

EXPERIENCE OF IMPLEMENTATION OF THE NATIONAL TECHNOLOGY OF ASEPTIC SAMPLING, CRYOPRESERVATION AND USE OF BULL SPERM IN AC «VOSTOK» IN IZYUM DISTRICT OF KHARKIV REGION

Pavlenko M.P., Stegnyy B.T., Pavlenko L.N.

National scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary medicine", Kharkiv

Pavlenko B.M.

Institute of animal husbandry NAAS, Kharkiv

Rovchak A.Ya., Shyrokoryad V.F.

AC «Vostok», Izyum district, Kharkiv region

The paper presents data on the establishment of an intraeconomic mini-station for artificial insemination on the basis of pedigree reproducer and implementation on it the technology of aseptic sampling, evaluation, dilution, freezing, storage and use of bull sperm. This technology provided reserve of frozen semen of breeding bulls that meets veterinary and sanitary requirements, contributing to the health of breeding stock and the acceleration of the selection process.

УДК 619:616.993.192.66:636.7

ДИНАМІКА ВМІСТУ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ СИРОВАТКИ КРОВІ СОБАК ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАБЕЗІОЗУ

Прус М.П., Краснянчук І.В.

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

Бабезіоз – облігатно трансмісивна хвороба, оскільки передача збудників відбувається тільки через специфічних переносників – іксодових кліщів. Крім собак на бабезіоз хворіють велика та дрібна рогата худоба, коні, свині. Зареєстровані випадки бабезіозу і у людей.

У наших попередніх публікаціях [1-2, 7] ми висвітлювали питання патогенезу за бабезіозу собак як за спонтанного, так і експериментального його перебігу.

Метою наших досліджень було вивчити динаміку вмісту білкових фракцій сироватки крові собак за підгострого перебігу бабезіозу, що дасть змогу більш поглиблено розуміти патогенний вплив збудників на організм тварин.

Нормальний рівень загального білка у сироватці крові людини і тварин головним чином залежить від балансу між синтезом і розщепленням двох основних білкових фракцій – альбуміну та імуноглобулінів [4]. Білки сироватки крові виконують транспортні, імунні, антиоксидантні функції, вони є ензимами та їх регуляторами [3-6].

Матеріали і методи дослідження. Наші дослідження було проведено на базі віварію факультету ветеринарної медицини. Об'єктом дослідження були 10 безпородних цуценят 3-4-місячного віку, яких розділили на дослідну (6 тварин) та контрольну (4 тварини) групи. Їх тримали на карантині протягом двох тижнів, була проведена обробка проти ендо- та ектопаразитів. Тварин утримували в вольєрах, годували м'ясо-кістковими відходами, кашами, хлібом, молочними продуктами, сухим кормом.

Тваринам дослідної групи підшкірно було введено по 0,3 мл стабілізованої гепарином крові, взятої від хворої на бабезіоз собаки при спонтанному зараженні польовим штамом *Babesia canis* з паразитемією 3 %.

Визначення білкових фракцій сироватки крові проводили за методикою електрофоретичного розділення білкових фракцій на плівках з ацетату целюлози (уніфікований метод).

Результати досліджень. Нами проаналізовано динаміку вмісту білкових фракцій сироватки крові у тварин протягом 218 діб. На початку дослідження показники вмісту білкових фракцій сироваток крові цуценят дослідної та контрольної груп не відрізнялись та були в межах норми.

Нами відмічено перерозподіл вмісту білкових фракцій у бік зниження рівня альбумінів та підвищення рівня глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи (табл. 1). На 15-ту добу дослідження рівень альбумінів у сироватці крові тварин дослідної групи знизився, а рівень глобулінів, відповідно, зріс на 25 % порівняно з аналогічними показниками у тварин контрольної групи.

Стосовно коефіцієнту K (показник співвідношення фракцій альбумін/глобулін), то у дослідних тварин він був на 41 % нижчий ніж у тварин контрольної групи. Також в цей період було відмічено зростання на 29 % рівня білків гострої фази (α_1 та α_2) порівняно з контролем, а порівняно з первинними показниками – на 42,3 %. Ці дані, а також зростання рівня фракції γ -глобулінів більше ніж на 40 % (порівняно з контролем) свідчать про розвиток гострого запального процесу в організмі тварин дослідної групи.

Рівень β -глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи на даному етапі залишався сталим і лише незначно знизився порівняно із первинним показником тварин цієї групи.

На 29-ту добу дослідження нами було відмічено незначне підвищення рівня альбумінів і зниження рівня глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи. У цей період виявлено зниження більше ніж у 2 рази показника α_1 -глобулінової фракції у сироватці крові тварин дослідної групи порівняно з попереднім показником і цей показник був на 62 % нижчим порівняно з даними контрольної групи. Вміст γ -глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи був вищим в 1,3 рази відносно групи контролю. Вміст α_2 -глобулінів на 29-ту добу знизився і не відрізнявся від аналогічного показника контрольної групи.

Було відмічено підвищення майже на 50 % рівня пізніх білків гострої фази (β -глобулінів) порівняно з контролем. На нашу думку, це пов'язано з підвищенням рівня трансферину в зв'язку зі значним зниженням рівня гемоглобіну та одночасним збільшенням кількості еритроцитів [7].

На 50-ту добу рівень глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи був вищий в 1,2 рази порівняно з контрольною групою переважно за рахунок вираженого збільшення в 1,5 рази рівня α_1 -глобулінів. Втім, рівень показників α_2 та β -глобулінів залишився сталим, порівняно з попередніми показниками. Вміст же фракції γ -глобулінів, порівняно з попередніми показниками, дещо знизився та становив на даний момент 120 % від показників контрольної групи.

Таблиця 1 – Динаміка вмісту білкових фракцій сироватки крові собак за експериментального бабезіозу

Доба досліді	Альбуміни		Глобуліни		Фракції глобулінів			
	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.	α_1		α_2	
					Дослід	Контр.	Дослід	Контр.
1	52,2±1	54,8±1,42	47,8±1	45,2±1,42	7,94±0,5	8,87±0,38	10±0,48	10,2±0,92
8	48,3±1,5	55,06±1,42	51,7±1,5	44,94±1,42	8,98±0,5	8,09±0,75	10,5±0,5	8,73±0,53
15	40,5±1,4	54,17±0,65	59,5±1,4	45,83±0,65	11,3±0,6	8,79±0,19	13±0,55	9,88±0,33
29	44,4±1,3	53,09±0,34	55,6±1,3	46,91±0,34	5,34±0,25	8,66±0,29	9,31±0,5	9,4±0,39
50	42,4±0,4	53,9±0,52	57,6±0,4	46,1±0,52	12,4±0,5	7,92±0,41	9,34±0,3	9,99±0,35
71	41,5±1,1	53,7±1,35	58,5±1,1	46,3±1,35	9,8±0,79	8,6±0,22	13±0,65	9,77±0,16
98	42,2±1,2	54,8±0,8	57,8±1,2	45,2±0,8	10,2±0,8	8,29±0,38	11,3±0,5	8,56±0,85
134	44,9±1,6	55,3±0,3	55,2±1,6	44,7±0,3	8,5±0,3	8,54±0,23	10,9±0,6	9,26±0,3
155	50,9±1,5	53,9±1,19	49,1±1,5	46,1±1,9	7,65±0,4	9,11±0,45	10,3±0,5	9,58±0,7
204	45,5±1,6	55,53±0,94	54,5±1,6	44,48±0,94	9,8±1,14	8,82±0,31	11,7±0,3	9,29±0,2
211	42±0,6	54,07±0,6	58±0,6	45,69±0,6	8,12±0,4	8,9±0,08	12,9±0,7	8,8±0,34
218	42,8±1,3	54,18±,85	57,2±1,3	45,84±0,86	8,25±0,6	9,14±0,08	11,9±0,5	9,56±0,36

Продовження таблиці 1

Доба досліді	Фракції глобулінів				Коефіцієнт k	
	β		γ		Дослід	Контр.
	Дослід.	Контр.	Дослід	Контр.		
1	12±0,6	9,29±0,6	17,8±0,9	17,08±0,26	1,1±0,05	1,21±0,07
8	11,4±0,7	10,55±0,6	20,8±0,3	17,56±0,32	0,94±0,05	1,23±0,07
15	11±0,48	10,32±0,88	24,2±0,4	16,84±0,21	0,7±0,04	1,18±0,03
29	15,5±0,6	10,99±0,08	23,4±0,5	17,83±0,45	0,8±0,05	1,13±0,01
50	15±0,4	10,78±0,34	20,8±0,8	17,39±0,31	0,7±0,02	1,17±0,02
71	17,5±0,95	10,74±0,36	18,2±1,2	17,2±0,96	0,7±0,03	1,17±0,07
98	18,2±1,4	9,6±0,5	18,2±0,9	18,8±0,88	0,73±0,04	1,2±0,04
134	18±0,98	10,17±0,4	17,7±0,5	16,75±0,47	0,8±0,05	1,23±0,02
155	14,7±1,5	10,49±0,49	16,5±0,4	16,9±0,92	1 ±0,06	1,18±0,09
204	18,8±1,76	10,27±0,21	14,1±0,4	17,6±0,53	0,9±0,05	1,18±0,04
211	17,8±1,1	10,28±0,7	19,3±0,7	17,7±0,5	0,7±0,02	1,19±0,03
218	16,2±1,04	10,21±0,51	21±0,55	16,94±0,28	0,75±0,04	1,09±0,12

На 71-шу добу досліді рівень глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи залишався вищим в 1,2 рази порівняно з контрольними тваринами, що відбулось за рахунок підвищення в 1,3 рази вмісту α_2 -глобулінів та в 1,6 рази вмісту β -глобулінів. Вміст фракції γ -глобулінів зрівнявся з показниками тварин контрольної групи. Коефіцієнт k на той момент знизився до 60 % від контрольного показника.

З 98-ї по 134-ту добу досліді вміст фракції β -глобулінів був максимальним і майже вдвічі (на 90 %) перевищував контрольні показники, знизившись на 155-ту добу до рівня 140 % від контрольної групи.

На 155-ту добу решта показників білкових фракцій тварин дослідної групи майже зрівнялась з показниками групи контролю.

На 197-му добу від початку досліді, з метою моделювання повторного зараження збудником бабезіозу внаслідок нападання іксодових кліщів, всім тваринам дослідної групи було введено підшкірно кров від собаки, спонтанно ураженого польовим штамом *B. canis*, у дозі 1 мл.

На 204-ту добу досліді нами було відмічено збільшення вмісту білків гострої фази у сироватці крові тварин дослідної групи (α_1 – в 1,1 рази, α_2 – в 1,2 рази та β -глобулінів – в 1,8 рази) і зниження вмісту γ -глобулінів в 1,2 рази від аналогічних показників групи контролю. Коефіцієнт k у дослідній групі був на 24 % нижчий за контрольні показники.

У послідовні два тижні досліді в сироватці крові собак дослідної групи було встановлено зниження вмісту альбумінів в 1,3 рази і, відповідно, збільшення вмісту глобулінів переважно за рахунок фракцій α_2 -, β - і γ -глобулінів.

Висновки. 1. Дослідження білкового обміну у собак за експериментального бабезіозу свідчить, що через 2 тижні з моменту зараження виявлений в їх сироватці крові найнижчий рівень альбумінів і, відповідно, самий високий вміст глобулінів.

2. Протягом двох тижнів з моменту первинного зараження зростає вміст білків гострої фази (α_1 -, α_2 -глобулінів) та γ -глобулінів до максимального рівня, що є свідченням гострого перебігу хвороби та імунологічною відповіддю на дію антигену. При повторному зараженні протягом першого тижня набувають високого вмісту фракції α_1 - та β -глобулінів, що свідчить про загострення хронічного запального процесу.

3. Тривале зберігання високого рівня фракції β -глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи з 29-ї по 134-ту добу досліді та часткове зниження їх вмісту лише до 155 доби свідчить про хронічний запальний процес, що перебігає з гемолітичною анемією.

Перспективи подальших досліджень. Необхідне подальше поглиблене вивчення патогенезу та імуногенезу бабезіозу собак з метою розробки ефективних засобів специфічної профілактики хвороби.

Список літератури

1. Прус, М.П. Динаміка гематологічних та біохімічних змін крові собак при експериментальному бабезіозі // Наук. вісник НАУ. – К., 2001. – Вип. 38. – С. 117-120.
2. Прус, М.П. Клінічний прояв та деякі питання патогенезу бабезіозу собак // Наук. вісник НАУ. – К., 2001. – Вип. 42. – С. 193-198.
3. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. Под ред. проф. А.И.Карпищенко. – СПб: Интермедика, 2002.- 600 стр. с ил. (т.2).
4. Клінічна біохімія. Довідник. Під ред. С. Ангельські, М.Г.Домінічак, З. Якубовські – Сопот: «Персей», 1998. – 452 ст.
5. Холод, В.М. Электрофоретическое и иммунохимическое изучение белков сыворотки крови КРС в норме и патологии. – Автореферат на соиск.уч.ст. д.б.н. – Оренбург: 1973. – 35 стр.
6. Фаткулина, Т.А. Патогенез и иммунитет при анаплазмозе и бабезиозе овец. - Автореферат на соиск.уч.ст. канд.б.н. –Самарканд-Тайляк: 1983. – 17 стр.
7. Краснянчук, І.В. Динаміка клініко-гематологічних показників та паразитемії при експериментальному бабезіозі собак//Наук. вісник НАУ.- 2003.- 64. – С. 190-193.

DYNAMIC OF CONTENT OF DOG BLOOD SERUM PROTEINS AT EXPERIMENTAL BABESIOSIS

Prus M.P, Krasnyanchuck I.V.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

The article contains data on dynamics of blood serum proteins in experimental babesiosis in puppies.

УДК 619:616.993.192.6-07:636.1

**ДІАГНОСТИКА АНАПЛАЗМОЗУ КОНЕЙ ТА ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОРУШЕНЬ ЇХ ОРГАНІЗМУ
ЗА ІНВАЗІЇ КРОВОПАРАЗИТАМИ**

Прус М.П.

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

Перегіняк Н.С.

Полтавська дослідна станція ІВМ НААН, м. Полтава

Джус П.П.

Інституту розведення і генетики тварин НАНУ, с. Чубинське

Анаплазмоз – гостре трансмісивне захворювання, яке викликається прокаріотами із роду *Anaplasma*. Паразити уражають еритроцити та нейтрофіли, що призводить до їх руйнування. Хвороба проявляється лихоманкою, анемією, жовтяницею, розладом функції органів травлення, ураженням серцево-судинної та центральної нервової систем [1]. Крім того, інвазія організму збудниками кровопаразитарних хвороб супроводжується структурними та кількісними змінами геному його соматичних та генеративних клітин. Порухення генетичного гомеостазу останніх може призводити до безпліддя та абортів, що, в свою чергу, наносить значні економічні збитки конярству України [2, 4, 8].

На сьогоднішній день в Україні відсутня інформація щодо анаплазмозу коней. У виробничих умовах захворювання, як окрему систематичну одиницю, не реєструють, оскільки клінічні ознаки перебігу анаплазмозу і бабезіозу дуже схожі, то зазвичай основним є патогенетичне лікування як при бабезіозі, не враховуючи того, що на збудники діють препарати різних груп. Тому, оцінка методів діагностики анаплазмозу коней і рекомендації щодо їх ефективності є досить актуальними.

Метою нашої роботи було вивчити поширення та клінічні ознаки анаплазмозу коней в Україні; порівняти методи діагностики при анаплазмозі коней та вивчити цитогенетичні зміни клітин їх крові за умов цієї інвазії.

Матеріали і методи досліджень. При проведенні досліджень використовували світлову і електронну мікроскопію, серологічні та цитогенетичні методи діагностики.

Мазки крові фарбували за методом Романовського-Гімза і досліджували під світловим мікроскопом (32 проби від хворих коней), а також п'ять зразків аналізували за допомогою трансмісійного електронного мікроскопу JEM-1400 (Jeol, Японія) за напруги 80 кВ. Підготовку проб для електронної мікроскопії та ідентифікацію збудників проводили в лабораторії електронної мікроскопії інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Методом ІФА було досліджено сім проб крові від хворих та перехворілих коней з метою виявлення антитіл до *Anaplasma phagocytophilum* (перша група). Три проби крові від здорових коней слугували у якості контрольної групи. Титр антитіл в плазмі крові визначали напівкількісним методом. Матеріал досліджували в центрі діагностики тварин ТОВ «Бальд», м. Київ.

Цитогенетичні препарати готували із цільної, стерильно відібраної крові кобил новоолександрівської ваговозної породи за стандартною методикою [7]. При аналізі цитогенетичних препаратів враховували кількість лімфоцитів з мікроядрами (ЛМЯ), двоядерних (ДЯ), апоптозних клітин (АП) і мітотичний індекс (МІ). Від кожної тварини аналізували не менше 3000 клітин.

При дослідженні метафазних пластинок встановлювали відсоток хроматидних розривів (ХР) та хромосомних фрагментів (ХФ), а також відсоток анеуплоїдних (А.) і поліплоїдних (ПП) клітин, асинхронність розщеплення центромерних районів хромосом (АРЦРХ). У кожній тварині аналізували не менше 30 метафазних пластинок.

Результати досліджень. Кров у коней для досліджень відбирали у Київській, Волинській, Полтавській і Луганській областях. За результатами світлової мікроскопії та ІФА анаплазмоз коней поширений у всіх вище названих областях.

За гострого перебігу хвороби у коней спостерігали порушення координації руху, в'ялість. Температура тіла підвищувалася до 41-42 °С.

При дослідженні крові хворих коней виявляли еритропенію, лейкопенію, моноцитоз, підвищення активності АсАТ, вмісту загального білку та білірубину.

Для клінічно хворих коней характерною була жовтяниця слизових оболонок. Інколи відмічали жовтушність шкіри.

У пофарбованих за методом Романовського-Гімза мазках крові від хворих коней, анаплазми виявляли у вигляді рожево-фіолетових крапкоподібних включень округлої або овальної форми. Положення в еритроциті – периферійне. В одному еритроциті виявляли від однієї до чотирьох анаплазм.