

УДК 636.2:618.19–002

ЧЕПУРНА В.А., аспірант

valentinachepurna70@gmail.com

*Подільський державний аграрно-технічний університет***СУПРОВИЧ Т.М.**, д.с.-г.н., професор

suprovycht@gmail.com

*Подільський державний аграрно-технічний університет***ВІЩУР О.І.**, д-р вет. наук, професор

vishchur_oleg@ukr.net

*Інститут біології тварин НААН***КОВАЛЕНКО В. Л.**, д-р вет. наук, ст. наук.сп., kovalenkodoktor@gmail.com*Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ*

ЛЕЙКОЦИТАРНИЙ ТА БІОХІМІЧНИЙ ПРОФІЛЬ КРОВІ КОРІВ, ХВОРИХ НА КЛІНІЧНИЙ МАСТИТ, ЗА ДІЇ ЛІПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ЕТИЛТІОСУЛЬФАНІЛАТУ

Показано, що захворювання корів на клінічну форму маститу супроводжується зменшенням кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну, вираженим лейкоцитозом. Вміст загального протеїну у сироватці крові хворих тварин був менший, ніж у контрольній групі. Зафіксовано яскраво виражену лімфопенію у тварин з клінічним маститом. За внутрішньом'язового введення хворим коровам нового комплексного ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату на 7-му добу після початку лікування констатовано зменшення загальної кількості лейкоцитів на 17% та підвищення вмісту загального білку у сироватці крові. Зниження кількості нейтрофільних гранулоцитів і підвищення кількості лімфоцитів свідчить про згасання запального процесу.

Ключові слова: *корова, мастит, лейкоцити, нейтрофіли, етилтіосульфанілат.*

Вступ. Хвороби молочної залози великої рогатої худоби представляють одну з найважливіших проблем тваринництва. За повідомленнями Європейської асоціації тваринників, мастити поширені у всіх країнах із розвиненим скотарством. Хвороби вим'я в більшості країн світу, у тому числі й у нашій, займають друге місце при вибракуванні корів, завдаючи значні економічні збитки. Світова молочна промисловість втрачає через наявність маститів щорічно до 35 млрд. доларів. За даними вітчизняних авторів, захворювання корів на мастит охоплює від 10 до 70 % стада, а 8–16 % корів хворіють 2 рази і більше впродовж лактації [3].

Основними засобами для лікування хворих на мастит тварин залишаються препарати на основі антибіотиків. У нашій країні застосовують в основному антибіотики, розроблені у попередні роки, ефективність яких недостатньо висока. За кордоном основним напрямком у боротьбі з маститом є використання препаратів на основі високоефективних антибіотиків нових поколінь (наприклад, цефалоспоринів), до яких у збудників маститу ще не виробилася стійкість. Проте широке застосування таких препаратів має негативні наслідки - наявність їхніх залишків у збірному молоці, що погіршує його технологічні властивості й шкодить здоров'ю людей [1-4].

Тому за останні роки значно розширились наукові дослідження по використанню ліпосомальних препаратів, які у своєму складі не містять антибіотиків, сприяють профілактиці рецидиву захворювання, та максимальному відновленню молочної продуктивності [5].

Ліпосоми є широко розповсюдженою моделлю біологічних мембран. Вони являють собою замкнені сферичні пухирці, утворені з амфіфільних речовин, таких як фосфоліпіди (дифільність або амфіфільність, тобто здатність одних частин макромолекули віддавати перевагу, наприклад, полярному оточенню, а інших – неполярному). При взаємодії з водними розчинами ці речовини самоорганізуються у двошарові мембрани.

Ліпосоми отримують з природних ліпідів, і тому вони нетоксичні, не викликають небажаних імунних реакцій, підлягають біологічній деградації, тобто руйнуються під дією звичайних ферментів, які присутні в організмі і тому їх можна вважати ідеальними переносниками лікарських препаратів [6].

Незважаючи на наявність у літературі значної кількості наукових праць, присвячених вивченню етіології, патогенезу, профілактиці та лікуванню різних форм маститів у корів, залишається ще маловивченим питання біохімічних особливостей імунобіологічної реактивності корів, хворих на мастит, за умов застосування нових комплексних ліпосомальних препаратів, які володіють бактерицидними та імуномодулюючими властивостями.

Метою роботи було дослідити зміну лейкоцитарних та біохімічних показників крові у корів із клінічним запальним процесом молочної залози за умов використання ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату (ЕТС), розробленого Інститутом біології тварин НААН.

Матеріали і методика досліджень. Дослід було проведено у ПОСП «ім. Шевченка» Горохівського району Волинської області на двох групах корів (2–3 лактації), які за принципом аналогів було розділено на контрольну та дослідну групи по 7 тварин у кожній. Контрольна група – здорові тварини, дослідна група – корови з клінічною (катаральна) формою маститу. Тваринам дослідної групи внутрішньом'язово тричі з інтервалом 24 години вводили новий комплексний ліпосомальний препарат на основі етилтіосульфанілату (ЕТС) дозою 20 мл на тварину.

Корови були переведені на 2-3 разове ручне доїння, з одночасним легким масажем зверху вниз.

Матеріалом для проведення лабораторних досліджень слугувала кров корів на 1-, 3-, та 7-ту добу після початку експерименту.

У цільній крові визначали: кількість еритроцитів і лейкоцитів у сітці камери Горяєва, вміст гемоглобіну геміглобінціанідним методом, співвідношення окремих форм лейкоцитів; загальний білок за біуретовою реакцією згідно методик, описаних у довіднику [7].

Результати досліджень. Процес запалення складається з низки біохімічних та морфологічних реакцій. У вогнищі пошкодження формується специфічна кооперація клітин. Катаральне запалення вим'я у корів супроводжувалося певними змінами в гематологічних показниках периферичної крові (табл. 1). Зокрема, зафіксовано тенденцію до зменшення кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну. Кількість лейкоцитів у хворих корів була більшою на 55,6 % ($p < 0,01$), ніж у тварин контрольної групи, що свідчить про виражений лейкоцитоз, який є яскравим показником розвитку запального процесу в організмі тварин. При визначенні вмісту загального протеїну у сироватці крові корів, хворих на катаральний мастит, констатовано його зниження на 5,91 % ($p < 0,05$), порівняно до тварин контрольної групи, що теж є ознакою запалення.

Таблиця 1

Гематологічні та біохімічні показники крові корів (M±m; n=7)

Показники	Групи тварин	Період дослідження		
		до введення препарату	3-тя доба після початку лікування	7-ма доба після початку лікування
Гемоглобін, г/л	К	99,5±2,06	100,9±1,22	100,8±1,55
	Д	96,2±1,83	97,3±2,37	104,3±1,40
Еритроцити, Т/л	К	6,65±0,14	6,55±0,16	6,67±0,11
	Д	6,12±0,17	6,35±0,10	6,32±0,16
Лейкоцити, Г/л	К	7,2±0,51	7,5±0,65	6,9±0,64
	Д	11,2±0,68**	10,5±0,91*	9,3±0,80
Загальний білок, г/л	К	70,18±1,10	70,21±0,41	70,28±1,22
	Д	66,03±0,82*	69,20±0,86	75,12±0,71***

Примітка. У цій таблиці та наступній: ° – $p < 0,05$, °° – $p < 0,01$, °°° – $p < 0,001$ — вірогідність у тварин даної групи порівняно до введення препарату (1-ої доби експерименту); * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ — різниця вірогідна порівняно до контрольної групи.

За внутрішньом'язового введення коровам дослідної групи нового комплексного ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату на 7-му добу після початку лікування констатовано зменшення загальної кількості лейкоцитів на 17 % та підвищення вмісту загального білку у сироватці крові на 13,8 % ($p < 0,001$), порівняно із рівнем, зафіксованим на 1-шу добу експерименту. При цьому на 7-му добу після початку лікування вміст загального протеїну був на 6,9 % ($p < 0,05$) більший, порівняно із його вмістом у сироватці крові тварин контрольної групи. Дані зміни свідчать про нормалізуючий вплив досліджуваного ліпосомального препарату.

З даних, наведених у табл. 2 бачимо, що у крові корів, хворих на катаральну форму маститу, порівняно до клінічно здорових, кількість сегментоядерних нейтрофілів збільшилася у 1,25 рази, а паличкоядерних гранулоцитів у 1,68 рази. Ці дані вказують на нейтрофільний лейкоцитоз у крові хворих корів, що свідчить про гострий перебіг захворювання. При цьому зафіксовано яскраво виражену лімфопенію у тварин з клінічними проявами маститу, що вказує на зниження резистентності організму. Так, кількість лімфоцитів у хворих тварин була вірогідно менша на початку експерименту ($p < 0,001$) та на 3-тю добу ($p < 0,05$) порівняно до клінічно здорових тварин.

Таблиця 2

Лейкоцитарний профіль крові корів (M±m; n=7)

Показники	Групи тварин	Період дослідження		
		до введення препарату	3-тя доба після початку лікування	7-ма доба після початку лікування
Базофіли, %	К	0,6±0,24	0,8±0,49	0,6±0,24
	Д	0,8±0,37	0,6±0,40	0,8±0,49
Еозинофіли, %	К	4,0±0,71	4,2±0,86	4,4±1,03
	Д	5,8±1,16	5,6±1,21	4,8±0,58
Паличкоядерні нейтрофіли, %	К	3,8±0,58	3,0±0,84	3,6±0,51
	Д	6,4±1,33*	3,4±0,51	3,8±0,86
Сегментоядерні нейтрофіли, %	К	27,0±1,64	28,4±2,20	26,6±1,86
	Д	33,8±3,12	31,4±2,06	29,8±2,18
Лімфоцити, %	К	61,2±1,24	59,8±1,16	60,6±1,12
	Д	48,4±1,47***	54,8±1,50**	57,0±1,14°°°
Моноцити, %	К	3,4±0,75	3,8±0,66	4,2±0,58
	Д	4,0±0,89	4,0±0,84	3,8±0,66

Триразове внутрішньом'язове введення ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанилату спричиняло зниження кількості нейтрофільних гранулоцитів і підвищення кількості лімфоцитів на 3-тю ($p < 0,05$) та 7-му добу ($p < 0,001$) експерименту, порівняно з цим показником перед початком лікування. Отримані результати вказують на згасання запального процесу у хворих корів.

Висновок. Результати експериментальних досліджень свідчать про те, що клінічний мастит супроводжується значними змінами гематологічних показників. Зокрема, зафіксовано зменшення кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну і загального білку, нейтрофільний лейкоцитоз і лімфопенію у клінічно хворих тварин.

Застосування ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанилату при лікуванні корів, хворих на клінічний катаральний мастит, забезпечило їх видужання та сприяло підвищенню загального білку і гемоглобіну порівняно із контрольною групою.

У перспективі планується провести комплексне функціональне дослідження імунокомпетентних клітин крові корів, хворих на клінічний катаральний мастит, за умов застосування комплексного ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанилату (ЕТС).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Любецький В.Й. Розповсюдження маститу серед високопродуктивних корів / В.Й. Любецький, О.А. Вальчук // Наук. вісн. НАУ. - Київ, 2005. - №89. - С.294-297.
2. Яблонський В.А. Патологія молочної залози / В.А. Яблонський, В.Й. Любецький, В.І. Бородиня. // Київ, 2004. - 45 с.
3. Мартынов П. Мастит и качество молока / П. Мартынов, А. Симонов // Молочное и мясное скотоводство. - 2001. - №7. - С.43-44.
4. Басс Т.М. Лекарственная устойчивость стафилококков к некоторым химиотерапевтическим препаратам / Т.М. Басс // Антибиотики. 1977. - №6. - С.522-524.
5. Барсуков Л. И. Липосомы / Л.И. Барсуков // Сорос. образов. журн. - 1998. - №10. - С.12-19.
6. Кобринский Г. Липосомы в медицине / Г. Кобринский // Наука и жизнь. - 1988. - № 6. - С. 23-30.
7. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / під ред. В.В. Влізла. - Л.: СПОЛОМ, 2012. - 764 с.

ЛЕЙКОЦИТАРНЫЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КРОВИ КОРОВ, БОЛЬНЫХ НА КЛИНИЧЕСКИЙ МАСТИТ, ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ЭТИЛТИОСУЛЬФАНИЛАТА / ЧЕПУРНА В.А., СУПРОВИЧ Т.М., ВИЩУР О.И., КОВАЛЕНКО В.Л.

Показано, что заболевания коров клинической формой мастита сопровождается уменьшением количества эритроцитов и содержания гемоглобина, выраженным лейкоцитозом. Содержание общего белка в сыворотке крови больных животных было меньше, чем в контрольной группе. Зафиксировано ярко выраженную лимфопению у животных с клиническим маститом. При введении больным коровам нового комплексного липосомального препарата на основе этилтиосульфанилата на 7-е сутки после начала лечения констатируется уменьшение общего количества лейкоцитов на 17% и повышение содержания общего белка в сыворотке крови. Снижение количества нейтрофилов и повышение количества лимфоцитов свидетельствует об угасании воспалительного процесса.

Ключевые слова: корова, мастит, лейкоциты, нейтрофилы, этилтиосульфанилат.

LEUKOCYTIC AND BIOCHEMICAL PROFILE OF BLOOD COURSES, PATIENTS WITH CLINICAL MASTITIS, FOR THE EFFECT OF LIPOSOMAL DRUGS ON THE BASIS OF ETHYLTHIOSULPHANYLATE / Chepurna V. A., Suprovych T. M., Vishchur O.I., Kovalenko V.L.

Introduction. Mastitis cows represent one of the most important problems of livestock breeding. Scientific researches on the use of liposomal drugs, which do not contain antibiotics, contribute to the prevention of relapse of the disease, and to the maximum restoration of milk production, have considerably expanded in the last few years.

The aim of work was to investigate the change of leukocyte biochemical indexes of blood for cows with the clinical inflammatory process of mammary gland at the use of the liposomal preparation on the basis of preparation based on ethylthiosulfanilate (ETC) developed by the Institute of Animal Biology of the National Academy of Sciences of the Russian Academy of Sciences.

Materials and methodology of researches. Experience was conducted on two groups of cows. A control group is healthy animals (n=7), experience group of cow with the clinical (catarrhal) form of mastitis (n=7). To the cows of the experimental group received intramuscular injection of a new complex liposomal preparation based on ethylthiosulfanilate (ETS) at a dose of 20 ml per animal for a period of 24 hours at intervals of 24 hours.

The whole blood was determined: the number of red blood cells and white blood cells, hemoglobin content, the ratio of individual forms of leukocytes; total protein by biuretovoy reaction.

Results of researches. An amount of leucocytes sick cows had anymore on 55,6 p<0,01), than for healthy animals, that testifies to the expressed leukocytosis. The decline of content of general protein is marked in the serum of blood of sick cows on 5,91 p<0,05). On the 7th day after the beginning of treatment of cows liposomal preparation on the basis of ethyl thiosulfanilate, is establish reduction of general amount of leucocytes on 17 and increase of content of general albumen in the serum of blood on 13,8p<0,001), by comparison to a level fixed on the first time of experiment. At the same time, the total protein content was 6.9% (p <0.05) higher, compared with its serum content in the control animals. These changes indicate the normalizing effect of this drug.

Conclusion. The use of a liposomal preparation based on ethylthiosulfanilate in the treatment at cows suffering by clinical catarrhal mastitis, provided their recovery and contributed to the increase of total protein and hemoglobin.

Keywords: cow, mastitis, leukocytes, neutrophils, ethylthiosulfanilate.

REFERENCES

1. Ljubecjkyj, V.J. & Valjchuk, O.A. (2005). Rozpovsjudzhennja mastytu sered vysokoproduktyvnykh koriv [Distribution of mastitis among high-yielding cows]. *Nauk. visn. NAU*, 89, 294-297 [in Ukraine].
2. Jablonsjkyj, V.A., Ljubecjkyj, V.J. & Borodynja V.I. (2004). *Patologhija molochnoji zalozy [Pathology of the mammary gland]*. Kyjiv. [in Ukraine].
3. Martynov, P. & Simonov A. (2001). Mastit i kachestvo moloka [Mastitis and quality of milk]. *Molochnoe i miasnoe skotovodstvo*, 7, 43-44 [in Russian].
4. Bass, T.M., (1998) Lekarstvennaia ustoichivost stafilokokkov k nekotorym khimioterapevticheskim preparatam [Drug resistance of staphylococci to certain chemotherapeutic agents]. *Antibiotiki*, 6, 522-524 [in Russian].
5. Barsukov, L. I., (1998) Liposomy [Liposomes]. *Soros obrazov zhurn*, 10, 12-19 [in Russian].
6. Kobrinskii, G., (1988) Liposomy v meditsine [Liposomes in medicine]. *Nauka i zhizn*, 6, 23-30 [in Russian].
7. Vlizla, V.V. (Eds.). (2012). *Laboratorni metody doslidzhenj u biologhiji, tvarynnyctvi ta veterynarnij medycyni: dovidnyk [Laboratory methods of research in biology, livestock and veterinary medicine: a guide]*. L.: SPOLOM [in Ukraine].