше 20 млн соматичних клітин знайдено у 39% (12) мазків.

За результатами підрахунку соматичних клітин на приладі «Соматос» взагалі не виявлено понад 4,5 млн, тому що цей метод є неточним. За результатами досліджень з використанням приладу «Соматос» 9 зразків молока (29%) мали кількість соматичних клітин до 800 тис./см³, що відповідає вимогам ДСТУ (другий гаунок) (Молоко козине. Сировина. Технічні умови: ДСТУ 7006:2009, 2010), у 22 зразках (71%) показник значно перевищував цей рівень. Отже, молоко від 9 кіз можна допускати на харчові цілі за результатами аналізу віскозиметричним методом, але за допомогою арбітражного методу (пряма мікроскопія) воно виявилось від кіз із субклінічним маститом і повинно бути утилізовано.

У попередніх дослідженнях визначено, що критеріями виявлення субклінічного маститу кіз є сукупність таких показників, як уміст хлорид-іонів > 300 мг%, кількість соматичних клітин > 2 млн/см³, хлорцукрове число 7 і вище, позитивні проби з мастидином і відстоювання (Zazharska et al., 2017). Для фермерів рекомендовано проводити пробу з мастидином, мастопримом або каліфорнійський маститний тест із молоком двох долей вимені окремо. Виявлення позитивного результату однієї з долей можна вважати субклінічним маститом вимені.

Використання фітозасобів для доїння (мазі для доїння «Дбайлива доярочка», «Фітосепт», крем «Зоряка», гель «Ніж-нодій») покращує санітарно-гігієнічні показники козиного молока і може бути заходом профілактики субклінічного маститу кіз (Fotina et al., 2015).

Для постійного отримання молока з малою кількістю соматичних клітин віскозиметричним методом (< 600 тис./см³), з метою виготовлення високоякісного сиру, господарству рекомендовано регулярне оновлення стада дійних кіз, оскільки найменшу кількість соматичних клітин у молоці мають кози першої лактації (первістки).

Висновки

Точну кількість соматичних клітин у козиному молоці можна встановити тільки підрахунком прямим мікроскопічним методом або з використанням флуорооптоелектронних лічильників. Для виявлення субклінічного маститу в кіз у пробі з мастидином реакція відбувається краще, ніж у каліфорнійському маститному тесті за рахунок утворення щільнішого згустку.

References

Fotina, T. I., Zazharska, N. M., & Kostyuchenko, V. Y. (2015). Influence of facilities for milking on sanitary quality of goat's milk. *Visnik Sumського Nacionalnogo Agrarnogo Universitetu*, 7(37), 59–65 (in Ukrainian).

- Kline, K. E. (2018). Factors affecting Somatic Cell Count in milk of dairy cows in Costa Rica. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 4(1), 001–008.
- Leitner, G., Merin, U., & Silanikove, N. (2004). Changes in Milk Composition as Affected by Subclinical Mastitis in Goats. *Journal of Dairy Science*, 87(6), 1719–1726.
- Min, B. R., Tomita, G., & Hart, S. P. (2007). Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts and chemical composition of goats' milk. *Journal of Dairy Research*, 74: 204–210.
- Paape, M. J., Wiggans, G. R., Bannerman, D. D., Thomas, D. L., Sanders, A. H., Contreras, A., Moroni, P., Miller, R. H. (2007). Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 114–125.
- Raynal-Ljutovac, K., Pirisi, A., de Crémoux, R., & Gonzalo, C. (2007). Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 126–144.
- Shah, A., Darzi, M. M., Kamil, S. A., Mir, M. S., Maqbool, R., Ali, R., Kashani, B., Wani, H., Bashir, A., Dar, A., & Qureshi, S. (2017). Somatic cell alteration in healthy and mastitic milk of sheep and goats. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(6), 27–33.
- Souza, G. N. de, Brito, J. R. F., Brito, M. A. V. P., Lange, C., Faria, C. G. de, Moraes, L. C. D. de, Fonseca, R. G., & Silva, Y. D. A. (2009). Composição e contagem de células somáticas no leite de rebanhos caprinos do Sudeste do Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 46(1), 19.
- Stuhr, T., & Aulrich, K. (2010). Intramammary infections in dairy goats: recent knowledge and indicators for detection of subclinical mastitis. *Landbauforschung Applied Agriculture and Forestry Research*, 4(60): 267–280.
- Vasiu, C., Bogolin, I., & Bolfa, P. (2008). Relation between the geometrical mean of somatic cells from bulk milk and the prevalence of subclinical intramammary infections in sheep and goats. *Bulletin USAMV Veterinary Medicine*, 65(2), 339–344.
- Wagner, S. A., Jones, D. E., & Apley, M. D. (2009). Effect of endotoxic mastitis on epithelial cell numbers in the milk of dairy cows. *American Journal of Veterinary Research*, 70(6), 796–799.
- Ying, C., Wang, H.-T., & Hsu, J.-T. (2002). Relationship of somatic cell count, physical, chemical and enzymatic properties to the bacterial standard plate count in dairy goat milk. *Livestock Production Science*, 74(1), 63–77.
- Zazharska, N. M. (2018). Criteria for safety and quality assessment of goat's milk. The thesis for the scientific degree of doctor of the veterinary science by specialty 16.00.09 – veterinary and sanitary expertise. Sumy National Agrarian University (in Ukrainian).
- Zazharska, N. M., Neverkovets, N. Y., & Danyliuk, V. O. (2017). Parameters of subclinical mastitis in goats. *News of Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University*, 3(45), 77–81 (in Ukrainian).
- Zazharska, N., Boyko, O., & Brygadyrenko, V. (2018). Influence of diet on the productivity and characteristics of goat milk. *Indian Journal of Animal Research*, 52(5), 711–717.

CONTENTS

A. A. Zamaziy, M. D. Kambur, A. Y. Lermontov Mammary glandular secretion of cows depending on the duration of dry period.....	3
A. A. Geysun, L. M. Stepchenko The protein metabolism in pheasants when using vermiculture in combined feed biomass.....	7
M. D. Kucheruk, R. I. Bilik, M. V. Ignatovska Experimental application of probiotics for organic chicken growth.....	12
D. M. Masiuk, A. V. Kokariev, O. I. Sosnytsky, T. O. Vasilenko, Y. V. Hustova Features of humoral immunity formation under oral and parenteral immunoprophylaxis of porcine epidemic diarrhea.....	18
O. M. Chernenko, O. I. Chernenko Economic trait of cows with different duration of prenatal growth period.....	23
R. V. Biloshytskyy Methods of diagnosis and treatment of ascending syndrome in dogs.....	29
L. M. Diachenko, L. M. Stepchenko Erythrocyte system of rat blood during the application of fodder additives of humic nature for combined stress.....	34
Z. V. Malimon, M. D. Kukhtyn, Y. B. Perkiy Contamination of frozen fish with mesophilic and psychrotrophic microorganisms depending on biochemical quality indices.....	39
A. A. Zamaziy Hemocytopoiesis of functionally active newborn calves and calves in the state of hypoxia.....	44
N. M. Zazharska, S. O. Rosenko Study on the prevalence of subclinical mastitis in goat milk.....	50

ЗМІСТ

А. А. Замазій, М. Д. Камбур, А. Ю. Лермонтов Секретоутворююча функція молочної залози корів залежно від тривалості сухостійного періоду.....	3
А. А. Гейсун, Л. М. Степченко Білковий обмін у фазанів за використання в складі комбікормів біомаси вермикультури.....	7
М. Д. Кучерук, Р. І. Білик, М. В. Ігнатівська Експериментальне застосування пробіотичного препарату для органічного вирощування курей.....	12
Д. М. Масюк, А. В. Кокарев, О. І. Сосницький, Т. О. Василенко, Ю. В. Густова Особливості формування гуморального імунітету за пероральної та парентеральної імунопрофілактики епідемічної діареї свиней.....	18
О. М. Черненко, О. І. Черненко Господарсько-корисні ознаки корів з різною тривалістю пренатального періоду росту.....	23
Р. В. Білошицький Методи діагностики та лікування висхідного синдрому в собак.....	29
Л. М. Дяченко, Л. М. Степченко Еритроцитарна система крові щурів на тлі застосування кормових добавок гумінової природи за комбінованого стресу.....	34
З. В. Малімон, М. Д. Кухтин, Ю. Б. Перкій Контамінація мезофільними та психротрофними мікроорганізмами замороженої риби залежно від біохімічних показників якості.....	39
А. А. Замазій Гемцитопоез функціонально активних новонароджених та в стані гіпоксії телят.....	44
Н. М. Зажарська, С. О. Росенко Дослідження молока кіз на субклінічний мастит.....	50

Dnipro State Agrarian and Economic University

Наукове видання

THEORETICAL AND APPLIED VETERINARY MEDICINE

Volume 6
Issue 3

Signed for print 20.09.2018 year. Format 60×64/8
Accounting and publishing sheets 11,2.
Conditional printer's sheets 10,23.
Offset paper. Number of copies – 100 exemplars.

Publishing House “Svidler A.L.”
Certificate of registration in the state register of subjects of publishing
No. 3876 (series DK) from 10.09.2010
49000, Heroiv Av., 1b, Dnipro, tel/fax: (056)-776-39-16
E-mail: alsvidler@gmail.com