

Свідоцтво про державну реєстрацію: № KB 21158-10958ПР від 23.01.2015.

Проблематика: фізіологія і біохімія, ветеринарна медицина, живлення та годівля, розведення і селекція тварин, морфологія, клітинна та молекулярна біологія, імунологія, генетика, екологія і токсикологія, цитологія, мікробіологія та біотехнологія; огляди актуальних проблем біології; методичні роботи, в яких описано нові або вдосконалені методи досліджень; статті з історії біологічної, ветеринарної та сільськогосподарської наук, що висвітлюють еволюцію ідей, виникнення і розвиток наукових шкіл або присвячені творчим портретам учених; дискусійні статті рецензій на нові книги та на журнальні публікації; наукова хроніка.

Засновник: Інститут біології тварин НААН.

Рік заснування: 1998. **Періодичність:** 4 рази на рік.

Мова видання: українська, англійська.

Науковий журнал «Біологія тварин» індексується у *The Index Copernicus International, Google Scholar, Cross Ref, WorldCat.*

Головний редактор: Салига Ю. Т., д. біол. н.

Науковий редактор: Вудмаска І. В., д. с.-г. н.

Відповідальний секретар: Грабовська О. С., к. біол. н.

Комп'ютерна верстка: Судин К. Ю.

Certificate of print media State registration: No. KB 21158-10958ПР of 23.01.2015.

Aims and Scope: physiology and biochemistry, veterinary medicine, nutrition and feeding animals, breeding and selection, morphology, cellular and molecular biology, immunology, genetics, ecology and toxicology, cytology, microbiology, biotechnology; reviews on actual problems of biology; methodical works describing new or improved research methods; articles about the history of biological, agricultural and veterinary sciences highlighting the evolution of ideas, the conception and development of scientific schools or dedicated to creative portraits of scientists; discussion reviews of the new books and the journal publications; scientific chronicle.

Founder: Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine.

Published since: 1998. **Periodicity:** 4 times per year.

Language: Ukrainian, English.

The scientific journal "The Animal Biology" is included in: *The Index Copernicus International, Google Scholar, CrossRef, WorldCat.*

Editor-in-chief: Yuriy Salyha, Dr. Sc.

Scientific Editor: Ihor Vudmaska, Dr. Sc.

Editorial secretary: Olexandra Grabovska, PhD.

Page layout: Kateryna Sudyn.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Салига Юрій Тарасович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — Голова колегії, головний редактор

Вудмаска Ігор Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — заступник головного редактора

Антоняк Галина Леонідівна, Львівський національний університет ім. І. Франка (Україна)

Бартлевський Павел, Ветеринарний коледж Онтаріо, Гуелфський університет (Канада)

Білий Ростислав Олександрович, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького (Україна)

Войтюк Олександр, Уппсальський університет (Швеція)

Вішур Олег Іванович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Гавриляк Вікторія Василівна, Національний університет «Львівська політехніка» (Україна)

Гжегоцький Мечислав Романович, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Гладій Михайло Васильович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Гунчак Алла Володимирівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Доліба Микола, Пенсильванський університет (США)

Жукорський Остап Мирославович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Заячківська Оксана Станіславівна, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького (Україна)

Іскра Руслана Ярославівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Калачнюк Лілія Григорівна, Національний університет біоресурсів і природокористування України (Україна)

Кльоцек Чеслав, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальські Зигмунд, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальчук Ірина Іванівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Корпан Ярослав Ізидорович, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України (Україна)

Коцюмбас Ігор Ярославович, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок (Україна)

Кришталь Олег Олександрович, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Кулік Джордж, Медичний центр Університету Вейк Форест (США)

Лесик Ярослав Васильович, Дрогобицький державний педагогічний університет ім. Івана Франка (Україна)

Луговий Богдан, Університет Маунт Сент Вінсент (Канада)

Лушак Володимир Іванович, Прикарпатський національний університет ім. Василя Стефаника (Україна)

Мароунек Мілан, Інститут тваринництва (Чехія)

Медина Ігор, Середземноморський інститут нейробіології (Франція)

Мудрон Павел, Університет ветеринарної медицини та фармації в Кошице (Словаччина)

Муравські Мацей, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Остапів Дмитро Дмитрович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Півнева Тетяна Андріївна, Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Снітинський Володимир Васильович, Львівський національний аграрний університет (Україна)

Стапай Петро Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Стибель Володимир Володимирович, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького (Україна)

Стойка Ростислав Степанович, Інститут біології клітини НАН України (Україна)

Тизьо Роман, Середземноморський інститут нейробіології (Франція)

Федорович Єлизавета Іллівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Федорук Ростислав Степанович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Шаран Микола Михайлович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Адреса редакції: Інститут біології тварин НААН,

вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна.

Тел./ Факс: +380-32-260-07-95, +38 (032) 270-23-89.

Електронна скринька: editor_j@inenbiol.com.ua.

Веб-сторінка: <http://aminbiol.com.ua>

Editorial Office: Institute of Animal Biology NAAS,

38 Stus str., Lviv, 79034, Ukraine.

Тел. / Факс: +38 (032) 260-07-95, +38 (032) 270-23-89.

E-mail: editor_j@inenbiol.com.ua.

Website: <http://aminbiol.com.ua>



ІНСТИТУТ
БІОЛОГІЇ
ТВАРИН
НААН

ISSN 1681-0015 (print)

ISSN 2313-2191 (online)

DOI: 10.15407/animbiol

БІОЛОГІЯ ТВАРИН

The ANIMAL BIOLOGY

2020 ▪ Volume 22 ▪ Issue 1 ▪ Issue DOI: 10.15407/animbiol22.01

EDITORIAL COUNCIL

Yuriy Salyha, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — Head of the council, editor-in-chief
Ihor Vudmaska, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — deputy chief editor

Halyna Antonyak, Ivan Franko National University of Lviv (Ukraine)
Pawel Bartlewski, Ontario Veterinary College, University of Guelph (Canada)
Rostyslav Bilyy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Nicolai M. Doliba, University of Pennsylvania (United States)
Elizabet Fedorovych, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Rostyslav Fedoruk, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Mykhailo Gladij, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)
Mechyslav Gzhegotskyi, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Viktoriiia Havryliak, Lviv Polytechnic National University (Ukraine)
Alla Hunchak, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Ruslana Iskra, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Liliia Kalachniuk, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Ukraine)
Czesław Kłoczek, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Yaroslav Korpan, Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine (Ukraine)
Igor Kotsyumbas, State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives (Ukraine)
Iryna Kovalchuk, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Zygmunt Maciej Kowalski, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Oleg Krishtal, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)
George Kulik, Wake Forest School of Medicine (United States)
Yaroslav Lesyk, Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University (Ukraine)
Bohdan Luhovyy, Mount Saint Vincent University (Canada)
Volodymyr Lushchak, Vasyl Stefanyk Precarpathian National University (Ukraine)
Milan Marounek, Institute of Animal Science (Czech Republic)
Igor Medina, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)
Pavol Mudroň, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice (Slovak Republic)
Maciej Murawski, University of Agriculture in Kraków (Poland)
Dmytro Ostapiv, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Tatyana Pivneva, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)
Mykola Sharan, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Volodymyr Snityns'kyi, Lviv National Agrarian University (Ukraine)
Petro Stapay, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Rostyslav Stoika, Institute of Cell Biology NAS of Ukraine (Ukraine)
Volodymyr Stybel, Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv (Ukraine)
Roman Tyzio, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)
Oleg Vishchur, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)
Oleksandr Voytyuk, Uppsala University (Sweden)
Oksana Zayachkivska, Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Ukraine)
Ostap Zhukorskyi, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)

ЗМІСТ

<i>Honcharov S. L.</i> Pathological anatomic changes among laboratory rats in case of experimental infection with the larvae of the nematode <i>Eustrongylides excisus</i> (Nematoda: <i>Diectophymatidae</i>).....	3
<i>Курас Л. Д., Ерстенюк Г. М.</i> Енергозабезпечення тканин лабораторних щурів за умов поєднаної дії кадмій хлориду та натрій нітриту	10
<i>Мартинів Ю. В., Кісера Я. В.</i> Імуностимулювальна дія бета-глюкану за медикаментозної імуносупресії мурчаків	15
<i>Сливчук Ю. І., Штапенко О. В., Гевкан І. І., Сирватка В. Я., Сливчук О. Ю., Корбецький А. Р.</i> Вплив наночастинок Купруму на біохімічні показники сироватки крові кролиць	20
<i>Зеленіна О. М., Остапів Д. Д., Влізло В. В., Дронь І. А., Винницька С. І.</i> Гематологічні показники щурів за введення енрофлораксину у складі полімеру	26
<i>Маковська І. Ф.</i> Новітні підходи до аналізу епізоотичної ситуації зі сказу в Україні.....	31
<i>Martseniuk N. I., Adamchuk L. O., Akulonok O. I.</i> Flight activity of bee colonies at <i>Acer</i> spp. bee pollen collection	36
<i>Бойко О. В., Гончар О. Ф., Лучин І. С.</i> Продуктивні ознаки кролів за промислового схрещування порід «полтавське срібло», «радянська шиншила» та «новозеландська біла»	41
<i>Солопова Х. Я.</i> Природні механізми захисту коропових риб за ураження бактерійним аеромонозом і за дії синбіотичного препарату «Ентеронормін»	46
<u>Короткі повідомлення</u>	
<i>Mudroň P.</i> Relationships between subclinical laminitis and sole ulcer in cows	50
<i>Титаренко О. В.</i> Микола Гамалія — видатний мікробіолог та епідеміолог (до 160-річчя від дня народження).....	53

CONTENTS

<i>Honcharov S. L.</i> Pathological anatomic changes among laboratory rats in case of experimental infection with the larvae of the nematode <i>Eustrongylides excisus</i> (Nematoda: <i>Diectophymatidae</i>).....	3
<i>Kuras L. D., Erstenyuk H. M.</i> Energy supply of laboratory rats tissues at combined action of cadmium chloride and sodium nitrite	10
<i>Martyniv Yu. V., Kissera Ya. V.</i> Immunostimulatory effect of beta-glucan at drug-induced immunosuppression in guinea pigs.....	15
<i>Slyvchuk Yu. I., Shtapenko O. V., Hevkan I. I., Syrvatka V. Y., Slyvchuk O. Yu., Korbetsky A. R.</i> Effects of copper nanoparticles on the biochemical parameters of blood serum of female rabbits	20
<i>Zelenina O. M., Ostapiv D. D., Vlizlo V. V., Dron I. A., Vinnytska S. I.</i> Hematological indices of rats after administration of enrofloxacin as a subunit of polymer	26
<i>Makovska I. F.</i> New approaches to the analysis on epizootic situation of rabies in Ukraine.....	31
<i>Martseniuk N. I., Adamchuk L. O., Akulonok O. I.</i> Flight activity of bee colonies at <i>Acer</i> spp. bee pollen collection	36
<i>Boiko O., Honchar O., Luchyn I.</i> Productive characteristics of rabbits at industrial crossbreeding of <i>Poltava Silver</i> , <i>Soviet Chinchilla</i> and <i>New Zealand White</i> breeds ...	41
<i>Solopova Kh. Ya.</i> Natural defense mechanisms in carp infected by bacterial aeromonosis and after treatment with the synbiotic drug “Enteronormin”	46
<u>Short communications</u>	
<i>Mudroň P.</i> Relationships between subclinical laminitis and sole ulcer in cows	50
<i>Titarenko E. V.</i> Mykola Hamaliya, an outstanding microbiologist and epidemiologist (to the 160 th anniversary of the birthday).....	53



Pathological anatomic changes among laboratory rats in case of experimental infection with the larvae of the nematode *Eustrongylides excisus* (Nematoda: Dioctophymatidae)

S. L. Honcharov

sergeyvet85@ukr.net

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
16 Polkovnyka Potekhina str., Kyiv, 03041, Ukraine

The aim of the research was to model the experimental infection in laboratory rats with the larvae of the nematodes *Eustrongylides excisus* and documenting the macroscopic changes in organs and tissues of the animals. With a purpose of creating the best conditions for the nematodes larvae's survival the animals were divided into 4 groups. The first group included intact animals. The rats of groups II and III were orally given the 1 % chlorine hydride solution in the amount of 0.5 and 1 ml respectively. Group IV was a control. The rate of the larvae survival in groups I, II and III counted, respectively, 18, 38 and 52 % of the general amount of the larvae put into the organisms of the rats. Among the invaded rats next changes of the clinical conditions were noticed: general weakness, absence of appetite, pain and tension in the abdominal wall etc. After euthanasia and followed autopsy the symptoms of serofibrous (20 % of the invaded animals) and fibrinopurulent (66.6 %) peritonitis were noticed. It also showed the signs of the enteral failure syndrome (73.3 %) and the abdominal layers adhesion (86.6 %). Microabscesses under the liver capsule were noticed as well, in 26.6 % of the experimentally infected rats. Pathological changes in the thoracic cavity organs, in part in the heart (pericard and heart sac hemorrhages) and in the lungs (congestive hyperemia and pulmonary edema) have been found in 60 % cases, and in kidneys in 73.3 % cases. Symptoms of catarrhal and hemorrhagic gastritis were observed. The positive correlative connection between the parasitic survival percentage in the organisms of rats and the depth and difficulty of the pathological process was determined.

Key words: *Eustrongylides excisus*, rats, experimental invasion, autopsy, pathological anatomic changes, peritonitis

It is known that the parasites develop the closest connection with the hosts if they are located in the animal tissues. In such cases, the negative impact on homeostasis of the host's organism is felt the most, because of mechanic damages of the tissues, metabolic and immune imbalance often followed by significant clinical signs and high lethality. The larvae of the *Dioctophymatidae* family nematodes are those kinds of parasites affecting fishes [3]. The larvae of the *Eustrongylides excisus*, Jägerskiöld, 1909, are the nematodes from the *Dioctophymatidae* line, potentially threatening for human health [16]. This species was described and grounded by Egersheld in 1909 as a result of analyzing the nematodes discovered in the glandular stomach of the *Phalacrocorax* birds [14]. *Eustrongylides* spp. were qualified as a zoonotic parasite, meaning that it is potentially threatening for humans. The invasion takes place in case of consuming fish or fish products that were not thermally treated enough [21, 27].

This species of nematodes is very common for natural waters and artificial reservoirs of Europe, Asia, Northern and Southern Americas. The *E. excisus* nematodes were reported to have been registered in Serbia, Turkey, Brazil, the USA, Italy, Iran, Azerbaijan, Czech Republic, Russia and Ukraine [3, 9, 15, 18, 22–25].

E. excisus nematode is a typical bio tapeworm with a complex development cycle. Fish-eating water birds from the *Ciconiiformes*, *Anseriformes*, *Gaviiformes* and *Pelecanoformes* families are the main definitive hosts [23]. Intermediate hosts are water oligochaeta from the *Tubificidae* and *Lumbriculidae* family, in which the hosts are developed during the first and the second larval periods [14, 15]. Predatory fishes can also take part in the *E. excisus* development cycle, in part *Esocidae*, *Percidae*, *Gobiidae*, *Siluridae*, *Acipenseridae* etc. [3, 19, 20, 23].

According to [14], the larvae of the *E. excisus* nematode were discovered in the gastrointestinal tract of the Caspian seal (*Pusa caspica*, Gmelin, 1788). The inva-

sion intensiveness was from a few nematodes to a few dozens of them. Helminthes were found in the stomach lumen or deeply penetrated into the gastrointestinal wall with the main end [14]. Among the fish-eating birds with the high levels of invasion intensiveness it was possible to determine gastrointestinal wall perforations and different forms of peritonitis as a consequence of the secondary microbial flora getting out of the gastrointestinal canal, which is often deadly. The intestinal tract obturation with the parasites of this species was also reported possible [7].

There were the first report about the natural invasion of a human with the *Eustrongylides* spp. nematodes. The consumers of fishes and fish products that had not been thermally treated enough were invaded with the eustrongylidosis agents [12]. These invasions characterized with gastritis and intestine perforations [8]. If the hollow viscera of the gastrointestinal canal are perforated, the chyme can get into the abdominal cavity, causing inflammatory processes, usually diffuse or local peritoneum inflammations.

Peritonitis is characterized by the systematic inflammatory process and the development of infective and destructive processes in the abdominal cavity organs followed by the development of the abdominal sepsis. In most cases peritonitis is a secondary pathology, a complication of the main disease or injury that led to the primary site of disease — inflammatory or traumatic organ destruction — occurrence [4].

There are not so many diseases that can be deadly for the individual as a bridging or a definitive host. But regarding the ability of *E. excisus* nematodes to traumatize the abdominal wall and intestine, there is a risk not only for the health but for the life of the infected host.

The aim of this research was to reproduce eustrongylidosis in rats with the description of all the pathological processes among the researched animals affected by *Eustrongylides*.

Materials and Methods

The experimental analysis was conducted on 20 non-lineal laboratory rats of the same age (3.5 months), with the body mass 190–230 g. The experiment was held in June. The researched animals were kept in the vivarium of the Mykolaiv regional state laboratory of the State Service of Ukraine for Food Safety and Consumer Protection in separated cages with perforated bottoms to avoid coprophagy. The average air temperature in the room was 19 °C. In between the staggers of the research the rats were fed according to the following nutrition plan: grain mix — 35 %, wheat bread — 15 %, cow milk — 25 %, zoogenic foods (meat, bone and fish scraps) — 9.5 %, greens and succulent foods — 15 %, salt — 0.5 %. The animals were given water from automatic waterers. Food and water access was *ad libitum*.

The laboratory rats were divided by the analogical principle into 4 groups with 5 animals in each group. The first group was invaded with the *E. excisus* larvae. Each animal was given 0.5 ml of normal saline before 10 *E. excisus* nematodes were transmitted through the stomatogastric catheter. The rats of group II, before the deliberate invasion with 10 living larvae (L3–L4) was

given 0.5 ml of 1% chlorine hydride solution through the stomatogastric catheter. Group III was given 1 ml of 1 % hydrochloric acid solution through the stomatogastric catheter and the same number of larvae. Rats of group IV was a control and received only 0.5 ml of normal saline. The larvae of *E. excisus* nematodes were selected from perch (*Perca fluviatilis*) caught in the waters of the Dnipro-Buh estuary within the administrative boarder of the Mykolaiv region. Before the catheter insertion, the nematode larvae soaked with normal saline were put into the catheter's distal part with ophthalmological pincers not less than 0.5 cm away from the edge. The catheter was connected with an injector, containing the mentioned amount of the chlorine hydride to wash the preliminarily put parasitic larvae out of the catheter into the stomach cavity. Chlorine hydride injecting manipulations were repeated up to day 3, including that date.

The observations lasted 5 days. As the waiting term passed by, the animals were euthanized with the thiopental sodium solution (0.015 g of the solution to 1 kg of the weight) and subjected to the pathological anatomical autopsy. The number and percentage of the surviving larvae in the organisms of rats was defined, pathological and anatomical changes in organs and tissues were rated.

The described method allows to invade with the defined number of parasitic larvae and to conduct the biological probe with the most accommodative disease reproduction laboratory models — rats. This method can also be used in case of invasion with those kinds of parasites that could be mechanically fractured with teeth which makes it impossible to invade the laboratory animals by feeding.

All the researches were conducted in accordance with: the Council of Europe Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS123) established on 18.03.1986; the EU Directive 2010/63/EU, the European Union (EU) legislation “on the protection of animals used for scientific purposes”; The Law of Ukraine dated 21.02. 2006 № 3447-IV (revised version 22.06.2017 no. 2120-VIII) “On the Protection of Animals from Brutal Treatment”.

The amount of the crude protein was measured biuret reaction, and the proportion of its fractions was measured by electrophoresis in the polyacrylamide gel. Student's *t*-test with a value level $P \leq 0.05$ was used to value the differences between the selected groups. The research results are represented as a set of the average values and mean-square errors $M \pm m$.

Results and Discussion

General clinic changes

The invaded animals started to show apathy on the second day, they had appetite decrease or refused to eat at all. The majority of the invaded animals showed low mobility and tried to hide in darker areas. Their hair was matted and slipping. Clinic examination showed accelerated breathing. It is necessary to note that chest breathing was dominant 2–3 days after the invasion, the chest excursion was clearly visible. Light palpation of the abdominal wall showed pain and tension, but reaching the 5th day of the experiment the rats' reaction on palpation was not so significant. Starting from the 3rd day of

the experiment the researched rats showed some signs of specific body dislocation — the rats bent to decrease the abdominal wall tension, and to lower pain intensiveness as a consequence. At the beginning of the second day of the experiment auricular hyperemia was found. Auriculars turned red, the local temperature increased, the vascular pattern became more visible. Starting from the day 3–4 forelimbs and hind limbs were shown to be cold. Cyanotic discoloration affected auriculars and skin coverings. Some animals also showed signs of movement coordination disorders — ataxia — they were moving in their cages swinging side to side. It is necessary to notice that during the examination of some animals the fragments of dried blood were discovered in the turbinated bone, as well as red exudates elements on the wings of the nose. The daily cleaning showed the decrease of fecal masses starting from the day 2, probably related to the food consumption decrease as the pathological process got deeper.

Macroscopic changes in organs and tissues

Euthanasia and pathological anatomical autopsy showed inflammatory processes of the parietal and visceral abdominal layers which are morphologically determined by significant hyperemia and edema of the connective tissue elements. Peritoneum vessels are characterized as visibly full-blooded. A small amount of turbid serous exudates (0.2–0.8 ml) was found in the abdominal cavity. Bloody exudate with the elements of fibrin was noticed in the abdominal cavity of the animals with the highest level of the larvae survival, and as a consequence, the biggest pathological impact on the organism. Fibrin was deposited on the surface of the serous membrane of the bowel and internal organs, including the omentum, in the form of filaments and flakes. After the removal of these layers with pincers the visceral membrane was found to be less glossy, getting duller. A certain amount of fibrin in the form of filaments, flakes and grains was detected in the exudate of the abdominal cavity. These pathological changes are typical for serofibrous peritonitis (table 1).

The symptoms of this pathology were discovered in three samples (60 %) from the group I and in one sample of the group II. Autopsy discovered the *E. excisus* nematode larvae on the gastrointestinal canal, they showed vital signs (fig. 1).



Fig. 1. The symptoms of diffusive peritonitis on the rat invaded with eustrongylidosis. *Eustrongylides excisus* nematode larva is clearly visible

The intestinal mucosa was anisochromatic pink, fragmentally covered with small hemorrhages. Intestinal wall was swollen, parietal peritoneum and bowel adhesion were noticed, in most cases they were caused by fibrinous deposits. Abdominal layers adhesion was noticed in 3 samples (60 %) of the group I and all 5 samples (100 %) of the groups II and III. Fibrinopurulent peritonitis was characterized by the synechial process on the starting stage and the adhesion of the gut loops into a single conglomerate.

When moving the gastrointestinal canal, the adhesions were relatively easy to stratify, small interloop abscesses were noticed in between of them. At the edge of the intestinal wall large layers of fibrin were observed. What is significant, in severe forms of peritonitis fibrin was colored bright yellow, as in the lighter forms it was white, sometimes with a yellowish tinge.

Table 1. Pathological changes found in the organisms of laboratory rats experimentally invaded with *Eustrongylides excisus* nematodes

Clinical signs of the pathological process	Group I Total n=5	Group II Total n=5	Group III Total n=5	Group IV Total n=5
Symptoms of the serofibrous peritonitis, n (%)	3 (60)	1 (20)	Not found	Not found
Symptoms of the fibrinopurulent peritonitis, n (%)	1 (20)	4 (80)	5 (100)	Not found
Micro abscesses on the liver surface, n (%)	1 (20)	1 (20)	2 (40)	Not found
Abdominal layers adhesion, n (%)	3 (60)	5 (100)	5 (100)	Not found
Symptoms of the enteral failure syndrome, n (%)	2 (40)	4 (80)	5 (100)	Not found
Significant pathologies of the chest cavity organs, n (%)	2 (40)	2 (40)	4 (80)	Not found
Symptoms of pathological changes in kidneys, n (%)	2 (40)	4 (80)	5 (100)	Not found

Note. Group I are intact animals. Groups II and III were given the 1 % hydrochloric acid solution p.o. in the amount of 0.5 and 1 ml respectively. Group IV is a control group, injected with 0.5 ml of normal saline.

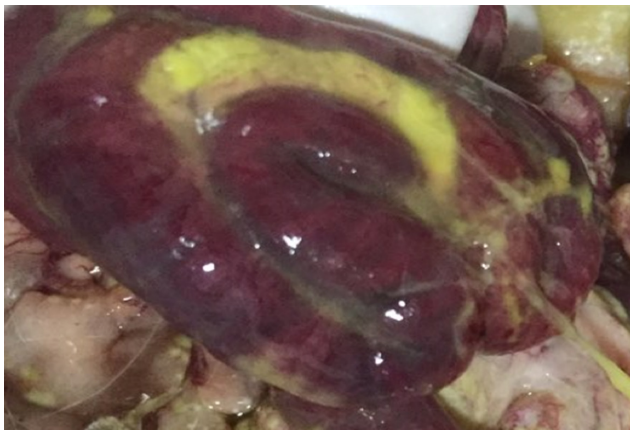


Fig. 2. The small intestine loop of the invaded rat with fibrinopurulent peritonitis

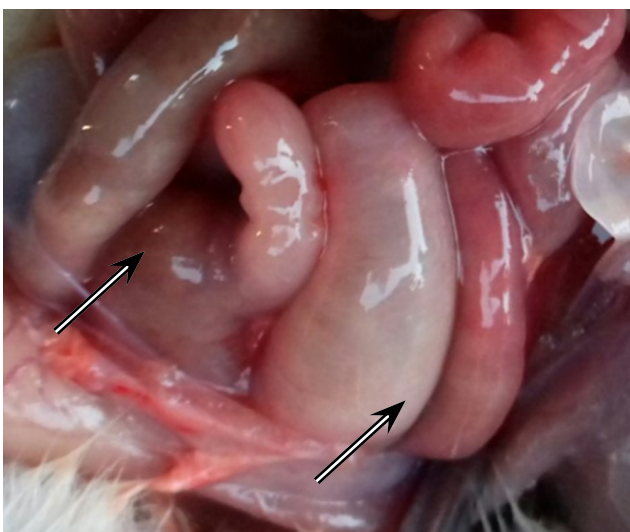


Fig. 3. The intestine areas of the rat, deformed by gases and peritonitis' content

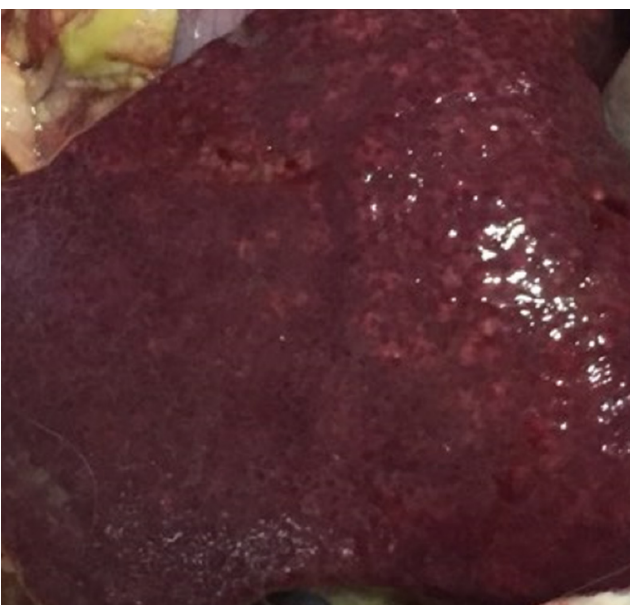


Fig. 4. Diaphragmatic liver surface of the rat with peritonitis. A large amount of micro abscesses is clearly visible

The color of the visceral lining of the intestines ranged from light pink to dark red with cyanotic discoloration. Minor dot and strip hemorrhages could be observed. Vascular branches vascularizing the intestinal wall were dilated, filled with blood, in contrast with the surrounding tissues. Symptoms of fibrinopurulent peritonitis were noticed in one sample (20 %) of the group I, 4 samples (80 %) of the group II and 5 samples (100 %) of the group III. The surface of the intestines is covered with grey-brown plaque, giving it a specific dimness (fig. 2).

Pathological anatomical autopsy showed enlargement of the intestines and their overflows with gas and content, apparently caused by its secondary atony (paralytic intestinal obstruction) — the main symptom of peritonitis. The intestines are colored light pink with small dark red segments. The vessels of the serous membrane were low-filled because gas-filled intestines create tense on the wall, displacing blood from the peripheral vessels to the vessels of the mesentery of the intestines, which actually provides their vascularization. This leads to swelling of the tissues of the intestinal wall, microcirculation failure, the increased permeability of capillaries and of the wall itself. The inflammatory processes in mesenteric tissues are clearly visible. Symptoms of the enteral failure syndrome were noticed in 3 samples (60 %) from the group I, and in all 5 samples (100 %) from groups II and III. Hyperemia and inflammatory edema are typical (fig. 3).

Liver tissue examination revealed capsular tension. The incision of the liver parenchyma had a loose texture and the edges extended beyond the capsule of the organ, which is a sign of edema. A large number of abscesses were macroscopically detected under the liver capsule. This pathology was found in all 3 groups: in one sample (20 %) from group I and group II and two samples (40 %) from the group III. Autopsy detected bile duct overflow (fig. 4).

Acute catarrhal and hemorrhagic inflammation was observed during the examination of the hollow organs, in part stomach. The surface of the gastric mucosa was swollen and hyperemic, with a thickened wall. Jelly-like exudate with blood admixtures flew out of the incised stomach wall after palpation. Vasodilation was also observed, creating the "vascular" pattern on the mucosa. Wall perforations, additionally limited by the inflammatory rollers, were noticed mostly on the fundus surface of the stomach. The surface of the gastric mucosa was characterized by the significant amount of the serous mucous exudate, as well as point and strip hemorrhages (fig. 5).

Morphological changes were also noticed in the spleen: in some cases it was wrinkled and decreased, but in most cases the enlargement of it was fixed. The organ pulp was tensed, with a plentiful scarp on the incision, which was characterized by homogeneous smooth texture. Kidneys were characterized by ischemic manifestations in the cortical layer and acute cerebral pyramid congestion, which created a significantly contrast pattern. Kidney pathology was noticed in 2 samples (40 %) from the group I, group II showed analogical results, in the group III there were 4 samples found to be affected by the kidney pathology, which is 80 % of this group of the researched animals. Chest cavity organs were also noticed to be changed. Lungs, in some cases, were colored from bright pink to light red, they were not uniformly colored and full-blooded, the bronchus incision, when palpated, was characterized by foamy bloody exudates,

which was an indicator of edema. Heart examination showed point hemorrhages on the inner side of the pericardium, in the deep layers of myocardium and on the epicardium surface. These pathologies were noticed in the samples from groups I and II, 2 samples (40 %) each. The group III was characterized by significant chest cavity organ pathologies in 4 samples, which is 80 % of this group of the researched animals.

Larvae survival

It has been discovered during the research process that after the injection of the *E. excisus* into the gastrointestinal canal of the intact rats, only 9 larvae were discovered when the waiting time passed by. The surviving index of the parasitic larvae in the organisms of the researched animals from this particular group counted 18 %, with an average amount of larvae counting 1.8 ± 0.13 nematodes. It is necessary to notice that the autopsy of one sample in this group showed no larvae at all. It apparently means that the parasites could not accommodate in the gastrointestinal canal of the laboratory rat, so they died and eliminated.

Among the researched animals from the group II, that received injections of the 1 % hydrochloric acid solution in the amount of 0.5 ml via stomatogastric catheter and invaded with 10 nematode larvae each simultaneously, 19 living larvae the rats had been invaded by were discovered at the end of the experiment. What is

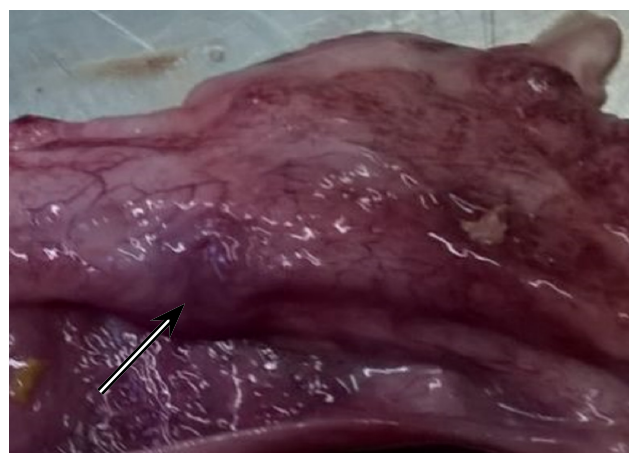


Fig. 5. Gastric mucosa of the rat invaded with *Eustrongylides excisus* larvae. Inflammatory processes are well-observed, stomach perforations are especially noticeable

significant is that one rat from this experimental group had 7 parasites with the vital signs, which is the top point in the given experiment, as the average index counted 3.8 ± 0.24 larvae samples. The general surviving index of the parasites in the organisms of the invaded animals during the experiment counted 38 % (table 2).

Table 2. The surviving indexes of the *Eustrongylides excisus* nematode larvae in the organisms of the laboratory rats in case of experimental invasion

Numeral characteristics of survival	Group I	Group II	Group III	Group IV
Average amount of discovered larvae samples	1.8 ± 0.13	3.8 ± 0.24	5 ± 0.44	Not found
Parasitic larvae surviving percentage, %	18	38	52	Not found

Note. Group I are intact animals. Groups II and III were given the 1 % hydrochloric acid solution p.o. in the amount of 0.5 and 1 ml respectively. Group IV is a control group, injected with 0.5 ml of normal saline.

As a result of injecting the animals from the group III with the 1 % chlorine hydride solution in the amount of 1 ml and 50 (for all samples) larvae of the researched nematode, 26 larvae were discovered when the waiting time passed by. The average amount of the parasites in this group counted 5 ± 0.44 samples. They showed all the vital signs: they reacted on the mechanical irritators and were mobile. So, the average surviving percentage in this researched group counted 52 %. The group IV is a control group, injected with 0.5 ml of normal saline.

Almost every destructive process in the abdominal cavity is followed by inflammatory processes which can, depending on the range of factors, have complications in the form of local or diffuse peritonitis. Microbiological insemination is the main reason of the organism destabilization in the complicated pathogenesis of peritonitis. Significant microbial, autolytic and metabolic disorders mutually deepen one another, which leads to dysfunctions of cardiovascular system, liver, kidneys and other vital organs and systems [1, 5, 6, 13].

Important components of peritonitis in the initial stage are peritoneal hyperemia and formation of the fibrinous

deposits on it, in which the microflora is mostly [5]. The main cause of the inflammatory processes' pathogenesis in the abdominal cavity organs is intoxication caused by the bacterial breakdown products (toxins) proteases, biogenic amines, as well as hypovolemia and gastrointestinal tract paresis.

The pathological anatomical autopsy of the experimental rats showed inflammatory processes in visceral and parietal peritoneum, as well as exudates and fibrin deposits in the form of filaments, flakes and grains.

One of the important factors of the progressing pathogenesis of peritonitis is enteral failure syndrome. Reflex sympathetic-tonic suppression of gastrointestinal motility causes bowel atony, as a consequence the intestine is deformed by gases and peritonitis' content [5]. Another typical characteristic — motor-evacuation dysfunction — was established during the autopsy of the rats invaded with the eustrongylidosis agents. The result of bowel overstretching is the development of pain and toxic shock. As a result of the experimental invasion, the dysfunction was characterized by fecal masses and gases accumulated in the lumen of the bowel.

Mechanic damage of the stomach and bowel walls with *E. excisus* nematode larvae led to acute inflammations of the walls of the hollow organs of the abdominal cavity, in part stomach. Perforating the stomach and bowel walls the parasite made it possible for the infection to get out of the intestine on the parietal and visceral peritoneum layers.

Toxic and terminal periods of peritonitis are characterized by a significant myocardial contractility with circulatory disorders increasing proportionally to the infection development. Flatulence immobilizes diaphragm and as a consequence affects lung ventilation and causes congestive and inflammatory processes in the chest cavity organs [4]. That is why pathological changes in the heart, such as hemorrhages on its membranes and signs of congestive pulmonary hyperemia, were discovered.

In case of severe peritonitis the pathological process is fully realized, leading to a total exhaustion of the protective and compensatory mechanisms [5]. Such processes can be observed macroscopically, suppuration is formed between the bowel loops and omentum, numerous micro abscesses occur under the liver capsule [10, 18]. Such pathological changes among rats with peritonitis are typical for this pathology. Abscess formation in the organisms of the rats leads to the infection persistence in the body tissues.

Paralytic obstruction of the gastrointestinal tract makes nutrition impossible as a consequence it leads to metabolic disorder, fast exhaustion and electrolyte imbalance.

The research found positive correlation between the parasitic surviving percentage in the organisms of rats and the depth and difficulty of the pathological process, which can be partly explained by the biological characteristics of the agent and the parasitic strategy of the *E. excisus* nematode, which uses fish-eating and predatory birds as definitive hosts in most cases [23]. According to the scientific data the pH level of the gastric acid of certain predatory and fish-eating birds counts 0.7–1.0. This significant physiological characteristic makes it possible for them to digest bones, gristles, scales and other solid elements of the fish body that are hard to digest. The high pH of the gastric acid of the fish-eating birds also allows them to use the tissues of hydrobionts for nutrition, even in case of major autolysis [2].

Conclusion

To sum up, the results of the experimental research make it possible to conclude that the invasion of the laboratory rats with the eustrongylidosis agents leads to complicated pathological conditions. The given parasites are potentially threatening for humans, as humans are also at risk of being invaded. The detailed analysis of the agent's biology, of its spreading and changes in the organisms of unspecific hosts is a question of present interest in monitoring the invasive diseases of the fishes in natural waters and artificial reservoirs.

Prospects for Further Research

Of great interest is the study of morphological and biochemical blood parameters of infected animals.

1. Abdullaev EG, Babyshin VV, Novikov YuA., Gusev AV, Malakhov NB. *Peritonitis*, A practical training manual. Vladimir, Publishing VIGU. 2014: 144 p. (in Russian)
2. Bessarabov BF, Ostapenko VA. *Predator birds. Diagnosis, treatment and prevention of diseases*; Content Methods, teaching aid. Moscow, "Aqua-print". 2011: 256 p. (in Russian)
3. Branciarri R, Ranucci D, Miraglia D, Valiani A, Veronesi F, Urbani E, Vaglio G, Pascucci L, Franceschini R. Occurrence of parasites of the genus *Eustrongylides* spp. (*Nematoda: Dioctophymatidae*) in fish caught in Trasimeno lake, Italy. *Italian Jour. of Food Safety*. 2016; 5(4): 206–209. DOI: 10.4081/ijfs.2016.6130.
4. Budashev VP, Grigoryev EG, Tsbikova EN, Lepekhova SA. Modeling of peritonitis in an experimental setting. *Bulletin of the All-Russian Scientific Research Center, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2011; 6(58): 143–147. (in Russian)
5. Buyne OR, Bleichrodt RP, Verweij PE, Groenewoud HMM, Goor H, Hendriks TA. Peritonitis model with low mortality and persisting intra-abdominal abscesses. *International Journal of Experimental Pathology*. 2006; 87(5): 361–368. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2006.00488.x.
6. Chernjadjev SA, Bulaeva EI, Kubasov KA. *Pathogenetic aspects of intestinal paresis in peritonitis. Dental problems*, Yekaterinburg, UMMU. 2016; 12(4): 84–89. DOI: 10.18481/2077-7566-2016-12-4-84-89. (in Russian)
7. Cole R. Eustrongyloidosis. In: *Field Manual of Wildlife Diseases. General Field Procedures and Diseases of Birds*. 2013; 29: 223–228.
8. Deardorff TL, Overstreet RM. Seafood-transmitted zoonoses in the United States: the fishes, the dishes, and the worms. In: *Microbiology of Marine Food Products* (ed. by D. R. Ward & C. R. Hackney). New York. 1991: 211–265. DOI: 10.1007/978-1-4615-3926-1_9.
9. Fedorov NM, Firsov NF, Soloviev NA. Veterinary and sanitary examination in river perch with Eustrongylidosis. *Veterinary Pathology*. 2014; 3–4: 68–73. (in Russian)
10. Gadelha DNB, Melo MCSC, Oliveira TKB, Brandt CT. Autogenous fecal peritonitis in Wistar rats with permanent bilateral carotid occlusion. Morbidity, mortality and microbiological response. *Acta Cir. Bras*. 2013; 28(4): 299–306. DOI: 10.1590/S0102-86502013000400010.
11. Goncharov SL, Soroka NM, Pashkevich IY, Dubovy AI, Bondar AO. Infection of Predatory Fish with Larvae of *Eustrongylides excisus* (*Nematoda, Dioctophymatidae*) in the Delta of the Dniro River and the Dniro-Buh Estuary in Southern Ukraine. *Vestnik Zoologii*. 2018; 52(2): 137–144. DOI: 10.2478/vzoo-2018-0015.
12. Guerin PF, Marapendi S, Grail SL. Intestinal perforation caused by larval Eustrongylides. *Morb. Mort. Week. Rep*. 1982; 31: 383–389.
13. Ito Y, Kinashi H, Katsuno T, Suzuki Y, Mizuno M. Peritonitis-induced peritoneal injury models for research in peritoneal dialysis review of infectious and non-infectious models, *Renal Replacement Therapy*. 2017; 3(16): 1–10. DOI: 10.1186/s41100-017-0100-4.
14. Karmanova EM. *Dioctophymidea of animals and man and the diseases caused by them*. Moscow, Nauka Publishing. 1968: 383 p.
15. Lichtenfels JR, Stroup CF. *Eustrongylides* sp. (*Nematoda: Dioctophymatoidea*): First Report of an Invertebrate Host (*Oligochaeta: Tubificidae*) in North America. *Proc. Helminthol. Soc. Wash*. 1985; 52(2): 320–323. Available at: <http://bionames.org/bionames-archive/issn/0018-0130/52/320.pdf>
16. Ljubojevic D, Novakov N, Djordjevic V, Radosavljevic V, Pelic M, Cirkovic M. Potential parasitic hazards for humans in fish meat. *Procedia Food Science*. 2015; 5: 172–175. DOI: 10.1016/j.profoo.2015.09.049.
17. Melo FTV, Melo CSB, Nascimento LCS, Giese EG, Furtado AP, Santos JN. Morphological characterization of *Eustrongylides* sp. larvae (*Nematoda, Dioctophymatoidea*) parasite of *Rhinella marina* (*Amphibia: Bufonidae*) from Eastern Amazonia. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 2016; 25(2): 7–12. DOI: 10.1590/S1984-29612016024.

18. Melo MCSC, Gadelha DNB, Oliveira TKB, Brandt CT. Severe autogenously fecal peritonitis in Wistar rats with permanent bilateral carotid occlusion. Response to intra peritoneal moxifloxacin combined with dexamethasone. *Acta Cir. Bras.* 2014; 29(2): 76–81. DOI: 10.1590/S0102-86502014000200001.
19. Metin S, Didinen Bİ, Boyacı YO, Kubilay A, Emre N, Didinen H, Emre Y. Occurrence of *Eustrongylides excisus*, Jägerskiöld, 1909 larvae (*Nematoda: Dioctophymatidae*) in Pikeperch (*Sander lucioperca* L.) in Lake Eğirdir. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi.* 2014; 10(1): 20–24. DOI: 10.22392/egirdir.246371.
20. Moshu A. *Helminths of fish ponds between the rivers Dniester and Prut, potentially dangerous to human health.* Kishineu, Eco-Tiras, 2014: 88 p. (in Russian)
21. Narr LL, O'Donnell JG, Libster B, Alessi P, Abraham D. Eustrongyliasis — a parasitic infection acquired by eating live minnows. *J. Am. Ost. Assoc.* 1996; 96(7): 400–402. DOI: 10.7556/jaoa.1996.96.7.400.
22. Noei MR, Ibrahimov S, Sattari M. Parasitic worms of the Persian sturgeon, *Acipenser persicus* Borodin, 1897 from the southwestern shores of the Caspian Sea. *Iranian Jour. of Ichthyology.* 2015; 2(4): 287–295. DOI: 10.22034/ij.1.v2i4.107.
23. Novakov N, Bjelic-Cabrilo O, Circovic M, Jubojevick D, Lujic J, Davidov I, Jovanovic M. Eustrongylidosis of European Catfish (*Silurus glanis*). *Bulg. J. Agric. Sci.* 2013; 19(1): 72–76. Available at: <https://www.agrojournal.org/19/01-13s.pdf>
24. Pazooki J, Masoumian M, Yahyazadeh M, Abbasi J. Metazoan parasites from freshwater fishes of Northwest Iran. *J. Agric. Sci. Technol.* 2007; 9: 25–33. Available at: <https://jast.modares.ac.ir/article-23-9130-en.pdf>
25. Soylu E. Metazoan Parasites of Perch *Perca fluviatilis* L. From Lake Sığircı, Ipsala, Turkey. *Pakistan J. Zool.*, 2013; 45(1): 47–52. Available at: http://zsp.com.pk/pdf45/47-52%20_7_%20PJZ-926-12%207-12-12.pdf
26. Spalding MG, Forrester DJ. Pathogenesis of *Eustrongylides ignotus* (*Nematoda: Dioctophymatidae*) in *Ciconiiformes*. *Journal of Wildlife Diseases.* 1993; 29(2): 250–260. DOI: 10.7589/0090-3558-29.2.250.
27. Wittner M, Turner JW, Jacqueline G, Ash LR, Salgo MP, Tanowitz HB. Eustrongyliasis — a parasitic infection acquired by eating sushi. *N. Engl. J. Med.* 1989; 320: 1124–1126. DOI: 10.1056/NEJM198904273201706.

Патологоанатомічні зміни у лабораторних щурів за експериментального зараження личинками нематоди *Eustrongylides excisus* (*Nematoda: Dioctophymatidae*)

С. Л. Гончаров

sergeyvet85@ukr.net

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Полковника Потехіна, 16, м. Київ, 03041, Україна

Метою досліджень було змодельовати експериментальне зараження лабораторних щурів личинками нематоди *Eustrongylides excisus* та задокументувати макроскопічні змін в органах і тканинах піддослідних тварин. З метою створення найбільш оптимальних умов для виживаності личинок нематод тварин ділили на 4-и групи. I група — дослідна група референтних тварин, II та III — дослідні групи, яким перорально вводили 1% розчин соляної кислоти у кількості 0,5 та 1 мл відповідно; IV група — контрольна. Тварин I, II і III груп експериментально заражали личинками нематоди *Eustrongylides excisus*. Так, виживаність личинок паразитів у I, II і III групах становила 18, 38 та 52 % відповідно, від загальної кількості личинок, яких було введено в організм щурів. В інвазованих щурів відмічали зміни клінічного стану: слабкість, відсутність апетиту, болючість та напруженість черевної стінки, тощо. Після проведення евтаназії та наступної автопсії було встановлено ознаки серозно-фібринозного та гнійно-фібринозного перитоніту. Також відмічали адгезію листків очеревини та утворення мікроабсцесів під капсулою печінки. Відмічали патології органів грудної порожнини, зокрема серця (крововиливи на перикарді та оболонках серця) і легень (явища застійної гіперемії, набряку). Також виявляли ознаки катарального та геморагічного гастриту, перфорації шлункової стінки. Встановлено статистично значущу тенденцію, що із зниженням рівня pH шлункового соку щурів кількість личинок, що вижили в організмі тварин, збільшувалась.

Ключові слова: *Eustrongylides excisus*, щури, експериментальне зараження, автопсія, патологоанатомічні зміни, перитоніт

Honcharov SL. Pathological anatomic changes among laboratory rats in case of experimental infection with the larvae of the nematode *Eustrongylides excisus* (*Nematoda: Dioctophymatidae*). *Biol. Tvarin.* 2020; 22(1): 3–9. DOI: 10.15407/animbiol22.01.003.



Енергозабезпечення тканин лабораторних щурів за умов поєднаної дії кадмій хлориду та натрій нітриту

Л. Д. Курас, Г. М. Ерстенюк

kuras1205@ukr.net

Івано-Франківський національний медичний університет,
вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна

Механізм впливу Кадмію та нітритів різний: Кадмій пригнічує ферментні системи енергозабезпечення заміщенням двовалентних металів, а нітрити посилюють утворення метгемоглобіну, що призводить до порушення транспорту кисню до клітин. На сьогодні недостатньо з'ясованою залишається поєднана дія цих ксенобіотиків, зокрема на енергетичний обмін. Метою дослідження було з'ясувати стан енергетичного обміну у головному мозку та печінці щурів за умов поєднаної дії кадмій хлориду та натрій нітриту. Інтоксикацію моделювали таким чином: кадмію хлорид вводили внутрішньом'язово, натрію нітрит — з питною водою у дозі $1/10 LD_{50}$ один раз на день упродовж 10 діб. Тварин розділено на дві групи: інтактні та дослідні. Збір матеріалу проводили після декапітації під тіопенталовим наркозом на 1-, 14-, 28-у доби після завершення введення токсикантів. Показники енергетичного обміну визначали таким чином: активності АТФ-ази, лактатдегідрогенази — ензиматичним методом; концентрацію глюкози — глюкозооксидазним методом; рівень піровиноградної, молочної, аденозинтрифосфорної (АТФ) кислот — спектрофотометрично; вміст Zn, Cu, Mg — за допомогою атомно-абсорбційного аналізатора. Проведені дослідження вказують на порушення енергетичного забезпечення тканин головного мозку та печінки за кадмієво-нітритної інтоксикації, що підтверджується активацією аеробного окиснення глюкози у головному мозку, зростанням вмісту АТФ та активності АТФ-ази у досліджуваних органах.

Ключові слова: щури, енергетичний обмін, кадмій хлорид, натрій нітрит, Na^+ , K^+ -активуюча, Mg^{2+} -залежна АТФ-аза, аденозинтрифосфорна кислота, глюкоза, лактатдегідрогеназа, печінка, головний мозок

У навколишньому середовищі живі організми можуть зазнавати поєднаних впливів шкідливих чинників різних за хімічною природою і механізмом дії. З наукової літератури відомо про роздільну дію іонів Кадмію [2] та нітритів [1] на організм тварин. Токсична дія Кадмію проявляється політропним впливом на організм тварин і людини, зокрема активацією процесів пероксидації ліпідів та білків, порушенням антиоксидантного захисту, системи гемостазу [5, 10, 12]. При нітритній інтоксикації відбувається інтенсивне утворення метгемоглобіну, порушення транспорту кисню до клітин, зміни у вуглеводному та ліпідному обміні [1, 6, 11]. Однак поєднана дія цих ксенобіотиків залишається недостатньо з'ясованою.

Враховуючи вищесказане, метою дослідження було з'ясувати стан енергетичного обміну у головному мозку та печінці щурів за умов поєднаної дії кадмій хлориду та натрій нітриту.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на 48 білих безпородних лабораторних щурах-самцях масою тіла 180–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Токсичне ураження викликали кадмій хлоридом ($CdCl_2$) та натрій нітритом ($NaNO_2$). Інтоксикацію моделювали таким чином: кадмій хлорид вводили внутрішньом'язово в дозі 1,2 мг/кг маси тіла тварини ($1/10 LD_{50}$), а натрій нітрит випоювали з питною водою з розрахунку 2,1 мг/кг маси тіла тварини в дозі $1/10 LD_{50}$ один раз на день протягом 10 діб [14]. Інтактним тваринам водночас вводили відповідну кількість 0,9 % розчину натрій хлориду. Досліджуваних тварин було розділено на 2 групи: I група (12 особин) — інтактні тварини; II група — тварини, інтоксиковані кадмій хлоридом та натрій нітритом (по 12 особин на 1-у, 14-у та 28-у доби дослідження).

Для досліджень використовували гомогенати головного мозку та печінки. Забір матеріалу проводили згідно з правилами Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин (Страсбург, 1986), після декапітації під тіопенталовим наркозом на 1-, 14-, 28-у доби після завершення введення токсикантів. Показники енергетичного обміну визначали таким чином: активність Na^+ , K^+ -активуючої, Mg^{2+} -залежної АТФ-ази визначали за різницею активностей у присутності та відсутності оубайну (строфантину) [4]; активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) — спектрофотометрично за набором «Філісіт-Діагностика» (Україна); концентрацію глюкози — глюкооксидазним методом за допомогою набору «Філісіт-Діагностика» (Україна); вміст піровиноградної кислоти — за кількістю похідних 2,4-динітрофенілгідрозону (2,4-ДНФГ) [13]; рівень молочної кислоти — за реакцією з параоксидифенілом [7]; АТФ — за кількістю Фосфору, модифікованою методикою Алейникова і Рубцова [9]. Вміст Магнію, Купруму, Цинку визначали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра С-115 ПК [3, 10]. Отримані результати підлягали статистичному аналізу за загальноприйнятою методикою за допомогою програми *Statistica 8,0* та

пакета статистичних функцій програми *Microsoft Excel 2016*. Кореляційний аналіз проводили за коефіцієнтом Пірсона. Для опису кількісних ознак використовували середнє арифметичне (M), стандартну похибку ($\pm m$), медіану (Me) та інтерквартильний розмах — нижній-верхній квартиль ($LQ-HQ$) [8].

Результати й обговорення

Дослідження концентрації АТФ у гомогенатах головного мозку та печінки за умов поєднаної дії Кадмію хлориду та Натрій нітриту дозволили встановити зростання цього показника у гомогенаті головного мозку у 2,3 разу на 28-у добу досліду порівняно з інтактними тваринами. Як показали наші дослідження, у гомогенаті печінки спостерігали вірогідне ($P \leq 0,001$) зростання упродовж всього періоду дослідження у 3–6 разів порівняно з контрольною групою (табл. 1). Визначення АТФ-азної активності дозволило встановити вірогідне ($P \leq 0,001$) зростання цього показника у 2–13 разів у досліджуваних тканинах упродовж усього періоду експерименту порівняно з контролем.

Таблиця 1. Показники енергетичного обміну у головному мозку та печінці щурів за умов поєднаного впливу кадмію хлориду (CdCl_2) та натрій нітриту (NaNO_2) ($M \pm m$, $n=12$)

Table 1. Parameters of energy metabolism in the brain and liver of rats under the combined influence of cadmium chloride (CdCl_2) and sodium nitrite (NaNO_2) ($M \pm m$, $n=12$)

Показники / Parameters	Тканина Tissue	I група 1 st group	II група 2 nd group	III група 3 rd group	IV група 4 th group
АТФ, мкмоль/г тканини ATP, $\mu\text{mol/g}$ of tissue	Головний мозок Brain	3,09 $\pm$ 0,29	3,54 $\pm$ 0,97	2,38 $\pm$ 0,36	7,37 $\pm$ 2,16*
	Печінка Liver	1,02 $\pm$ 0,03	6,19 $\pm$ 1,51*	3,01 $\pm$ 0,73*	5,95 $\pm$ 1,28*
АТФ-аза, мкмоль $\times P_n$ /мг $\times$ год ATPase, $\mu\text{mol} \times P_n / \text{mg}_{\text{protein}} \times \text{hour}$	Головний мозок Brain	251,30 $\pm$ 53,04	2452,30 $\pm$ 647,27*	2710,38 $\pm$ 798,13*	486,22 $\pm$ 256,19
	Печінка Liver	274,13 $\pm$ 40,74	3645,75 $\pm$ 525,42*	424,49 $\pm$ 104,62	448,85 $\pm$ 92,19*

Примітка. I група — інтактні тварини; II група — забір матеріалу на 1-у добу; III група — забір матеріалу на 14-у добу; IV група — забір матеріалу на 28-у добу після завершення введення кадмію хлориду та натрій нітриту.

Тут і далі статистично вірогідна різниця щодо контролю * — $P \leq 0,001$ за критерієм Стюдента.

Note. 1st group — intact animals; 2nd group — probe on the 1st day; 3rd group — probe on the 14th day;

4th group — probe on the 28th day after cadmium chloride and sodium nitrite was completed.

Here and further the statistically significant difference compared control * — $P \leq 0,001$ according to Student's criterion.

Оскільки іони Магнію є активаторами АТФ-ази, важливим є дослідження вмісту цього елемента в тканинах головного мозку та печінки. Встановлено, що концентрація Магнію вірогідно зростала ($P \leq 0,001$) у головному мозку — у 2,3–3,7 разу впродовж усього періоду дослідження. У печінці рівень Магнію мав різнонаправлений характер: знижувався на 1- та 28-у доби у 1,7 і 4 рази відповідно, а на 14-у добу, навпаки, спостерігали зростання його вмісту у 5 разів (рис. 1).

Основним джерелом енергії для досліджуваних тканин — головного мозку та печінки — є глюкоза. Отримані результати показали різнонаправлені зміни концентрації глюкози: у головному мозку — вірогідно ($P \leq 0,001$) зниження у 3,5; 2,3 та 1,7 разу на 1-у, 14-у

і 28-у добу дослідження відповідно. У печінці спостерігали зростання концентрації глюкози у 2,6 разу на 1-у добу, незначне зростання на 14-у добу та зниження на 36 % у пізній період дослідження (рис. 2).

Дослідження метаболітів вуглеводного обміну засвідчило вірогідне ($P \leq 0,001$) зниження рівня молочної кислоти: у головному мозку — упродовж усього періоду дослідження, у 24, 6 та 1,75 разу на 1-, 14- та 28-у доби; у печінці — в 5,8 і 1,7 разу на 14- та 28-у доби дослідження відповідно. Водночас концентрація піровиноградної кислоти у головному мозку вірогідно ($P \leq 0,001$) зростала у 3–3,5 разу впродовж усього періоду дослідження. У печінці цей показник вірогідно ($P \leq 0,001$) знижувався протягом усього досліджуваного періоду в 1,8 разу (рис. 3).

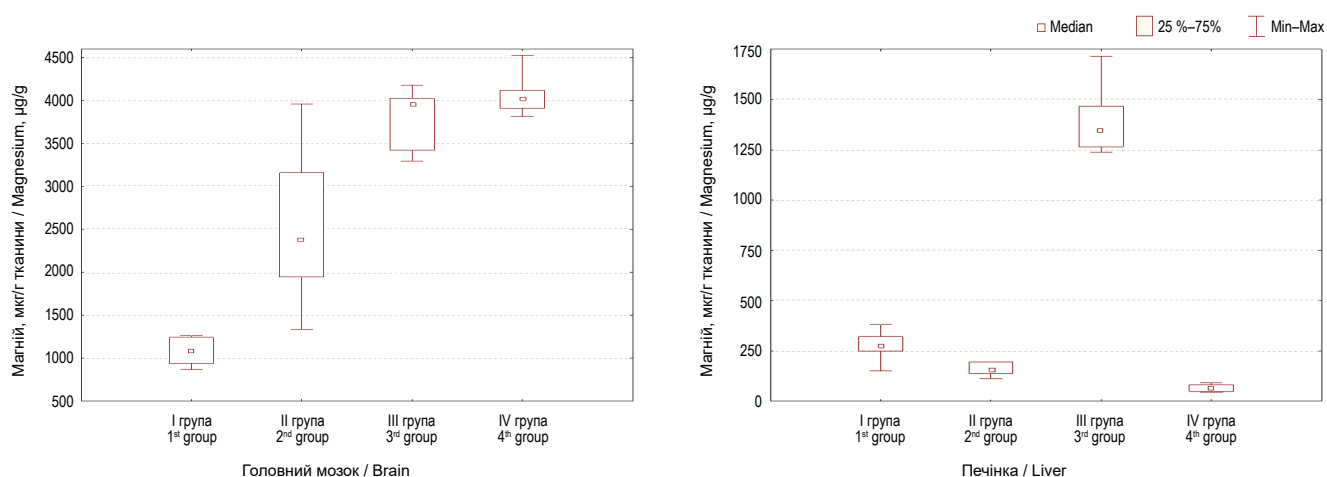


Рис. 1. Вплив кадмію хлориду (CdCl_2) та натрій нітриту (NaNO_2) на вміст Магнію (мкг/г тканини) у головному мозку та печінці щурів
Fig. 1. Influence of cadmium chloride (CdCl_2) and sodium nitrite (NaNO_2) on the concentration of Magnesium ($\mu\text{g/g}$) in the brain and liver of rats

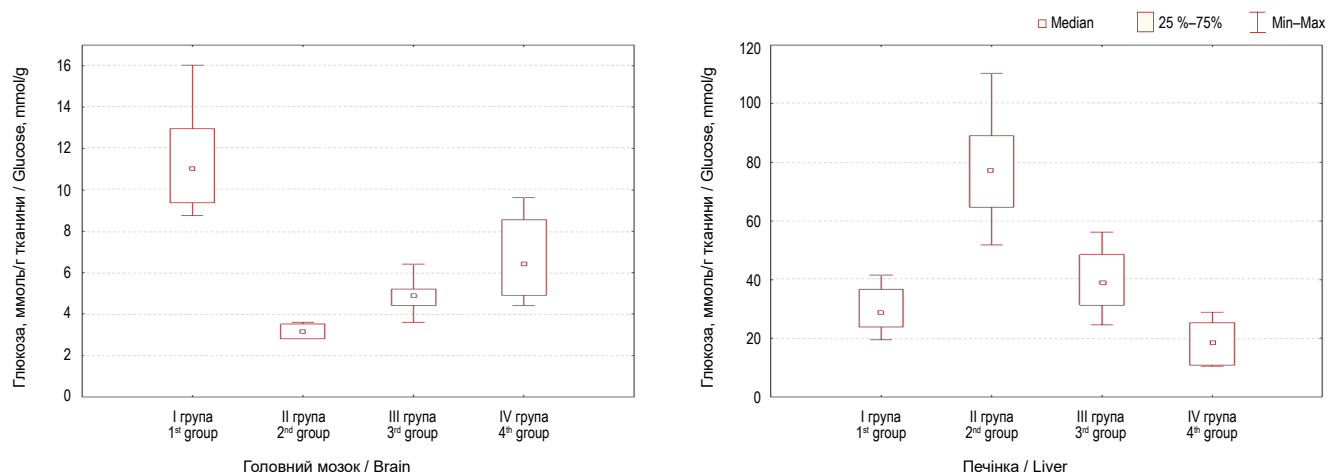


Рис. 2. Вплив кадмію хлориду (CdCl_2) та натрій нітриту (NaNO_2) на концентрацію глюкози (ммоль/г тканини) у головному мозку та печінці щурів
Fig. 2. Influence of cadmium chloride (CdCl_2) and sodium nitrite (NaNO_2) on glucose concentration (mmol/g) in the brain and liver of rats

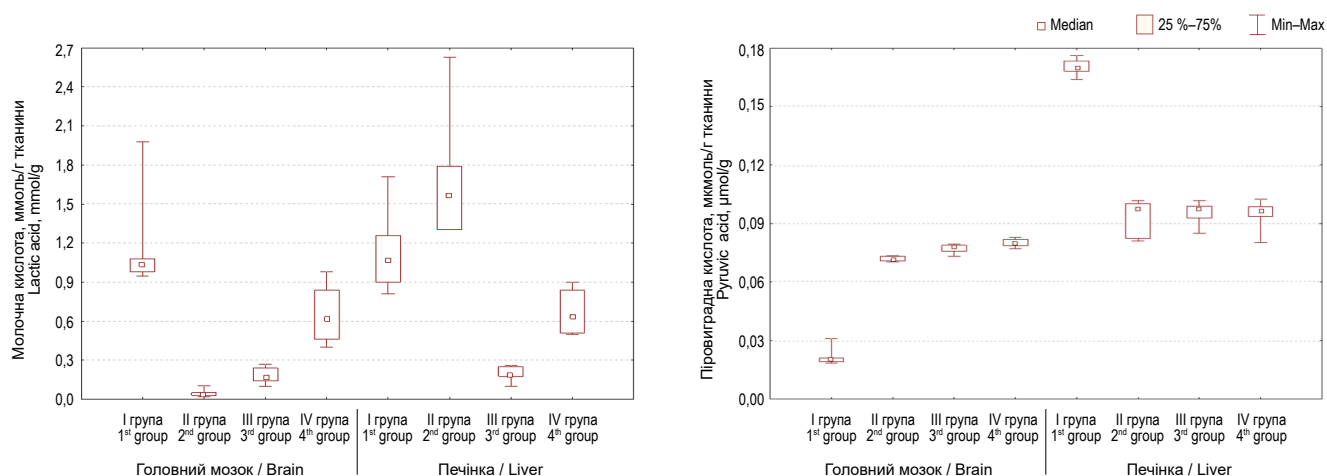


Рис. 3. Вплив Кадмію хлориду (CdCl_2) та Натрій нітриту (NaNO_2) на концентрацію молочної (ммоль/г тканини) та піровиграної (мкмоль/г тканини) кислот у головному мозку та печінці щурів
Fig. 3. Influence of cadmium chloride (CdCl_2) and sodium nitrite (NaNO_2) on the concentration of lactic (mmol/g) and pyruvic ($\mu\text{mol/g}$) acids in the brain and liver of rats.

Таблиця 2. Активність лактатдегідрогенази та вміст Цинку і Купруму в органах щурів за умов поєднаного впливу кадмію хлориду (CdCl_2) та натрію нітриту (NaNO_2) ($M \pm m$, $n=12$)
Table 2. Lactate dehydrogenase in brain and liver of rats under the combined influence of cadmium chloride (CdCl_2) and sodium nitrite (NaNO_2) ($M \pm m$, $n=12$)

Показники / Parameters	Тканина Tissue	I група 1 st group	II група 2 nd group	III група 3 rd group	IV група 4 th group
Лактатдегідрогеназа, мкмоль/с×г тканини Lactate dehydrogenase, $\mu\text{mol/s} \times \text{g}$ of tissue	Головний мозок Brain	2,099±0,78	0,98±0,26	0,52±0,21*	0,99±0,17
	Печінка Liver	1,35±0,46	0,21±0,08*	0,19±0,04*	0,65±0,19
Цинк, мкг/г тканини Zinc, $\mu\text{g/g}$ of tissue	Головний мозок Brain	787,6±217,6	522,58±137,22	1291,49±530,18	663,14±214,59
	Печінка Liver	399,6±95,5	519,7±76,2	913,5±98,2*	311,04±92,9
Купрум, мкг/г тканини Cuprum, $\mu\text{g/g}$ of tissue	Головний мозок Brain	155,17±12,66	150,65±58,47	177,45±13,05	150,44±37,61
	Печінка Liver	141,9±34,8	90,5±15,7	217,7±27,8*	191,7±21,4

Визначення лактатдегідрогеназної активності у головному мозку показало її зниження, найістотніші зміни спостерігали на 14-у добу дослідження — у 4 рази порівняно з контрольною групою тварин. У печінці також спостерігали суттєве її зниження, зокрема на 1- та 14-у доби — у 6,5 та 7 разів порівняно з інтактними тваринами (табл. 2).

Дослідження концентрації мікроелементів Цинку та Купруму, які виступають активаторами лактатдегідрогенази, показали такі зміни у головному мозку щурів: зниження рівня Цинку на 1- та 28-у доби спостереження, на 14-у добу нами встановлено зростання цього показника в 1,6 разу. Подібну закономірність спостерігали і щодо рівня Купруму у головному мозку. У печінці рівень Цинку зростав упродовж 1–14 діб — у 2 рази, на 28-у добу був нижчим від показників контрольної групи, вміст Купруму різко знижувався на 1-у добу — на 36 %, у наступні періоди спостерігали вірогідне зростання, зокрема найбільш істотне на 14-у добу — в 1,5 разу.

Отримані результати вказують на різний характер змін в енергетичному обміні у тканинах головного мозку і печінці залежно від періоду досліджень.

У головному мозку за поєднаної дії токсикантів вміст АТФ суттєво знижувався на 14-у добу і різко зростав у пізньому періоді. При цьому варто зазначити про найнижчий рівень глюкози на 1-у добу, впродовж всього експерименту цей показник був вірогідно нижчим від контрольної групи. Водночас спостерігали зростання рівня пірувату і зниження лактату, що може вказувати на активацію аеробного гліколізу і підтверджується низькою активністю ЛДГ упродовж всього періоду досліджень. У головному мозку на 28-у добу концентрація лактату і активність ЛДГ знижувалась, а коефіцієнт кореляції становив $r = -0,86$.

У печінці за умов кадмієво-нітритної інтоксикації спостерігали значне зростання концентрації АТФ і активності АТФ-ази впродовж усього періоду дослідження. При цьому варто зазначити, що рівень глюкози в ранній період зростає, а в подальші періоди дослідження — знижується. Також спостерігали позитивний

кореляційний зв'язок між зниження концентрації глюкози і зростання вмісту АТФ — коефіцієнт кореляції становив $r=0,81$. Щодо проміжних метаболітів обміну глюкози — молочної та піровиноградної кислот, то їх концентрація і активність лактатдегідрогенази у гомогенаті печінки вірогідно ($P \leq 0,001$) знижувалась упродовж експерименту. Це може свідчити про посилене використання лактату і пірувату у процесі глюконеогенезу для забезпечення енергетичних потреб організму при адаптації до впливу досліджуваних ксенобіотиків.

Висновки

1. Поєднаний вплив кадмію хлориду та натрію нітриту на організм лабораторних щурів призводив до зростання рівня АТФ та АТФ-азної активності на 28-у добу дослідження у тканинах головного мозку та печінки, що можна розглядати як прояв адаптації енергетичного обміну за дії досліджуваних токсикантів.

2. Зниження концентрації глюкози та молочної кислоти і зростання пірувату в головному мозку лабораторних щурів впродовж усього періоду дослідження можуть вказувати на активацію процесів аеробного окиснення за умов інтоксикації кадмію хлоридом та натрію нітритом. Водночас така інтоксикація супроводжується зростанням глюкози та зниженням рівня лактату і пірувату у печінці, що може свідчити про активацію процесу глюконеогенезу і в такий спосіб забезпечити підтримання енергетичних потреб організму, зокрема головного мозку.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати вказують на порушення процесів енергетичного обміну у печінці та головному мозку лабораторних щурів за умов кадмієво-нітритної інтоксикації і потребують подальшого поглибленого вивчення (морфологічного, генетичного та ін.) та пошуків корекції виявлених порушень.

1. Al-Rasheed NM, Fadda LM, Attia HA, Ali HM, Al-Rasheed NM. Quercetin inhibits sodium nitrite-induced inflammation and apoptosis in different rats organs by suppressing Bax, HIF1- α , TGF- β , Smad-2, and AKT pathways. *Biochem Mol Toxicol*. 2017; 31(5): 55–60. DOI: 10.1002/jbt.21883.
2. Bahri S, Kaddour H, Karoui D, Bouraoui S, Amri M, Mokni M. Protective role of vitamin E against cadmium induced oxidative stress into the rat liver. *Tunis Med*. 2019; 97(1): 100–105.
3. Chmylenko FO, Derkach TM. *Methods of atomic spectroscopy: Atomic-absorption spectral analysis: teaching manual*. Dnipro, RVV DNU; 2002: 120 p. (in Ukrainian)
4. Danilovich GV, Gruzina TG, Ulberg ZR, Kosterin SO. Identification and catalytic properties of Mg²⁺-dependent ATP-hydrolase of plasmic membrane of *Bacillus* sp. B4253 capable to gold accumulation. *Ukr. Biochem. Jour*. 2004; 76(5): 45–51. (in Ukrainian)
5. Derecha LM. Macro- and trace elements: modern ideas about their functional significance in the warm-blooded organism. *Experimental and Clinical Medicine*. 2007; 4: 21–27. (in Ukrainian)
6. Hunchak VM. To the toxicology of nitrates and nitrites in animals. *Scientific Bulletin of the S. Z. Gzytsky*. 2013; 15(3/1): 62–70. (in Ukrainian)
7. Levchenko VI, Holovakha VI, Kondrakhin IP. *Methods of laboratory clinical diagnostics of animal diseases*. Kyiv, Ahrarna osvita. 2010: 437 p. (in Ukrainian)
8. Maiboroda R. *Computer statistics — professional start*. Kyiv, Kyivskyi universytet. 2018: 482 p. (in Ukrainian)
9. Melnychuk DO, Melnychuk SD, Kalachniuk LH, Shevriakov MV, Kalachniuk HI. *Biochemistry: a workshop*. Kyiv, NULES of Ukraine. 2012: 528 p. (in Ukrainian)
10. Pohorielov MV, Bumeister VI, Tkach HF, Bonchev SD, Sikora VZ. *Macro- and microelements (metabolism, pathology and methods of determination): monograph*. Sumy, SumDU Publ., 2010: 147 p. (in Ukrainian)
11. Salama MF, Abbas A, Darweish MM, El-Hawwary AA, Al-Gayyar MMH. Hepatoprotective effects of cod liver oil against sodium nitrite toxicity in rats. *Pharm Biol*. 2013; 51(11): 1435–43. DOI: 10.3109/13880209.2013.796564.
12. Skalnyy AV, Rudakov IA. *Bioelements in medicine*. Moscow, ONIX 21 Century Publishing House. 2004: 272 p. (in Russian)
13. Skliarov OY, Fartushok NV, Soika LD, Smachylo IS. *Biological chemistry with biochemical methods of research: textbook*. Kyiv, Medicine. 2009: 352 p. (in Ukrainian)
14. Trakhtenberg I.M. *Problems of norm in toxicology: modern concepts and methodical approaches, basic parameters and constants*. Moscow, Meditsina. 1991: 206 p. (in Russian)

Energy supply of laboratory rats tissues at combined action of cadmium chloride and sodium nitrite

L. D. Kuras, H. M. Erstenyuk
kuras1205@ukr.net

Ivano-Frankivsk National Medical University,
2 Halytska str., Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine

The mechanism of action of Cadmium and nitrites is different: Cadmium inhibits the enzyme systems of energy supply by replacing divalent metals; and nitrites enhance the formation of methemoglobin, which disrupts oxygen transport to cells. However, to date, the combined effect of these xenobiotics, in particular on energy metabolism, remains poorly understood. Taking into account the foregoing, the purpose of this study was to find out the state of energy metabolism in the brain and liver of rats under conditions of combined action of cadmium chloride and sodium nitrite. The intoxication was modeled as follows: cadmium chloride was administered intramuscularly. Sodium nitrite was administered with drinking water at a dose of 1/10 of LD₅₀ once a day for 10 days. Animals were divided into two groups: intact and experimental. The material was collected after decapitation under thiopental anesthesia at 1st, 14th, 28th day after the completion of the introduction of toxicants. Indicators of energy metabolism were determined as follows: activity of ATPase, lactate dehydrogenase — enzymatic method; glucose concentration — glucose oxidase method; the level of pyruvic, lactic, adenosine triphosphate (ATP) acids — spectrophotometrically; content of Zn, Cu, Mg — by atomic absorption spectrophotometer. The conducted researches indicate disturbance of energy supply of brain and liver tissues by cadmium-nitrite intoxication, which is confirmed by activation of aerobic oxidation of glucose in the brain, increase of ATP content and activity of ATPase in the investigated organs.

Key words: rats, energy metabolism, cadmium chloride, sodium nitrite, Na⁺, K⁺-activation, Mg²⁺-dependent ATPase, adenosine triphosphate, glucose, lactate dehydrogenase, liver, brain



Імуностимулювальна дія бета-глюкану за медикаментозної імуносупресії мурчаків

Ю. В. Мартинів, Я. В. Кісера

juliamartyniv8@gmail.com

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

Особливістю дії бета-глюканів є вплив на всі популяції лейкоцитів, що супроводжується активацією фагоцитарної функції. Кортикостероїдні гормони мають імуносупресивну дію. Моделювання імуносупресії дало змогу оцінити зміни в крові під впливом дексаметазону, що є діючою речовиною препарату «Дексафорт», та бета-глюкану як імуностимулятора. Гематологічні дослідження для з'ясування імуностимулювальної дії бета-глюкану на тлі медикаментозної імуносупресії «Дексафортом» провели з метою з'ясування імунної реактивності організму мурчаків (*Cavia porcellus*). В умовах віварію провели дослід на 20-и здорових мурчаків (одна контрольна і три дослідні групи по 5 особин у кожній групі: I група — імуносупресія без імуностимулятора; II група — без імуносупресії з імуностимулятором; III група — імуносупресія з імуностимулятором). Імуносупресію здійснювали тваринам I та III дослідних груп дворазово з інтервалом кожні 7 діб: підшкірно вводили препарат «Дексафорт» на основі дексаметазону пролонгованої дії (*Intervet Schering-Plough Animal Health*, Нідерланди). Як імуностимулятор використовували бета-глюкан в дозі 30 мг на кг маси. Препарат задавали випоюванням 1 раз в день щодня протягом 14 діб тваринам II та III дослідних груп після другого введення «Дексафорту». За дії «Дексафорту» у крові досліджуваних тварин встановлено зменшення кількості лейкоцитів, зокрема лімфоцитів, що відображає імуносупресивний стан організму. Випоювання тваринам бета-глюкану призводило до збільшення у їх крові кількості лейкоцитів, зокрема лімфоцитів і тромбоцитів.

Ключові слова: мурчаки, бета-глюкан, дексафорт, імунітет, кров, лейкоцити, лімфоцити, нейтрофіли, еозинофіли, мікроспорія

Широко застосовувані сьогодні натуральні імуностимулятори, на відміну від синтетичних, не чинять токсичного впливу на організм і характеризуються мінімальним ризиком розвитку побічних реакцій. Цим вимогам повністю відповідають засоби на основі бета-глюканів [1]. Крім активації фагоцитарної функції макрофагів, бета-глюкани за допомогою тих же макрофагів потенціюють синтез медіаторів і біологічно активних субстанцій — лімфокінів, інтерферонів, імуноглобулінів. За впливу бета-глюканів підвищується концентрація імуноглобуліну А у плазмі крові, що забезпечує місцевий імунітет. Бета-глюкани мають регуляційний вплив на всі субпопуляції лейкоцитів, а значить, і на імунну систему [3].

Бета-глюкани є представниками полісахаридів мономерів D-глюкози, з'єднаних за допомогою бета-глікозидних зв'язків, і відрізняються між собою молекулярною масою, щільністю і тривимірною структурою [9]. Найактивнішою формою бета-глюканів є бета-1,3/1,6-глюкан, в молекулі якого глюкоза прив'язана до позицій 1 і 3, молекула має відгалуження у позиціях 1 і 6 [2]. Бета-глюкани — це великі

молекули, які не піддаються ферментативній фрагментації в шлунково-кишковому тракті, захоплюються клітинами слизової оболонки кишечника і активно переносяться у підслизовий шар, де активують макрофаги, а через них — лімфоцити, відповідальні за захист ендотелію, тобто за місцевий імунітет [14]. Завдяки механізму репопуляції активовані лімфоцити зі слизової оболонки кишечника дисемінують у слизові оболонки різних органів, забезпечуючи захист їх від інфекцій [1]. На поверхні макрофагів, які зв'язуються тільки з нерозгалуженою ділянкою молекули бета-глюкану, відбувається активація макрофагів й реалізується імунний захист організму [4, 16]. Активується фагоцитарна функція макрофагів та посилено синтезуються і вивільняються цитокіни, які є сигналом для інших клітин імунної системи, зокрема Т-лімфоцитів, фактора росту епідермальних клітин [11]. Частина бета-глюканів через ворітну вену потрапляють у печінку, де захоплюються клітинами Купфера, які у відповідь на взаємодію з полісахаридами виділяють цитокіни, що активують системний імунітет [13]. Отже, бета-глюкани активують як місцевий імунітет (захист

організму від вторгнень антигенів), так і системний імунітет (знищення чужорідного генетичного матеріалу і відновлення імунного гомеостазу). Відмінна риса імуномодулюючої дії бета-1,3/1,6-глюкану полягає в адекватному підвищенні активності імунної системи без її надмірної стимуляції [3].

Рациональна медикаментозна корекція функціональної активності імунної системи є необхідним заходом за багатьох захворювань і патологій. Доцільним і обґрунтованим є використання активаторів (ендотоксини, віруси, бактерії) первинної ланки імунітету — макрофагів, однак воно не завжди високоефективне і безпечне. У свою чергу, сполуки бета-1,3/1,6-глюкану і бета-1,3(D)-глюкану безпечні і їх можна застосовувати як ентерально, так і парентерально. Ця фармакокінетична особливість бета-глюканів і обумовлює їх широке застосування в медичній практиці. Стимуляція процесів регенерації через активацію кератиноцитів і фібробластів — місцевий ефект бета-глюканів [15, 18]. Метою роботи було визначити імуностимулювальну дію бета-глюкану за медикаментозної імуносупресії.

Матеріал і методи

В умовах віварію Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького провели дослідження на 20 здорових мурчаків, з яких було сформовано одну контрольну і три дослідні групи (I група — імуносупресія без імуностимулятора; II група — без імуносупресії з імуностимулятором; III група — імуносупресія з імуностимулятором) по 5 особин у кожній групі.

Утримання, годівлю, догляд та усі маніпуляції з мурчаків здійснювали згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Експерименти проводили з дотриманням принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти [10].

Для проведення імуносупресії використовували кортикостероїдний гормон дексаметазон в імуносупресивних дозах 0,05–0,5 мг на 1 кг маси тварини [12]. З цією метою дворазово з інтервалом кожні 7 діб тваринам I та III дослідних груп підшкірно вводили препарат «Дексафорт» на основі дексаметазону пролонгованої дії (*Intervet Schering-Plough Animal Health*, Нідерланди).

Як імуностимулятор використовували бета-глюкан (ТОВ «Науково-виробнича компанія „Віларус“», Україна), в дозі — 30 мг на кг маси випоюванням 1 раз на добу впродовж 14 діб тваринам II та III дослідних груп після другого введення «Дексафарту».

Проведено медикаментозну імуносупресію, прийом бета-глюкану та щотижневі забори крові для гематологічних досліджень:

- перший забір крові + перше введення «Дексафарту» тваринам I та III дослідних груп;
- через 7 діб — другий забір крові + друге введення «Дексафарту» тваринам I та III дослідних груп + почали парентерально вводити бета-глюкан тваринам II і III дослідних груп;
- через 7 діб — третій забір крові + продовжили прийом бета-глюкану тваринам II і III дослідних груп;

- через 7 діб — четвертий забір крові + припинено прийом бета-глюкану;
- через 7 діб — п'ятий забір крові.

Гематологічні дослідження проводили у приватній ветеринарній лабораторії «Неолаб» ФОП Дмитрієва І. В. (м. Львів, Україна). Кількість еритроцитів і лейкоцитів визначали методом їх підрахунку в камері Горяєва [7], вміст гемоглобіну — гемоглобінцидним методом [17]. Лейкограму виводили на основі підрахунку та диференціації 100 клітин лейкоцитів у мазках крові, пофарбованих за методикою Романовського-Гімзи. При цьому враховували розмір клітин, величину і форму ядра, наявність та колір зерен у цитоплазмі [5]. Величину гематокриту визначали за допомогою гематокритних капілярів центрифугуванням 10 хв при 3000 об/хв, швидкість осідання еритроцитів (1 год) — з допомогою піпеток Панченкова [17].

Цифровий матеріал статистично опрацьовували за допомогою комп'ютерної програми *Microsoft Excel* з пакету *Microsoft Office 2007*. Вірогідність визначали за *t*-критерієм.

Результати й обговорення

Гематологічними дослідженнями встановлено, що у тварин I дослідної групи (табл. 1), яким дворазово з інтервалом у 7 діб підшкірно вводили «Дексафорт», вірогідно зменшилась кількість лейкоцитів до $4,02 \pm 0,31$ ($P < 0,05$) з $5,41 \pm 0,03$ Г/л у контролі.

Кількість лімфоцитів зменшувалась із $36,76 \pm 7,74$ (контроль) до $34,20 \pm 1,24$; $33,80 \pm 1,74$; $32,80 \pm 1,71$ % ($P < 0,001$) у тварин дослідних груп. Встановлено підвищення паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів, відповідно, до $8,20 \pm 0,20$ і $44,40 \pm 0,93$ з $7,08 \pm 0,29$ % і $35,52 \pm 0,15$ % у тварин контрольної групи.

У тварин II дослідної групи, яким задавали бета-глюкан, відмічені зміни морфологічного складу крові до збільшення кількості лейкоцитів та лімфоцитів без прояву ознак запалення (табл. 2). Це свідчить про підвищення опірної функції організму та підтверджує імуностимулювальну дію бета-глюкану. Кількість лейкоцитів у тварин II дослідної групи вірогідно ($P < 0,001$) збільшилась до $8,56 \pm 0,62$ Г/л порівняно з тваринами контрольної групи, в якій показники становили $5,41 \pm 0,03$ Г/л. Кількість лімфоцитів збільшилась, відповідно, до $51,6 \pm 0,51$ % ($P < 0,001$) з $36,76 \pm 7,74$ %. Спостерігається вірогідне зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів з $35,52 \pm 0,15$ % ($P < 0,001$) до $26,8 \pm 1,02$ %.

У тварин III дослідної групи, яким проводили медикаментозну імуносупресію «Дексафортом» з імуностимулятором бета-глюканом, встановлено, що під дією «Дексафарту» зменшується кількість лейкоцитів до $4,02 \pm 0,50$ Г/л з $5,41 \pm 0,03$ Г/л, кількість лімфоцитів — до $33,60 \pm 2,25$ % з $36,76 \pm 7,74$ % (табл. 3).

Після прийому бета-глюкану відмічено вірогідне збільшення кількості лейкоцитів до $8,6 \pm 0,60$ Г/л ($P < 0,001$) з $5,41 \pm 0,03$ Г/л, збільшення кількості лімфоцитів до $49,40 \pm 2,70$ % з $36,76 \pm 7,74$ % і тромбоцитів — до $253,00 \pm 22,63$ Г/л з $204,00 \pm 6,64$ Г/л у мурчаків контрольної групи. Кількість еозинофілів вірогідно знижується як після введення «Дексафарту» до $2,4 \pm 0,6$ % ($P < 0,001$), так і бета-глюкану до $3,8 \pm 0,49$ % ($P < 0,001$) з $5,8 \pm 0,06$ % у контролі.

Таблиця 1. Морфологічні показники крові мурчаків I дослідної групи, імуносупресія «Дексафортом» без імуностимулятора ($M \pm m$, $n=5$)**Table 1.** Guinea pigs blood morphological parameters, I experimental group, immunosuppression with *Dexafort* without immunostimulator ($M \pm m$, $n=5$)

Показник / Index	Контроль Control	Забір крові / Blood sampling				
		1	2	3	4	5
Гематокрит / Hematocrit, %	43,56 $\pm$ 0,19	44,00 $\pm$ 2,22	43,80 $\pm$ 2,22	42,40 $\pm$ 2,14	42,00 $\pm$ 1,79	42,60 $\pm$ 1,80
Гемоглобін, г/л / Hemoglobin, g/l	135,02 $\pm$ 1,10	132,80 $\pm$ 6,49	135,6 $\pm$ 5,80	133,40 $\pm$ 6,20	136,60 $\pm$ 4,15	132,00 $\pm$ 3,77
Еритроцити, Т/л / Erythrocytes, T/k	5,23 $\pm$ 0,04	5,38 $\pm$ 0,24	5,23 $\pm$ 0,21	5,13 $\pm$ 0,18	5,08 $\pm$ 0,10	5,06 $\pm$ 0,01
Тромбоцити, Г/л / Platelets, g/l	204,00 $\pm$ 6,64	200,00 $\pm$ 13,70	199,40 $\pm$ 10,59	205,80 $\pm$ 11,13	201,00 $\pm$ 13,11	203,00 $\pm$ 11,52
Лейкоцити, Г/л / Leukocytes, g/l	5,41 $\pm$ 0,03	5,74 $\pm$ 0,32	3,88 $\pm$ 0,54	3,78 $\pm$ 0,47	4,12 $\pm$ 0,34	4,02 $\pm$ 0,31*
Нейтрофіли / Neutrophils, %	П	7,08 $\pm$ 0,29	6,00 $\pm$ 0,77	7,80 $\pm$ 0,37	8,00 $\pm$ 0,45	8,20 $\pm$ 0,20
	С	35,52 $\pm$ 0,15	37,00 $\pm$ 4,57	48,80 $\pm$ 1,96	45,60 $\pm$ 2,01	28,00 $\pm$ 1,52
Еозинофіли / Eosinophils, %	5,80 $\pm$ 0,06	6,00 $\pm$ 1,14	4,20 $\pm$ 0,37	6,00 $\pm$ 0,55	5,60 $\pm$ 0,51	5,8 $\pm$ 0,37
Лімфоцити / Lymphocytes, %	36,76 $\pm$ 7,74	44,60 $\pm$ 4,89	32,20 $\pm$ 2,56	32,80 $\pm$ 1,71***	34,20 $\pm$ 1,24***	33,80 $\pm$ 1,74***
Моноцити / Monocytes, %	7,48 $\pm$ 0,29	6,60 $\pm$ 1,25	7,20 $\pm$ 1,11	7,40 $\pm$ 0,68	8,00 $\pm$ 0,45	9,00 $\pm$ 0,45
Базофіли / Basophils, %	0	0	0	0	0	0
#ШОЕ, мм/год / #ESR, mm/hour	1,82 $\pm$ 0,19	2,20 $\pm$ 0,49	2,20 $\pm$ 0,20	2,60 $\pm$ 0,24	2,60 $\pm$ 0,24	2,60 $\pm$ 0,24
Кольоровий показник Color indicator	0,78 $\pm$ 0,00	0,75 $\pm$ 0,05	0,75 $\pm$ 0,04	0,75 $\pm$ 0,04	0,74 $\pm$ 0,03	0,75 $\pm$ 0,04

Примітка. У цій та наступних таблицях вірогідність різниць з контрольною групою: * — $P < 0,05$; *** — $P < 0,001$;

— швидкість осідання еритроцитів.

Note. In this and the following tables the probability of differences with the control group: * — $P < 0,05$; *** — $P < 0,001$;

— erythrocyte sedimentation rate.

Таблиця 2. Морфологічні показники крові мурчаків II дослідної групи без імуносупресії з імуностимулятором бета-глюканом ($M \pm m$, $n=5$)**Table 2.** Guinea pigs blood morphological parameters, II experimental group without immunosuppression with beta-glucan immunostimulator ($M \pm m$, $n=5$)

Показник / Index	Контроль Control	Забір крові / Blood sampling				
		1	2	3	4	5
Гематокрит / Hematocrit, %	43,56 $\pm$ 0,19	43,20 $\pm$ 0,93	42,8 $\pm$ 1,59	45,40 $\pm$ 1,72	45,00 $\pm$ 1,34	44,60 $\pm$ 1,50
Гемоглобін, г/л / Hemoglobin, g/l	135,02 $\pm$ 1,10	141,40 $\pm$ 4,27	139,60 $\pm$ 3,34	147,40 $\pm$ 1,86	145,60 $\pm$ 1,86	141,20 $\pm$ 4,41
Еритроцити, Т/л / Erythrocytes, T/k	5,23 $\pm$ 0,04	4,97 $\pm$ 0,21	5,10 $\pm$ 0,16	5,36 $\pm$ 0,12	5,28 $\pm$ 0,15	5,32 $\pm$ 0,14
Тромбоцити, Г/л / Platelets, g/l	204,00 $\pm$ 6,64	194,00 $\pm$ 16,97	192,80 $\pm$ 15,35	194,00 $\pm$ 20,60	193,60 $\pm$ 18,70	197,40 $\pm$ 19,79
Лейкоцити, Г/л / Leukocytes, g/l	5,41 $\pm$ 0,03	5,14 $\pm$ 0,30	5,52 $\pm$ 0,65	6,94 $\pm$ 0,75	8,52 $\pm$ 0,55***	8,56 $\pm$ 0,62***
Нейтрофіли / Neutrophils, %	П	7,08 $\pm$ 0,29	5,40 $\pm$ 0,24	6,00 $\pm$ 0,55	5,60 $\pm$ 0,51	6,20 $\pm$ 0,37
	С	35,52 $\pm$ 0,15	40,60 $\pm$ 2,68	39,60 $\pm$ 1,86	32,00 $\pm$ 1,10	28,00 $\pm$ 1,52***
Еозинофіли / Eosinophils, %	5,80 $\pm$ 0,06	5,20 $\pm$ 0,86	6,00 $\pm$ 0,55	5,60 $\pm$ 0,51	6,20 $\pm$ 0,37	6,80 $\pm$ 0,37
Лімфоцити / Lymphocytes, %	36,76 $\pm$ 7,74	44,20 $\pm$ 2,01	43,80 $\pm$ 1,16	48,20 $\pm$ 0,86	51,80 $\pm$ 0,86***	51,60 $\pm$ 0,51***
Моноцити / Monocytes, %	7,48 $\pm$ 0,29	4,60 $\pm$ 1,25	4,60 $\pm$ 1,08	7,60 $\pm$ 0,51	7,40 $\pm$ 0,51	7,8 $\pm$ 0,20
Базофіли / Basophils, %	0	0	0	0	0	0
#ШОЕ, мм/год / #ESR, mm/hour	1,82 $\pm$ 0,19	2,00 $\pm$ 0,32	2,00 $\pm$ 0,32	2,00 $\pm$ 0,32	2,00 $\pm$ 0,32	2,00 $\pm$ 0,32
Кольоровий показник Color indicator	0,78 $\pm$ 0,00	0,82 $\pm$ 0,04	0,82 $\pm$ 0,04	0,83 $\pm$ 0,03	0,83 $\pm$ 0,03	0,84 $\pm$ 0,03

Таблиця 3. Морфологічні показники крові мурчаків III дослідної групи, імуносупресія «Дексафортом», з імуностимулятором бета-глюканом ($M \pm m$, $n=5$)**Table 3.** Guinea pigs blood morphological parameters, III experimental group, immunosuppression with *Dexafort* with beta-glucan immunostimulator ($M \pm m$, $n=5$)

Показник / Index	Контроль Control	Забір крові / Blood sampling				
		1	2	3	4	5
Гематокрит / Hematocrit, %	43,56 $\pm$ 0,19	43,60 $\pm$ 1,72	42,60 $\pm$ 2,16	43,40 $\pm$ 1,36	43,20 $\pm$ 0,86	42,60 $\pm$ 0,75
Гемоглобін, г/л / Hemoglobin, g/l	135,02 $\pm$ 1,10	134,00 $\pm$ 2,32	131,60 $\pm$ 2,14	133,00 $\pm$ 1,95	131,20 $\pm$ 3,40	133,80 $\pm$ 3,31
Еритроцити, Т/л / Erythrocytes, T/l	5,23 $\pm$ 0,04	4,74 $\pm$ 0,10	4,70 $\pm$ 0,10	4,87 $\pm$ 0,10	4,96 $\pm$ 0,08	5,04 $\pm$ 0,05
Тромбоцити, Г/л / Platelets, g/l	204,00 $\pm$ 6,64	198,20 $\pm$ 20,91	245,40 $\pm$ 24,06	257,40 $\pm$ 24,26	256,00 $\pm$ 22,61	253,00 $\pm$ 22,63
Лейкоцити, Г/л / Leukocytes, g/l	5,41 $\pm$ 0,03	5,18 $\pm$ 0,58	4,02 $\pm$ 0,50	6,50 $\pm$ 0,73	8,60 $\pm$ 0,69***	8,60 $\pm$ 0,60***
Нейтрофіли / Neutrophils, %	П	7,08 $\pm$ 0,29	5,00 $\pm$ 0,41	7,00 $\pm$ 0,77	4,80 $\pm$ 0,49	5,50 $\pm$ 0,51
	С	35,52 $\pm$ 0,15	38,80 $\pm$ 3,56	49,80 $\pm$ 2,67	43,20 $\pm$ 1,46	34,00 $\pm$ 2,47
Еозинофіли / Eosinophils, %		5,80 $\pm$ 0,06	3,4 $\pm$ 1,29	2,40 $\pm$ 0,60***	3,20 $\pm$ 0,37*	3,80 $\pm$ 0,49***
Лімфоцити / Lymphocytes, %		36,76 $\pm$ 7,74	45,80 $\pm$ 1,66	33,60 $\pm$ 2,25	41,00 $\pm$ 1,30	49,20 $\pm$ 2,13
Моноцити / Monocytes, %		7,48 $\pm$ 0,29	6,40 $\pm$ 0,87	6,80 $\pm$ 0,58	7,20 $\pm$ 0,37	7,40 $\pm$ 0,51
Базофіли / Basophils, %		0	0	0	0	0
#ШОЕ, мм/год / #ESR, mm/hour		1,82 $\pm$ 0,19	2,60 $\pm$ 2,24	2,40 $\pm$ 0,24	2,40 $\pm$ 0,24	2,40 $\pm$ 0,24
Кольоровий показник Color indicator		0,78 $\pm$ 0,00	0,83 $\pm$ 0,03	0,81 $\pm$ 0,01	0,80 $\pm$ 0,01	0,80 $\pm$ 0,01

Лейкоцити в організмі тварин відіграють захисну, трофічну і транспортну роль. Захисна функція лейкоцитів — забезпечення клітинного імунітету. Також вони знищують клітини, що руйнуються, та перероджені клітини власного організму, розпізнають і знешкоджують генетично чужорідні речовини (мікроорганізми). Нейтрофіли виконують функцію фагоцитозу і цитотоксичності. Значно поступаються макрофагам за фагоцитарною активністю і можуть захоплювати лише відносно дрібні об'єкти, тому їх ще називають мікрофагами. Більш типовою властивістю цих клітин є секреція факторів агресії назовні до тканинної рідини для знищення вільних патогенів. Нейтрофіли першими надходять із крові до місця перебування патогену. Саме з їх діяльністю пов'язане виникнення гіпертермії та інтоксикації на ранніх етапах запалення, а також формування гнійного ексудату й обмежувального валу навколо вогнища інфекції [6].

Еозинофіли, як і нейтрофіли, є фагоцитами й цитотоксичними клітинами, їх діяльність має спеціалізований характер і тісно пов'язана з функціонуванням імунної системи слизових. Одним із провідних ефektorних імунних механізмів слизових оболонок є механізм, опосередкований діяльністю тучних клітин [8]. Еозинофіли разом із прямою пошкоджувальною дією на патоген виступають у ролі регулятора цього механізму, запобігаючи його гіперактивації [6].

Отже, за умови медикаментозної імуносупресії бета-глюкан виявляє активну імуностимулювальну дію, що підтверджено результатами проведених досліджень.

Висновки

1. «Дексафорт» як імуносупресор пригнічує імунітет, що супроводжується зменшенням кількості лейкоцитів, лімфоцитів і збільшенням кількості сегментоядерних та паличкоядерних нейтрофілів.

2. На тлі медикаментозної імуносупресії прийом бета-глюкану забезпечує пришвидшення відновлення імунного статусу організму. Це засвідчує збільшення кількості лейкоцитів, лімфоцитів і зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів. Бета-глюкан доцільно застосовувати при імунодефіцитних станах та за умови проведення терапії кортикостероїдами гормонами.

Перспективи подальших досліджень

Розроблення на основі бета-глюкану імуностимулювального препарату, який у поєднанні з біотином забезпечить стимуляцію імунітету за мікроспорії котів та прискорення регенерації уражених ділянок шкіри і шерсті збудником *Microsporium canis*.

1. Besednova NN, Yvanushko LA, Zviahyntseva TN. Immunotropic properties of 1,3/1,6- β -D-glucans. *Antibiotics and chemotherapy*. 2000; 2: 37–44. (in Russian)
2. Bohn JA, BeMiller JN. (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydrate Polymers*. 1995; 28(1): 3–14. DOI: 10.1016/0144-8617(95)00076-3.

3. Brown GD, Gordon S. Immune recognition. A new receptor for beta-glucans. *Nature*. 2001; 413: 36–37. DOI: 10.1038/35092620.
4. Brown GD, Taylor PR, Reid DM, Willment JA, Williams DL, Martinez-Pomares L, Wong SYC, Gordon S. Dectin-1 is a major β -glucan receptor on macrophages. *J. Exp. Med.* 2002; 196(3): 407–412. DOI: 10.1084/jem.20020470.
5. Karpuz YM. *Hematological atlas of farm animals*. Minsk, Uradzhai. 1986: 183 p. (in Russian)
6. Kazmirchuk VI, Kovalchuk LV. *Clinical immunology and allergology*. Vinnytsia, Nova knyha. 2006: 526 p. (in Russian)
7. Kondrakhin YP, Levchenko VY. *Methods of Veterinary Clinical Laboratory Diagnosis: a handbook*. A.V. Arkhypov, ed. prof. Y. P. Kondrakhin. Moscow, Kolos. 2004: 520 p. (in Russian)
8. Kotiuzhynska S, Gozhenko A, Umanskyi D. Morphofunctional state of mast cells in hyperheparinemia in rats. *Fiziologichnyi zhurnal*. 2017; 63(2): 34–39. DOI: 10.15407/fz63.02.034. (in Ukrainian)
9. Lukjanchuk VD, Mishchenko EM, Babenko MN. Beta-glucans as the basis for the creation of immunomodulatory agents. *Ukrainian medical chronicle*. 2011; 5(85): IX–X. (in Russian)
10. Official Journal of the European Union L276/33. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609/EC. 20.10.2010.
11. Okazaki M, Adachi Y, Ohno N, Yadomae T. Structure-activity relationship of (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucans in the induction of cytokine production from macrophages, *in vitro*. *Biol. Pharm. Bull.* 1995; 18(10): 1320–1327. DOI: 10.1248/bpb.18.1320.
12. Ramsey I. *Small animal formulary*. BSAVA. 6th ed. Reprinted with corrections. 2007: 415 p.
13. Sandula J, Machová E, Hřiblová V. Mitogenic activity of particulate yeast β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucan and its water-soluble derivatives. *Int. J. Biol. Macromol.* 1995; 17(6): 323–326. DOI: 10.1016/0141-8130(96)81839-3.
14. Sejelid R, Böggwald J, Lundwall Å. Glycan stimulation of macrophages *in vitro*. *Exp. Cell. Res.* 1981; 131(1): 121–129. DOI: 10.1016/0014-4827(81)90413-4.
15. Sugiyama A, Hata S, Suzuki K, Yoshida E, Nakano R, Mitra S, Arashida R, Asayama Y, Yabuta Y, Takeuchi T. Oral administration of paramylon, a β -1,3-D-glucan isolated from *Euglena gracilis* Z inhibits development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *J. Vet. Med. Sci.* 2010; 72(6): 755–763. DOI: 10.1292/jvms.09-0526.
16. Thornton BP, Větvicka V, Pitman M, Goldman RC, Ross GD. Analysis of the sugar specificity and molecular location of the beta-glucan-binding lectin site of complement receptor type 3(CD11b/CD18). *J. Immunol.* 1996; 156(3): 1235–1246.
17. Vlizlo VV, Slivinska LG, Maksymovych IA, Leno MI, Galyas VL. *Laboratory diagnostics in veterinary medicine*. Reference Book Directory, 2nd ed. Lviv, 2014: 152 p. (in Ukrainian)
18. Woo YI, Park BJ, Kim HL, Lee M H, Kim J, Yang YI, Kim JK, Tsubaki K, Han DW, Park JC. The biological activities of (1,3)-(1,6)- β -D-glucan and porous electrospun PLGA membranes containing β -glucan in human dermal fibroblasts and adipose tissue-derived stem cells. *Biomed. Mater.* 2010; 5(4): 104–109. DOI: 10.1088/1748-6041/5/4/044109.

Immunostimulatory effect of beta-glucan at drug-induced immunosuppression in guinea pigs

Yu. V. Martyniv, Ya. V. Kisera
juliamartyniv8@gmail.com

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after Stepan Gzhytsky,
50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

The peculiarity of beta-glucan action is the effect on all leukocyte populations, which is accompanied by the activation of phagocytic function. Corticosteroid hormones have an immunosuppressive effect. Immunosuppression modeling allowed us to evaluate changes in blood under the influence of dexamethasone, which is the active substance of *Dexafort* and beta-glucan as an immunostimulant. Hematologic studies to determine the immunostimulatory action of beta-glucan on the background of drug immunosuppression with *Dexafort* were conducted to determine the immune reactivity of the organism (*Cavia porcellus*). In vivarium conditions, 20 healthy guinea pigs (one control and three experimental groups) were tested: group I — immunosuppression without immunostimulant; group II — immunosuppression with immunostimulant; group III — immunosuppression with immunostimulant) of 5 individuals in each group. Immunosuppression was performed on animals I and III of the experimental groups twice every 7 days: subcutaneously administered *Dexafort* on the basis of long-acting dexamethasone manufactured by *Intervet Schering-Plow Animal Health* (Netherlands). Beta-glucan at a dose of 30 mg per kg of mass was used as an immunostimulator. The drug was administered by drinking once a day for 14 days to animals of the II and III experimental groups after the second administration of *Dexafort*. Due to the action of *Dexafort* in the blood of the animals tested decreased the number of leukocytes, in particular lymphocytes, which reflects the immunosuppressive state of the body. Beta-glucan feeding to animals resulted in an increase in their blood leukocyte count, including lymphocytes and platelets.

Key words: guinea pigs, beta-glucan, dexafort, immunity, blood, leukocytes, lymphocytes, neutrophils, eosinophils, microsporidia

Martyniv YV, Kisera YV. Immunostimulatory effect of beta-glucan at drug-induced immunosuppression in guinea pigs. *Biol. Tvarin.* 2020; 22(1): 15–19. DOI: 10.15407/animbiol22.01.015.



Вплив наночастинок Купруму на біохімічні показники сироватки крові кролиць

Ю. І. Сливчук¹, О. В. Штапенко¹, І. І. Гевкан¹, В. Я. Сирватка^{1,2},
О. Ю. Сливчук³, А. Р. Корбецький¹

slyvchuk@gmail.com

¹Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна, inenbiol@mail.lviv.ua

²Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна

³Державний науково-дослідний контрольний інститут ветпрепаратів і кормових добавок,
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті представлені результати фізіолого-біохімічних досліджень за дії наночастинок Купруму на організм статевозрілих кролиць. Клінічні параметри та біохімічні показники крові дозволять оцінити безпечність застосування отриманих наночастинок та вплив довготривалих інтраперитоніальних введень на обмінні процеси в організмі тварин і в подальших дослідженнях розробити препарати для лікування різних патологій репродуктивної системи у сільськогосподарських тварин. Дослідження проведені на 18 кролицях породи «Термонська біла» 4-місячного віку, живою вагою 3–3,5 кг, аналогів за біохімічними показниками сироватки крові. Було сформовано три групи по 6 кролиць у кожній: контрольна, I та II дослідні. Впродовж 28 днів через кожні сім днів кролицям інтраперитоніально вводили препарати. Тваринам контрольної групи у ролі плацебо вводили 0,9 % розчин натрію хлориду дозою 1,5 мл/кг. Кролицям дослідних груп вводили препарат з різним вмістом наночастинок Купруму. Встановлено позитивний вплив досліджених наночастинок Купруму на обмінні процеси в організмі кролиць. Інтраперитоніальне введення наночастинок Купруму на початкових етапах дослідження (після другої ін'єкції) зумовило підвищення ензиматичних активностей АЛАТ, АсАТ, що може вказувати на адаптацію організму до введених препаратів. Зниження активності ЛДГ у сироватці крові кролиць за дії введених препаратів може бути пов'язаним із інтенсифікацією метаболічних внутрішньоклітинних енергозатратних процесів. Активність гама-глутаматтрансферази в динаміці періоду дослідження не відрізнялася у контрольних і дослідних групах кролиць, що вказує на те, що введені нами препарати наночастинок Купруму не є токсичними. Введення наночастинок Купруму в дозі 50 мкг/кг позитивно впливало на репродуктивну систему самок кролів та процеси ембріонального розвитку.

Ключові слова: кролиці, наночастинок Купруму, ензими, імплантація, жовте тіло

Наночастинок Купруму мають яскраво виражені бактерицидні, фунгіцидні та віруцидні властивості і є перспективними продуктами нанотехнології [3, 7, 11]. Вони у 7 разів менш токсичні, ніж солі Купруму, а вихідні речовини для одержання наночастинок Купруму суттєво дешевші, ніж ті, які використовують для одержання наночастинок Аргентуму чи Ауруму [12]. Купрум входить до складу біологічних каталізаторів — ензимів, прямо або опосередковано відіграє провідну роль у більшості обмінних процесів і є їх головним регулятором [17]. Унікальні фізичні, хімічні та біологічні властивості наночастинок Купруму відкривають широкі перспективи їх використання в діагностиці,

в ролі біомолекулярних міток, а також у терапії раку та вірусу імунодефіциту людини [1, 5, 6, 13, 18]. Однак наночастинок можуть мати специфічний вплив на органи і тканини тварин, що призводить до розвитку різних патологічних станів [2, 8, 9]. Стабільність біохімічного статусу є невід'ємною умовою нормального функціонування організму, тому виявлення і оцінка варіабельності морфологічних і біохімічних показників крові як інтеграційного середовища організму, в якій відображаються всі зміни, є важливою складовою при комплексній порівняльній оцінці обміну речовин. Тому створення нового продукту із активним діючим агентом та ефективною системою доставки, який би

максимізував терапевтичний ефект і зводив до мінімуму негативний вплив наночастинок на організм тварин та людей, має важливе прикладне та теоретичне значення в репродуктивній біотехнології, медицині та ветеринарії [4, 15, 16].

Запровадження наночастинок Купруму для терапевтичного й діагностичного застосування ускладнюється браком інформації про їх механізми впливу на організм тварин і людини на клітинному та молекулярному рівнях. Невідомими залишаються механізми їх токсикологічної дії на репродуктивну систему та процеси запліднення у тварин. Проведеними нами дослідженнями з вивчення цитотоксичного впливу новосинтезованих наночастинок Купруму, стабілізованих аскорбіновою кислотою та різними концентраціями полівінілпіролідону, на культуру клітин гранульоми та гамети тварин встановлено їх позитивний вплив та оптимальні дози. Тому одним з актуальних напрямів сучасних досліджень є вивчення впливу новосинтезованих наночастинок Купруму, стабілізованих аскорбіновою кислотою та полівінілпіролідом (PVP), на лабораторних тваринах. Клінічні спостереження та фізіолого-біохімічні показники крові при застосуванні наночастинок Купруму у кролиць дозволяють оцінити безпечність застосування отриманих наночастинок та оцінити вплив довготривалих інтраперитоніальних введення на обмінні процеси в організмі тварин і в подальших дослідженнях розробити препарати для сільськогосподарських тварин для лікування різних патологій репродуктивної системи.

Метою цього дослідження було з'ясувати фізіолого-біохімічні особливості дії наночастинок Купруму, отриманих в лабораторних умовах, на організм кролиць та їхню репродуктивну функцію.

Матеріали і методи

Всі експериментальні процедури з тваринами *in vivo* були схвалені Комісією з біоетики Інституту біології тварин НААН відповідно до чинного законодавства України. За схемою досліджень було підібрано 18 кролиць породи «Термонська біла» 4-місячного віку, масою тіла 3–3,5 кг, аналогів за біохімічними показниками сироватки крові. Кролиць утримували в окремих клітках на стандартному раціоні (табл. 1).

Тварин було розділено на три групи: контрольну, I та II дослідну по 6 кролиць у кожній. Впродовж 28 днів через кожних сім днів кролематкам інтраперитоніально вводили досліджувані препарати. Кролицям контрольної групи у ролі плацебо вводили 0,9 % розчин натрію хлориду дозою 1,5 мл/кг. Кролицям дослідних груп вводили препарат з різним вмістом наночастинок Купруму. На 28-у добу тваринам всіх дослідних груп внутрішньом'язово вводили 40 ІО гонадотропіну сироватки жеребих кобил (*Фолігон*, *Інтервет*, Нідерланди). Через добу тваринам вводили гонадотропін-релізінг гормон і штучно запліднювали [10, 14]. Через 14 днів в умовах віварію Інституту проводили забій тварин, відбирали репродуктивні органи — матку і яєчники, які поміщали в термостатований фізіологічний розчин (0,9 % NaCl) за температури 38 °C та доставляли в лабораторію репродуктивної біотехнології, де проводили їх морфометричну оцінку.

Зразки крові відбирали із крайової вени вуха кролиць за добу до введення препаратів і через добу після кожної ін'єкції для вивчення активності ензимів у сироватці крові в динаміці, оскільки ступінь підвищення активності ензимів свідчить про наявність цитолітичного синдрому, але не завжди вказує на глибину ураження органу. Ензимну активність визначали за допомогою наборів *Humman* (Німеччина) на біохімічному аналізаторі *Humalyzer 2000* (*Humman*, Німеччина) відповідно до інструкцій виробників.

Результати представлені як середнє значення $\pm$ стандартне відхилення. Всі статистичні аналізи проводилися за допомогою програми *Microsoft Excel*. Відмінності між групами визначали за допомогою *t*-тесту Стюдента. Різниця між групами вважалась вірогідною за $P < 0,05$.

Результати й обговорення

Під час аналізу показників АлАТ активності (рис. 1) у сироватці крові кролиць контрольної групи виявлено підвищення активності цього ензиму через добу після першої інтраперитоніальної ін'єкції. Очевидно, це можна пов'язати зі стресовим станом тварин, який виникав під час ін'єкції та забору зразків крові.

Таблиця 1. Схема досліджень з вивчення впливу наночастинок міді на фізіолого-біохімічні показники у кролематок

Table 1. Investigation pattern for the study of the influence of copper nanoparticles on biochemical and physiological parameters of female rabbits

Група / Group	Схема введення / Administration pattern	Маніпуляції / Manipulations
Контрольна Control	0,9 % фізрозчин 1,5 мл/кг на ін'єкцію 4 рази через сім днів впродовж 28-ми днів 0.9 % saline solution 1.5 ml/kg per injection 4 times every 7 days for 28 days	Забір крові до введення препаратів, на 7-, 14-, 21- та 28-у доби Blood sampling before the drug administration, on the 7 th , 14 th , 21 st and 28 th day
I дослідна 1 st experimental	Наночастинки міді 50 мкг/кг на ін'єкцію 4 рази впродовж 28-ми днів Copper nanoparticles 50 µg/kg/per injection 4 times during 28 days	
II дослідна 2 nd experimental	Наночастинки міді 100 мкг/кг на ін'єкцію 4 рази через 7 днів впродовж 28 днів Copper nanoparticles 100 µg/kg/per injection 4 times every 7 days during 28 days	

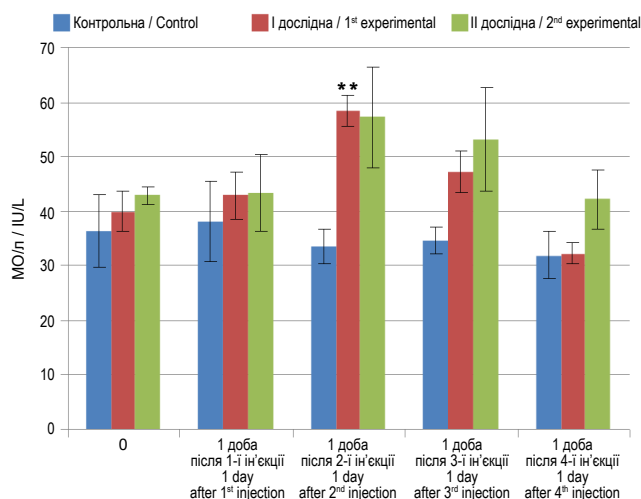


Рис. 1. Аланінамінотрансферазна (АлАТ) активність у сироватці крові кролиць за інтраперитоніального введення наночастинок Купруму

Fig. 1. Alanine aminotransferase (ALT) activity in the blood serum of female rabbits during the intraperitoneal administration of copper nanoparticles

За подальших досліджень АлАТ-активність знижувалась і після четвертої ін'єкції була навіть нижчою за відповідний показник до початку досліджень. Активність АлАТ в I і II дослідній групі підвищилась через добу після другої ін'єкції препаратів (в I групі — вірогідно), зокрема ця різниця була в півтора рази вищою від відповідного показника контрольної групи, однак ці різниці не були вірогідними порівняно з контролем. За подальшого дослідження активності АлАТ в сироватці крові кролематок ці показники поступово знижувалися і досягали рівня показників на початку досліджень.

Виявлені зміни аспартатамінотрансферазної (АсАТ) активності були незначними (рис. 2). У контрольній групі динаміка показників АсАТ-активності була схожа із динамікою АлАТ. Після другої ін'єкції показники активності АсАТ у контрольній групі вирівнюються і є стабільними впродовж дослідження, тоді як у дослідних групах виявлено підвищення аспартатамінотрансферазної активності після другої ін'єкції препаратів проти відповідного показника до початку досліджень, причому в II дослідній групі цей показник був вірогідним ($P < 0,05$). У динаміці експерименту ці показники поступово знижуються і стають нижчими за відповідні показники до початку досліджень.

За дослідження дії наночастинок Купруму на організм в цілому за їх інтраперитоніального введення доцільним є визначення гама-глутамілтрансферази, яка характеризує функціональний стан печінки (табл. 2).

Підвищення гама-глутамілтрансферазної активності може вказувати на токсичне ураження печінки. Гама-глутамілтрансфераза — мікосомальний ензим, який бере участь в обміні амінокислот і у великій кількості наявний у печінці, жовчних ходах, нирках. Отримані нами показники в динаміці дослідження гама-глутамілтрансферазної активності є на одному рівні, між контрольною та дослідними групами

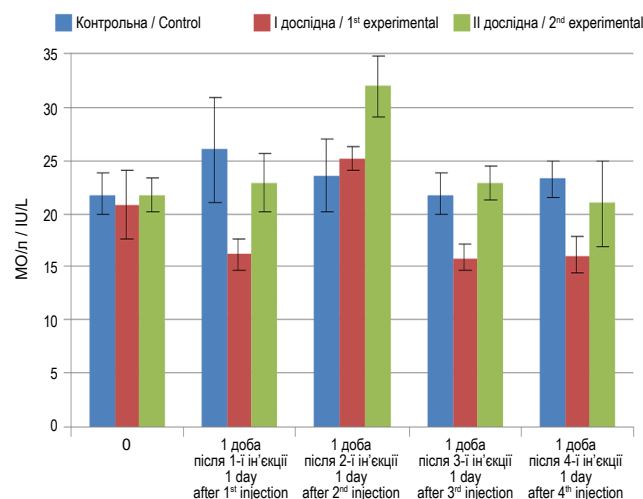


Рис. 2. Аспартатамінотрансферазна (АсАТ) активність у сироватці крові кролиць за інтраперитоніального введення наночастинок Купруму

Fig. 2. Aspartate aminotransferase (AST) activity in the blood serum of female rabbits during the intraperitoneal administration of copper nanoparticles

різниць не виявлено, що може вказувати на те, що введені нами препарати з вмістом наночастинок Купруму не є токсичними.

Відомо, що лужна фосфатаза каталізує гідроліз складних ефірів фосфорної кислоти і органічних сполук. При аналізі показників лужнофосфатазної активності в сироватці крові кролиць за інтраперитоніального введення препаратів з вмістом наночастинок Купруму вірогідних різниць як в динаміці досліджень, так і між контрольною та дослідними групами не виявлено (табл. 3).

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) — це один з ензимів, який показує наявність пошкоджених клітин. Підвищену лактатдегідрогеназну активність в усіх дослідних групах і контролі при першому заборі зразків для досліджень можна пов'язати зі стресом (рис. 3).

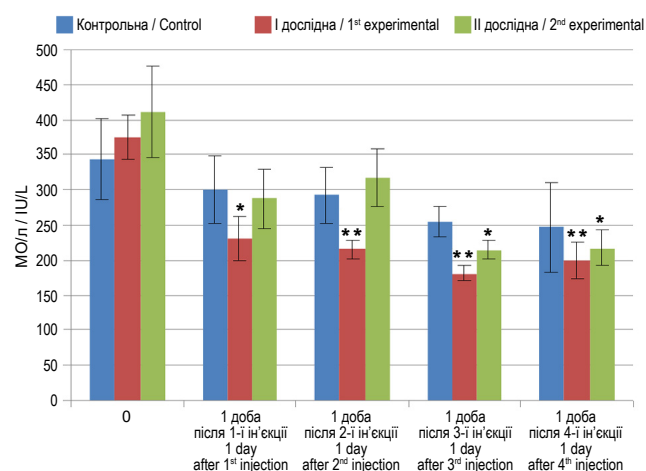


Рис. 3. Лактатдегідрогеназна активність у сироватці крові кролиць за інтраперитоніального введення наночастинок Купруму

Fig. 3. Lactate dehydrogenase activity in the blood serum of female rabbits during the intraperitoneal administration of copper nanoparticles

Таблиця 2. Гамаглутамілтрансферазна (ГГТ) активність в сироватці крові кролиць за інтраперитоніального введення наночастинок Купруму, МО/л ($M \pm m$, $n=6$)**Table 2.** γ -glutamyltransferase (GGT) activity in the blood serum of female rabbits during the intraperitoneal administration of copper nanoparticles, IU/L ($M \pm m$, $n=6$)

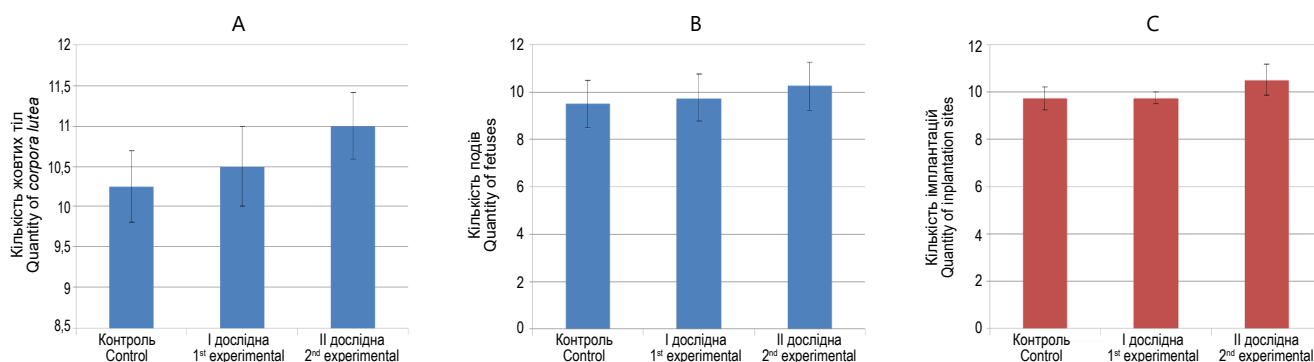
Час забору зразків крові / Time of blood samples collection	Контрольна Control	I дослідна 1 st experimental	II дослідна 2 nd experimental
0	7,62 $\pm$ 0,92	9,00 $\pm$ 0,41	8,25 $\pm$ 0,66
Після 1-ї ін'єкції / After 1 st injection	7,25 $\pm$ 1,00	6,97 $\pm$ 0,69	7,85 $\pm$ 0,69
Після 2-ї ін'єкції / After 2 nd injection	7,97 $\pm$ 0,73	7,77 $\pm$ 0,65	8,40 $\pm$ 0,53
Після 3-ї ін'єкції / After 3 rd injection	7,95 $\pm$ 0,66	8,40 $\pm$ 0,41	8,37 $\pm$ 0,32
Після 4-ї ін'єкції / After 4 th injection	6,70 $\pm$ 0,21	7,45 $\pm$ 0,24	7,30 $\pm$ 0,51

Таблиця 3. Лужнофосфатазна (ЛФ) активність в сироватці крові кролиць за інтраперитоніального введення наночастинок Купруму, МО/л ($M \pm m$, $n=6$)**Table 3.** Alkaline phosphatase (ALP) activity in the blood serum of female rabbits during the intraperitoneal administration of copper nanoparticles, IU/L ($M \pm m$, $n=6$)

Час забору зразків крові / Time of blood samples collection	Контрольна Control	I дослідна 1 st experimental	II дослідна 2 nd experimental
0	181,27 $\pm$ 12,11	186,75 $\pm$ 21,07	203,42 $\pm$ 13,71
Після 1-ї ін'єкції / After 1 st injection	202,90 $\pm$ 14,13	177,22 $\pm$ 17,35	204,50 $\pm$ 18,80
Після 2-ї ін'єкції / After 2 nd injection	179,87 $\pm$ 3,58	174,60 $\pm$ 12,81	187,87 $\pm$ 20,64
Після 3-ї ін'єкції / After 3 rd injection	191,25 $\pm$ 7,23	156,25 $\pm$ 18,76	212,47 $\pm$ 5,84
Після 4-ї ін'єкції / After 4 th injection	172,47 $\pm$ 21,36	145,67 $\pm$ 14,62	187,67 $\pm$ 14,66

Подальші дослідження активності цього ензиму показують його зниження в контрольній і дослідних групах, зокрема в дослідних групах ці показники наприкінці дослідження вірогідно знижуються вдвічі. Зниження ЛДГ-активності у сироватці крові кролиць за дії введених препаратів можна пов'язати з підвищеними метаболічними внутрішньоклітинними процесами, які потребують значних енергетичних витрат, а відповідно, і ЛДГ. Отже, наночастинок Купруму не здійснюють негативного впливу на організм кролиць.

Після евтаназії тварин відібрали репродуктивні органи (матку та яєчники) та провели їх морфометричну оцінку. Було підраховано кількість наявних жовтих тіл вагітності на кожному із яєчників та кількість живих плодів в матці. Встановлено, що в дослідних групах кількість жовтих тіл вагітності та кількість живих плодів на одну самку було більше, ніж у контрольній групі. Але у II групі кількість місць імплантації плодів було більше порівняно з I дослідною та контрольною групами (рис. 4).

**Рис. 4.** Показники морфологічної оцінки репродуктивних органів кролиць першої половини вагітності за дії інтраперитоніального введення наночастинок Купруму. А — показники кількості жовтих тіл яєчника; В — показники кількості наявних плодів у матці; С — показники виявлених місць імплантації**Fig. 4.** Parameters of morphological evaluation of reproductive organs of female rabbits during the first half of pregnancy under the influence of intraperitoneal administration of copper nanoparticles. A — quantity of corpora lutea of ovary; B — quantity of fetuses present in the uterus; C — identified implantation sites

Проте за кількістю доімплантаційної і загальної ембріональної смертності (рис. 5) кращими були показники у тварин I дослідної групи, яким вводили 50 мкг/кг живої маси наночастинок Купруму.

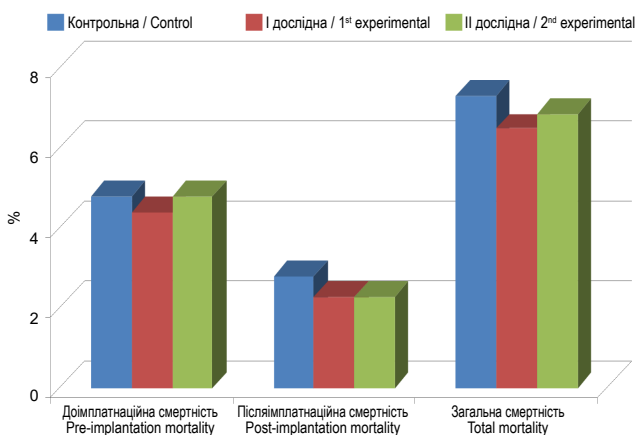


Рис. 5. Показники ембріональної смертності у першій половині вагітності кролиць за інтраперитоніального введення наночастинок Купруму
Fig. 5. Parameters of embryonic mortality during the first half of pregnancy in female rabbits under the influence of copper nanoparticles intraperitoneal administration

Отже, введення наночастинок Купруму в дозі 50 мкг/кг маси тіла позитивно впливало на репродуктивну систему та процеси ембріонального розвитку кролиць.

Висновки

Виявлені вірогідні зміни активності АлАТ, АсАТ лише на першу добу після другої ін'єкції наночастинок Купруму в дозі, відповідно, 50 мкг/кг та 100 мкг/кг.

CuNPs у дозі 50 мкг/кг та 100 мкг/кг не викликає вірогідних змін активності гепатоспецифічних ензимів — γ-глутамілтрансферази та лужної фосфатази. За цих умов спостерігається вірогідне зменшення активності ЛДГ.

Вміст окремих метаболітів азотистого обміну в крові кролиць за впливу наночастинок не зазнавав вірогідних змін в динаміці дослідження. Отже, застосовані препарати нетоксичні.

Найнижчі показники доімплантаційної та загальної ембріональної смертності були у I дослідній групі, тваринам якої вводили 50 мкг/кг маси тіла CuNPs, порівняно з показниками контрольної та II дослідної групи.

Кількість плодів була найбільшою в II дослідній групі, тваринам якої вводили 100 мкг/кг маси тіла CuNPs, найменшою — у контрольній.

Перспективи подальших досліджень

Планується проводити дослідження дії наночастинок Купруму на енергетичний, білковий обмін та антиоксидантний статус організму тварин.

1. Artamonova NO, Masich OV, Pavlichenko YV. Nanotechnology in medicine and oncology. *Ukrainian Radiological Journal*. 2010; 18(1): 102–111. Available at: http://medradiologia.org.ua/assets/files/arch/2010/1/p102_111.pdf (in Ukrainian)
2. Bilous SB, Kalynyuk TH, Chekman IS. General approaches to the pharmaceutical development and preclinical study of medicinal preparations with nanosized active pharmaceutical ingredients. *Clinical pharmacy, Pharmacotherapy and Medical Standardization*. 2012; 3–4(16–17): 67–74. Available at: http://clinpharm.meduniv.lviv.ua/FILES/kffms_3-4_2012/al3-4_2012.pdf (in Ukrainian)
3. Borkow G., Gabbay J. Copper, an ancient remedy returning to fight microbial, fungal and viral infections. *Curr. Chem. Biol.* 2009; 3(3): 272–278. DOI: 10.2174/2212796810903030272.
4. Chekman IS, Simonov PV. *Natural nanostructures and nanomechanisms*. Kyiv, PVP Zadruga. 2012: 104 p. (in Ukrainian)
5. Fujimori Y., Sato T., Hayata T, Nagao T, Nakayama M, Nakayama T, Sugamata R, Suzuki K. Novel antiviral characteristics of nanosized copper(I) iodide particles showing inactivation activity against 2009 pandemic H1N1 influenza virus. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(4): 951–955. DOI: 10.1128/AEM.06284-11.
6. Galan M, Sanchez-Rodriguez J, Cangiotti M, Garcia-Gallego S, Jimenez JL, Gomez R, Ottaviani MF, Munoz-Fernandez MA, de la Mata FJ. Antiviral properties against HIV of water soluble copper carboxylate dendrimers and their EPR characterization. *Curr. Med. Chem.* 2012; 19(29): 4984–4994. DOI: 10.2174/0929867311209024984.
7. Grass G, Rensing C, Solioz M. Metallic copper as an antimicrobial surface. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(5): 1541–1547. DOI: 10.1128/AEM.02766-10.
8. Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of Nanoparticles. *Small*. 2008; 4(1): 26–49. DOI: 10.1002/sml.200700595.
9. Moore R. Nanomedicine and risk: further perspectives. *Med. Device Technol.* 2007; 18(6): 28–29.
10. Morrell JM. Artificial insemination in rabbits. *British Veterinary Journal*. 1995; 151(5): 477–488. DOI: 10.1016/S0007-1935(05)80022-3.
11. Paton BY, Moskalenko VF, Chekman IS, Movchan BO. Nanoscience and Nanotechnology: Technical, Medical and Social Aspects. *Bulletin of the NAS of Ukraine*. 2009; 6: 18–26. Available at: ftp://ftp.nas.gov.ua/akademperiodyka/Downloads/Visnyk_NANU/downloads/2009/6/a4.pdf (in Ukrainian)
12. Petryk IS, Yeremenko GM, Smirnova NP, Korchak GI, Mikhienko AI. Synthesis and stabilization of Cu nanoparticles in aqueous solutions and their bactericidal activity. *Chemistry, Physics and Surface Technology*. 2014; 5(1): 74–81. Available at: <https://www.cpts.com.ua/index.php/cpts/article/view/264/261> (in Ukrainian)
13. Pisanic TR, Blacwell JD, Shubayev VI, Fiñones RR, Jin S. Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons. *Biomaterials*. 2007; 28(16): 2572–2581. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.01.043.
14. Rebollar PG, Dal Bosco A, Millán P, Cardinali R, Brecchia G, Sylla L, Lorenzo PL, Castellini C. Ovulating induction methods in rabbit does: the pituitary and ovarian responses. *Theriogenology*. 2012; 77(2): 292–298. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2011.07.041.
15. Rizzello L, Pompa PP. Nanosilver-based antibacterial drugs and devices: mechanisms, methodological drawbacks, and guidelines. *Chem. Soc. Rev.* 2014; 43(5): 1501–1518. DOI: 10.1039/C3CS60218D.
16. Sanvicens N, Marco MP. Multifunctional nanoparticles — properties and prospects for their use in human medicine. *Trends Biotechnol.* 2008; 26(8): 425–433. DOI: 10.1016/j.tibtech.2008.04.005.
17. Silbernagl S., Lang F. *Color Atlas of Pathophysiology*. Stuttgart, Thieme. 2000: 252.
18. Svenson S, Tomalia DA. Dendrimers in biomedical applications — reflections on the field: *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005; 57(15): 2106–2129. DOI: 10.1016/j.addr.2005.09.018.

Effects of copper nanoparticles on the biochemical parameters of blood serum of female rabbits

Yu. I. Slyvchyk¹, O. V. Shtapenko¹, I. I. Hevkan¹, V. Y. Syrvatka², O. Yu. Slyvchyk³, A. R. Korbetsky¹
slyvchuk@gmail.com

¹Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stusa str., Lviv, 79034, Ukraine, inenbiol@mail.lviv.ua

²Lviv National University named after Ivan Franko,
4 Hrushevskeho str., Lviv, 79005, Ukraine

³State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,
11 Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

This article presents the results of physiological and biochemical investigations of the copper nanoparticles effect on the organism of mature female rabbits. Clinical observations and biochemical parameters of blood would permit to assess the safety of use of obtained nanoparticles and to evaluate the influence of prolonged intraperitoneal administration thereof on the metabolism of the animals, as well as, basing on further studies, to develop drugs for the treatment of various pathologies of the reproductive system of farm animals. For this investigation 18 four-month-old female rabbits of the *Blanc de Termonde* breed weighing 3–3.5 kg and analogous by biochemical parameters of blood serum were selected. They were divided into three groups: control, 1st and 2nd experimental ones, each group containing 6 rabbits. Every 7th day of the 28-day period the rabbits were subjected to intraperitoneal administration of drugs. The rabbits of the control group received 0.9 % physiological solution as placebo, 1.5 ml/kg per injection. The rabbits of the experimental group received a preparation containing copper nanoparticles. The investigation results showed a positive influence of the studied copper nanoparticles on the metabolic processes. Intraperitoneal administration of copper nanoparticles on initial stages of the study (after the second injection) produced increased ALT and AST activities, which might be associated with the adaptation of organism to the introduced drugs. The decreased LDH activity in the blood serum of the rabbits during the administration of the preparations might be associated with enhanced intracellular metabolic processes requiring considerable expenditures of energy. The dynamics of the gamma glutamate transferase activity remained on the same level in the control and both experimental groups of female rabbits, indicating that the introduced copper nanoparticles drugs were not toxic. The administration of copper nanoparticles in the dose of 50 µg/kg of body weight has positive effects on the reproductive system of female rabbits and the processes of embryonic development.

Key words: rabbits, copper nanoparticles, enzymes, implantation, *corpus luteum*

Slyvchyk YI, Shtapenko OV, Hevkan II, Syrvatka VY, Slyvchyk OY, Korbetsky AR. Effects of copper nanoparticles on the biochemical parameters of blood serum of female rabbits. *Biol. Tvarin.* 2020; 22(1): 20–25. DOI: 10.15407/animbiol22.01.020.



Гематологічні показники щурів за введення енрофлораксацину у складі полімеру

О. М. Зеленіна¹, Д. Д. Остапів², В. В. Влізло^{2,4}, І. А. Дронь³, С. І. Винницька³

Zeleninaoksana@ukr.net

¹Одеський державний аграрний університет,
вул. Краснова, 3а, м. Одеса, 65012, Україна

²Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

³Національний університет «Львівська політехніка»,
пл. Св. Юра, 2, м. Львів, 79013, Україна

⁴Державний науково-дослідний контрольний інститут
ветеринарних препаратів та кормових добавок,
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

Вивчали вплив комплексу антибіотику енрофлораксацину з полімером поліетилен-гліколь-400 (ПЕГ-400) на вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, а також стан лейкограми крові клінічно здорових щурів. Енрофлораксацин містить у структурі молекули реакційноздатні карбоксильні групи, що робить можливим проведення його модифікації з одержанням нових сполук. Комплекс антибіотику енрофлораксацину з ПЕГ-400 одержували реакцією хлорангідриду енрофлораксацину з ПЕГ-400. У результаті введення досліджуваних речовин не встановлено відхилення клінічного стану тварин. Дія комплексу енрофлораксацин+ПЕГ-400 на сьому добу після закінчення введення препарату проявляється зниженням кількості еритроцитів і концентрації гемоглобіну в крові щурів, а на 14 і 21 доби — активуванням гемопоетичної функції. Зокрема, через 14 діб після застосування препаратів кількість еритроцитів у крові тварин контрольної групи і за введення комплексу енрофлораксацин+ПЕГ-400 становила $4,6\text{--}4,7 \times 10^{12}/\text{л}$, однак була на 8,0–16,4 % нижчою від груп щурів, яким застосовували окремо антибіотик і ПЕГ-400. Водночас за відсутності вірогідної різниці кількості еритроцитів підвищувалась концентрація гемоглобіну, яка була максимальною у тварин за введення комплексу енрофлораксацин+ПЕГ-400 ($132,2 \pm 4,10 \text{ г/л}$) і дещо нижчою (на $2,7\text{--}8,9 \text{ г/л}$) у крові щурів інших груп. Після введення в організм щурів дія ПЕГ-400 та енрофлораксацину як окремо, так і в складі комплексу енрофлораксацин+ПЕГ-400 характеризувалась зниженням кількості лейкоцитів впродовж усього дослідження. Так, через 21 добу експерименту у крові тварин, яким вводили комплекс енрофлораксацин+ПЕГ-400, кількість лейкоцитів була найнижчою — $4,2 \pm 0,41 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,001$), а за введення енрофлораксацину у чистій формі та ПЕГ-400 — менша, відповідно, на 14,5 % ($P < 0,05$) і 34,8 % ($P < 0,01$). Зміни співвідношення різних видів лейкоцитів у крові щурів за введення досліджуваних речовин характеризують реакцію-відповідь на введення препарату, інтенсивність яких згасає через сім діб.

Ключові слова: щури, нанополімери, енрофлораксацин, гематологічні показники, лейкоцити

Незважаючи на швидкий прогрес у створенні лікарських препаратів і розвитку фармацевтичних технологій, інфекційні захворювання, спричинені бактеріями, продовжують бути однією з найбільших проблем [4]. Майже всі мікроорганізми здатні протистояти фармакотерапевтичним втручанням завдяки швидкій еволюції генетичних механізмів, що призводить до формування резистентності та зумовлює необхідність переглянути

стратегію й тактику застосування антибіотиків [5]. Тому синтез нових антибактеріальних препаратів є актуальним для біологічних, фармацевтичних та медичних наук. Сьогодні серед перспективних напрямів створення нових лікарських засобів є нанобіотехнології [8, 12]. Оскільки використання препаратів у звичайних формах пов'язане з великими труднощами як у досягненні місця дії ліків, так і в підтриманні відповідних доз

препарату впродовж певного періоду часу, актуальним є розроблення полімерних наночастинок, які забезпечують захист лікувальних препаратів від несприятливих умов навколишнього середовища, стабілізують їх транспортування до органів і тканин, сповільнюють деструкцію та виведення з організму [6].

Завдяки невеликому розміру, структурі та великій площі поверхні нанорозмірні матеріали набувають специфічних фізико-хімічних властивостей [7]. Це дає змогу системам з наночастинами долати наявні для звичайних форм обмеження, полегшуючи транспорт до специфічних клітинних мішеней [10].

В останні роки спостерігається стрімкий розвиток полімерної хімії у галузі створення нових матеріалів для медичного застосування. Особливий інтерес становлять полімери, які отримали назву «псевдо-поліамінокислоти». На відміну від поліамінокислот, вони містять в основному ланцюзі уретанові, естерні, ангідридні та інші хімічні зв'язки [9, 11]. Перевага їх полягає в тому, що вони є біодеградабельними і за введення в організм не викликають імунної реакції [1, 2].

Мета досліджень — вивчити вплив комплексу антибіотика енрофлоксацину з полімером ПЕГ-400 на вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, а також стан лейкограми крові клінічно здорових щурів.

Матеріали і методи

Дослідження провели на клінічно здорових самцях щурів (лінія *Wistar*), віком три місяці, масою тіла 180–200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію на загальноприйнятному раціоні.

Для вивчення впливу антибіотика енрофлоксацину (традиційна форма) та нанополімерного комплексу енрофлоксацину з ПЕГ-400 на гематологічні показники щурів (енрофлоксацин-ПЕГ-400; вміст антибіотика = 1,8 %) сформовано чотири групи щурів — контрольну і три дослідні, по 12 тварин у кожній. Щурам контрольної групи внутрішньом'язово вводили фізіологічний розчин об'ємом 0,03 мл, щурам дослідних груп: I — 0,03 мл антибіотика енрофлоксацин (традиційна форма), II — 0,03 мл ПЕГ-400, III — 0,03 мл комплекс енрофлоксацин+ПЕГ-400. Об'єм введених препаратів відповідав дозі енрофлоксацину (традиційна форма) для лікування тварин і становив 0,03 мл на 200 г маси щура для всіх груп. Препарати вводили щодобово протягом чотирьох діб.

Декапітацію тварин проводили через 7, 14 і 21 добу після введення препаратів. Утримання, годівлю, догляд та усі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) і «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухва-

леними Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Експерименти проводили з дотриманням принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти [3].

Енрофлоксацин містить у структурі молекули реакційноздатні карбоксильні групи, що робить можливим проведення його модифікації з одержанням нових сполук (рис. 1). Комплекс антибіотика енрофлоксацину з полімером ПЕГ-400 одержували за реакцією взаємодії хлорангідриду енрофлоксацину з ПЕГ-400 (рис. 2).

Чистота продукту, за даними високоефективної рідинної хроматографії, становила 98–99 %.

Для досліджень гематологічних показників відбирали цільну кров у вакуумні пробірки з K_2EDTA . У цільній крові визначали концентрацію гемоглобіну (г/л), кількість еритроцитів ($10^{12}/л$) і лейкоцитів ($10^9/л$), співвідношення різних видів лейкоцитів (%). Дослідження проводили на автоматичному гематологічному аналізаторі *Abacus Junior vet*. Статистичний аналіз результатів проводили з використанням персонального комп'ютера і програмного забезпечення *Microsoft Excel* та *Origin*.

Результати й обговорення

У результаті введення досліджуваних речовин не було встановлено відхилень загального клінічного стану тварин, апетит був збережений.

За умов застосування комплексу антибіотика енрофлоксацину з ПЕГ-400 встановлено, що на сьому добу після введення препарату кількість еритроцитів була нижчою на 20,8–26,4 % ($P < 0,01$ – $0,001$) порівняно з контролем та іншими дослідними групами (табл. 1). Відповідно, у вказаній групі тварин на 8,3–12,2 % ($P < 0,001$) знижувався вміст гемоглобіну.

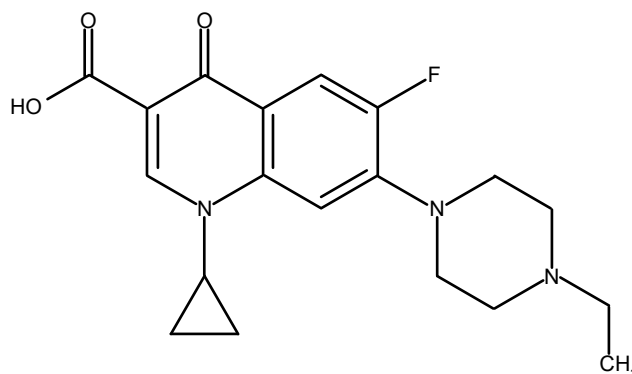


Рис. 1. 1-циклопропіл-6-фтор-7-(4-етил-1-піперазиніл)-1,4-дигідро-4-оксо-3-хінолін-карбонова кислота (енрофлоксацин)
Fig. 1. 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline-carboxylic acid (enrofloxacin)

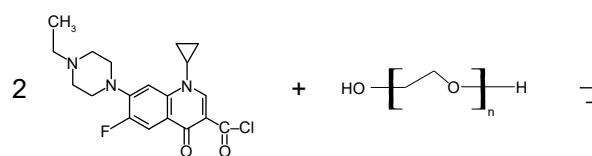


Рис. 2. З'єднання енрофлоксацину з ПЕГ-400 (n=9)

Fig. 2. Connection of enrofloxacin with PEG-400 (n=9)

Таблиця 1. Гематологічні показники щурів за введення енрофлоксацину у складі полімеру (n=4)**Table 1.** Hematological indices of the rat for the introduction of enrofloxacin in the polymer composition (n=4)

Група тварин Group of animals	Доба дослід / Day of the experiment					
	7		14		21	
	M±m	CV	M±m	CV	M±m	CV
Кількість еритроцитів, 10 ¹² /л / Red blood cell count, 10 ¹² /L						
Контроль / Control	5,3±0,18	6,9	4,7±0,33	14,1	5,5±0,17	6,0
I дослідна / I experimental	5,7±0,13	4,8	5,0±0,22	8,6	5,7±0,20	6,9
II дослідна / II experimental	5,6±0,28	9,9	5,5±0,18	6,7	5,7±0,11	4,0
III дослідна / III experimental	4,2±0,21**	10,0	4,6±0,59	26,0	6,1±0,43	14,0
Концентрація гемоглобіну, г/л / Hemoglobin concentration, g/L						
Контроль / Control	125,8±2,38	1,9	129,5 ± 5,41	4,2	120,5± 6,02	5,0
I дослідна / I experimental	124,5±2,17	3,5	123,3±5,99	9,7	128,5±4,10	6,4
II дослідна / II experimental	120,5±1,35	2,2	127,3±3,34	5,3	129,3±0,82	1,3
III дослідна / III experimental	110,5±1,03***	1,9	132,2±4,10	6,2	130,5±4,13	6,3
Кількість лейкоцитів, 10 ⁹ /л / White blood cell count, 10 ⁹ /L						
Контроль / Control	7,0±0,18	5,3	6,3±0,44	14,0	6,9±0,29	8,5
I дослідна / I experimental	6,0±0,12**	4,0	6,3±0,23	7,4	5,9±0,12*	4,2
II дослідна / II experimental	4,5±0,21***	9,2	5,7±0,31	10,9	4,5±0,44**	19,6
III дослідна / III experimental	5,4±0,20***	7,5	5,3±0,45	17,2	4,2±0,41***	19,4

Примітка. У цій та наступній таблиці різниця статистично вірогідна порівняно з контрольною групою: * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001.

Note. In this and the following table, the differences is statistically significant compared to the control group: * — P<0,05; ** — P<0,01; *** — P<0,001.

Таблиця 2. Лейкограма щурів за введення комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 (M±m, n=4)**Table 2.** Leukogram of rats for the introduction of enrofloxacin+PEG-400 complex (M±m, n=4)

Група тварин Group of animals	Лімфоцити Lymphocytes %	Моноцити Monocytes %	Еозинофіли Eosinophils %	Нейтрофіли / Neutrophils, %	
				Сегментоядерні Segmented	Паличкоядерні Stab
7 доба / 7 th day					
Контроль / Control	79,3±1,29	3,3±0,41	5,0±0,35	20,3±1,34	0,0±0,00
I дослідна / I experimental	65,0±0,61***	7,3±0,74**	4,3±0,41	24,8±0,74*	8,8±0,74
II дослідна / II experimental	62,3±1,43***	7,3±0,74**	0,0±0,00	24,5±0,90*	9,3±1,34
III дослідна / III experimental	68,7±2,75*	8,4±0,74***	0,0±0,00	15,3±2,27	3,7±0,54
14 доба / 14 th day					
Контроль / Control	75,3±2,63	2,8±0,54	4,5±0,75	17,3±1,98	1±0
I дослідна / I experimental	75,5±3,44	3,0±0,00	5,3±1,24	16,5±2,14	3±0
II дослідна / II experimental	73,0±2,96	2,0±0,61	1±0	23,0±1,06*	1±0
III дослідна / III experimental	76,8±3,45	2,5±1,06	0±0	19,3±1,29	1±0
21 доба / 21 st day					
Контроль / Control	77,5±3,40	3,0±0,61	3,3±0,41	18,8±1,08	0±0
I дослідна / I experimental	83,3±3,42	3,0±0,61	2,2±0,82	11,3±3,19	1±0
II дослідна / II experimental	78,0±2,03	1,5±0,25	0±0	14,8±1,19	1±0
III дослідна / III experimental	70,0±1,46	2,0±0,35	0±0	24,5±1,03**	0±0

Крім того, кількість лейкоцитів у тварин за введення ПЕГ-400, енрофлоксацину та комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 зменшувалася, відповідно, на 35,8, 14,3 і 22,9 % ($P < 0,01$ – $0,001$) порівняно з аналогічним показником щурів контрольної групи.

Через 14 діб після застосування препаратів у щурів дослідних груп величини досліджених гематологічних показників нормалізувалися. Зокрема, кількість еритроцитів у крові контрольних тварин і за введення комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 становила $4,6$ – $4,7 \times 10^{12}/\text{л}$, однак ще була на $8,0$ – $16,4$ % ($P > 0,05$) нижчою від груп щурів, яким застосовували окремо антибіотик і ПЕГ-400. Поряд з цим, за відсутності вірогідної різниці в числі еритроцитів підвищувався вміст гемоглобіну, який був максимальним у тварин за введення комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 ($132,2 \pm 4,10$ г/л) і дещо нижчим (на $2,7$ – $8,9$ г/л) у крові щурів інших дослідних груп.

Слід відзначити, що через 7 і 14 діб експерименту кількість лейкоцитів знижувалася у крові тварин, яким вводили комплекс енрофлоксацин+ПЕГ-400 та лише ПЕГ-400 ($5,3$ – $5,7 \times 10^9/\text{л}$), і меншою мірою — за введення тільки енрофлоксацину у традиційній формі. Через 21 добу в крові тварин, яким вводили комплекс енрофлоксацин+ПЕГ-400, кількість еритроцитів і концентрація гемоглобіну були найвищими — відповідно, $6,1 \pm 0,43 \times 10^{12}/\text{л}$ і $130,5 \pm 4,13$ г/л, але кількість лейкоцитів була найнижчою — $4,2 \pm 0,41 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,001$). За введення енрофлоксацину у чистій формі та ПЕГ-400 також відмічено зниження кількості лейкоцитів — відповідно, на $14,5$ ($P < 0,05$) і $34,8$ % ($P < 0,01$).

Отже, введення щурам енрофлоксацину у традиційній формі і ПЕГ-400 та комплексу енрофлоксацин з ПЕГ-400 неоднозначно впливають на інтенсивність гемопоезу. Зокрема, комплекс енрофлоксацин+ПЕГ-400 спричиняє зниження кількості еритроцитів і концентрації гемоглобіну на 7-му добу після введення препарату, проте через 14 діб величини значень повертаються до рівня контролю і на 21-у добу були вищими, відповідно, на $9,9$ і $7,7$ %.

Одночасно проявляється інгібувальна дія комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 на утворення лейкоцитів, кількість яких вірогідно знижувалася впродовж 7- і 21-ї діб досліджень. Очевидними факторами, які призводять до зменшення числа лейкоцитів, більшою мірою є транспортер (ПЕГ-400) і меншою — антибіотик (енрофлоксацин).

За дослідження співвідношення різних видів лейкоцитів у крові щурів за дії препаратів встановлено, що на 7-му добу після введення окремо енрофлоксацину у чистій формі і ПЕГ-400 кількість лімфоцитів знижувалася, відповідно, на $18,1$ і $21,5$ % ($P < 0,001$), а дії комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 — на $13,4$ % ($P < 0,05$). На 14- і 21-у доби досліджень величини значень лімфоцитів у тварин дослідних груп, порівняно з контролем, вірогідно не відрізнялися і були в межах 70 – 83 % (табл. 2).

Кількість моноцитів на 7-у добу досліджень у крові тварин дослідних груп була вищою у $2,2$ – $2,5$ рази ($P < 0,01$ – $0,001$), ніж у контролі. На 14- і 21-у доби досліджень величини значень цього показника у щурів піддослідних груп коливалися у межах $1,5$ – $3,0$ % і вірогідно не відрізнялися.

Кількість еозинофілів у крові тварин контрольної групи і за введення енрофлоксацину у традицій-

ній формі була приблизно однаковою до 14-ї доби ($4,0$ – $5,3$ %) і знижувалася ($2,2$ – $3,3$ %) на 21-у добу досліджень.

Більші зміни виявлені для нейтрофілів (табл. 2). Зокрема, кількість сегментоядерних клітин у крові тварин, яким вводили компоненти препарату окремо, підвищувалася на 7-у добу досліджень (енрофлоксацин у традиційній формі та ПЕГ-400) на $4,2$ – $4,5$ % ($P < 0,05$), а за введення комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 — навпаки, знижувалася на $5,0$ % ($P > 0,05$). Ще через 7 діб після введення діючих речовин (на 14-ту добу) кількість сегментоядерних нейтрофілів нормалізувалась як у тварин контрольної групи, так і за введення енрофлоксацину у традиційній формі та комплексного препарату, коливаючись від $16,5$ до $19,3$ %, а за введення ПЕГ-400 була вищою на $5,7$ % ($P < 0,05$).

На 21-у добу досліджень кількість нейтрофілів у крові щурів I та II дослідних груп була нижчою, ніж у контролі, відповідно, на $6,5$ і $4,0$ %, а за введення комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 — навпаки, підвищеною на $5,7$ % ($P < 0,01$).

Кількість паличкоядерних нейтрофілів на 7-у добу після закінчення введення препаратів збільшилась у крові дослідних груп тварин, порівняно з контролем, на 14-ту добу їх відсоток знизився до фізіологічних значень і залишався на тому ж рівні до 21-ї доби.

Висновки

1. Дія комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 на 7-у добу після закінчення введення препарату проявляється зниженням числа еритроцитів і концентрації гемоглобіну в крові щурів, а на 14- і 21-у доби — активуванням гемопоетичної функції.

2. Дія ПЕГ-400 та енрофлоксацину як окремо, так і в складі комплексу енрофлоксацин+ПЕГ-400 після введення в організм щурів характеризується зниженням кількості лейкоцитів впродовж досліджень.

3. Зміни співвідношення різних видів лейкоцитів у крові щурів за введення досліджуваних речовин характеризують реакцію-відповідь на введення препарату, інтенсивність яких згасає через сім діб.

Перспективи подальших досліджень

Доцільним буде вивчити активність ензимів антиоксидантного захисту і їх цитотоксичність в організмі тварин.

1. Chekh BO, Dron IA, Vynnytska SI, Oleksa VV, Atamaniuk IE, Vlizlo VV. Antibacterial activity of complex of enrofloxacin with nanopolymer GluLa-DPG-PEG600. *Biol. Tvarin.* 2017; 19(4): 83–87. DOI: 10.15407/animbol19.04.083. (in Ukrainian)
2. Chekh BO, Ferens MV, Ostapiv DD, Samaryk VY, Varvarenko SM, Vlizlo VV. Characteristics of novel polymer based on pseudopolyamino acids GluLa-DPG-PEG600: binding of albumin, biocompatibility, biodistribution and potential crossing the blood-brain barrier in rats. *Ukr. Biochem. J.* 2017; 89(4): 13–21. DOI: 10.15407/ubj89.04.013. (in Ukrainian)
3. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union L276/33. 86/609/EC. 20.10.2010.

4. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, Daszak P. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 2008; 451: 990–993. DOI: 10.1038/nature06536.
5. Kirichek L.T. Antibiotics in modern chemotherapy. *International Medical Journal*. 2003; 1: 118–121.
6. Martinho N, Damgé C, Reis CP. Recent advances in drug delivery systems. *J. Biomater. Nanobiotechnol.* 2011; 2(5): 510–526. DOI: 10.4236/jbmb.2011.225062.
7. Mohanraj VJ, Chen Y. Nanoparticles — a review. *Tropical J. Pharm. Res.* 2006; 5(1): 561–573. DOI: 10.4314/tjpr.v5i1.14634.
8. Pelgrift RY, Friedman AJ. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2013; 65(13–14): 1803–1815. DOI: 10.1016/j.addr.2013.07.011.
9. Romberg B, Metselaar JM, Baranyi L, Snel CJ, Bünger R, Hennink WE, Szebeni J, Storm G. Poly(aminoacid)s: Promising enzymatically degradable stealth coatings for liposomes. *Intern. J. Pharmaceut.* 2007; 331(2): 186–189. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.11.018.
10. Semete B, Booysen L, Lemmer Y, Kalombo L, Katata L, Verschoor J, Swai HS. *In vivo* evaluation of the biodistribution and safety of PLGA nanoparticles as drug delivery systems. *Nanomedicine*. 2010; 6(5): 662–671. DOI: 10.1016/j.nano.2010.02.002.
11. Varvarenko SM, Figurka NV, Samarik V, Voronov A, Tamavchik IT, Nosova NT, Dron IA, Taras RS, Voronov SA. Synthesis and surface-active properties of new polyesters — pseudopolyamino acids based on natural dibasic α -amino acids. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*. 2013; 5: 131–138. (in Ukrainian)
12. Vlizlo V. V. Nanobiotechnologies and Nanoproducts: achievements and prospects for research in animal husbandry and veterinary medicine. *Bulletin of Agrarian Science*. 2017; 5: 5–10. (in Ukrainian)

Hematological indices of rats after administration of enrofloxacin as a subunit of polymer

O. M. Zelenina¹, D. D. Ostapiv², V. V. Vlizlo^{2,4}, I. A. Dron³, S. I. Vinnytska³
Zeleninaoksana@ukr.net

¹Odesa State Agrarian University,
3a Krasnova str., Odesa, 65012, Ukraine

²Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

³Lviv Polytechnic National University,
2 St. George sq., Lviv, 79013, Ukraine

⁴State Scientific and Research Control Institute
of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,
11 Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

The influence of antibiotic enrofloxacin and PEG-400 polymer complex on hemoglobin content, red and white blood cell count, and blood leukogram state of apparently healthy rats has been studied. The enrofloxacin contains reactive carboxyl groups in the molecule structure, it makes possible to carry out modifications for obtaining new compounds. The complex of enrofloxacin with polymer was obtained by interaction of enrofloxacin hydrochloride with polyethylene glycol-400. There were not any abnormal changes in the physiological state of the animals after administration none of the tested substances. The effect of the enrofloxacin + PEG400 complex in 7 days after the injection was manifested by the decrease of red blood cells count and hemoglobin concentration in the rats' blood, and after 14 and 21 days — by activation of hematopoietic function. Particularly, on the 14th day red blood cell counts in the blood of control animals and animals treated with enrofloxacin+PEG-400 complex were approximately equal and ranged $4.6\text{--}4.7 \times 10^{12}/\text{L}$, and were $8.0\text{--}16.4\%$ ($P > 0.05$) lower than in experimental rats received the antibiotic and PEG-400 separately. At the same time, in the absence of significant difference in red blood cell count, the blood hemoglobin concentration increased. This concentration reached a maximum after the administration of the enrofloxacin + PEG-400 complex (132.2 ± 4.10 g/L), but it became a little bit lower ($2.7\text{--}8.9$ g/L) in rats' blood of other experimental groups. The effects of PEG-400 and enrofloxacin both separately and in complex of enrofloxacin + PEG400, were characterized by the decrease in leukocytes count throughout the experiment. So, after the 21st day of experiment white blood cell count was the lowest in the blood of animals after the enrofloxacin + PEG-400 complex administration ($4.2 \pm 0.41 \times 10^9/\text{L}$; $P < 0.001$) in comparison with the control group; but when the enrofloxacin and PEG-400 were administered separately, white blood cell count was 14.5 ($P < 0.05$) and 34.8% ($P < 0.01$) lower, respectively. Changes in the ratio of different types of leukocytes in the blood of rats characterize the reaction of the body to the introduction of the test substances, the intensity of which decays on the 7th day of the experiment.

Key words: rats, nanopolymers, antibiotic, enrofloxacin, hematological indices, WBC

Zelenina OM, Ostapiv DD, Vlizlo VV, Dron IA, Vinnytska SI. Hematological indices of rats after administration of enrofloxacin as a subunit of polymer. *Biol. Tvarin.* 2020; 22(1): 26–30. DOI: 10.15407/animbiol22.01.026.



Новітні підходи до аналізу епізоотичної ситуації зі сказу в Україні

I. Ф. Маковська

iryna.makovska@nubip.edu.ua

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Полковника Потехіна, 16, м. Київ, 03041, Україна, dekanat_vetmed@nubip.edu.ua

Оскільки географічна інформаційна система (ГІС) є інструментом для збору даних з багатьох джерел різними методами, який, крім стандартного картографування, дозволяє організовувати, зберігати, обробляти, аналізувати, моделювати, представляти просторові дані та створювати прогнози, то метою нашого дослідження було проведення аналізу епізоотичної ситуації зі сказу в Україні із застосуванням новітніх геоінформаційних технологій. Для цього було зібрано дані із захворюваності на сказ, визначено географічні координати для кожного випадку, створено науково-інформаційну базу даних усіх випадків сказу та адаптовано її для роботи у програмному забезпеченні QGIS. ГІС застосовували для динамічних моделей, у яких просторовий розподіл випадків сказу для різних видів тварин змінювався у послідовних часових межах. Проведено картографічну візуалізацію поширення сказу на території всіх областей України. Визначення напрямків руху епізоотії показало зміщення еліпса стандартних відхилень у східному напрямку для домашніх тварин, але в західному — для диких. Найвищу щільність сказу серед диких тварин виявлено у Хмельницькій та Вінницькій обл., а найнижчу — у Полтавській обл. Серед домашніх тварин найбільша щільність випадків сказу виявлена у північно-східній частині Вінницької обл. (на межі із Київською обл.) і у північно-східній частині Черкаської та Кіровоградської обл., а найнижча — у Закарпатській та південній частині Одеської обл. Аналіз ситуації вздовж кордонів України показав переважання сказу серед домашніх тварин вздовж кордонів з Росією, а диких — поруч із кордонами з Білоруссю, Молдовою та Угорщиною. Щодо сезонності поширення сказу для різних груп тварин, то захворюваність серед домашніх тварин найбільше спостерігали на початку року (у першому кварталі), а серед диких — наприкінці року (у четвертому кварталі). Таким чином, встановлення зон найвищого ураження сказом, періодів підйому і спаду епізоотії, визначення видового розповсюдження сказу на території кожної області дозволить ефективніше планувати й проводити протиепізоотичні заходи в Україні.

Ключові слова: сказ, геоінформаційні технології, епізоотія, база даних, ГІС-аналіз, візуалізація

Сказ — це смертельний вірусний зооноз, який спричиняється ліссавірусами, переважно вірусом сказу (RABV) та, ймовірно, є найдавнішою зареєстрованою інфекцією, відомою людству [7]. Попри зусилля контролю та постійного нагляду, спорадичні та епізоотичні спалахи сказу залишаються непередбачуваними, підкреслюючи недостатність знань про те, що впливає на передавання та розповсюдження його збудника [1]. Для кращого розуміння епізоотичного процесу сказу важливо здійснювати нагляд у поєднанні з діагностикою та моделюванням поширення хвороби, а для ефективного проведення антирабічних заходів необхідно враховувати об'єктивні статистичні та географічні дані поширеності сказу [11].

У багатьох країнах застосовують ГІС, що дозволяє визначити географічну локацію кожного випадку, встановити часовий розподіл захворюваності, ви-

явити локалізацію його кластерів, напрям руху епізоотії та прогнозувати майбутні спалахи [3]. Застосування геоінформаційних систем дозволяє визначати основні зв'язки між даними щодо захворюваності у популяції певного виду тварин та їх географічним розповсюдженням, тому для нагляду за сказом важливо використовувати новітні підходи та імплементувати ГІС-технології, які можуть забезпечувати високу якість та ефективність планування й проведення протиепізоотичних заходів [10].

Оскільки нагляд за сказом в Україні здійснюється без визначення географічних координат для кожного випадку, пріоритетним є створення бази даних у всіх областях із застосуванням ГІС для виявлення особливостей поширення хвороби, визначення просторових тенденцій та наявності потенційних кластерів сказу, що буде корисним для ефективної боротьби з цим захворюванням [8].

Метою роботи було провести аналіз епізоотичної ситуації зі сказу у всіх областях України із застосуванням новітніх підходів на основі геоінформаційних технологій.

Матеріали і методи

Дані для дослідження

Для проведення аналізу було охоплено всі області України, за винятком АР Крим і окупованих Росією територій Донецької та Луганської обл.

Офіційні дані для дослідження отримані з річних звітів обласних лабораторій ветеринарної медицини Держпродспоживслужби України. Після статистичної обробки нами створено єдину національну базу даних, яка містить інформацію про: а) місце спалаху (область, район, населений пункт); б) кількість загинув тварин; в) вид тварин; г) дату підтвердження діагнозу.

Для кожного випадку сказу були визначені географічні координати (довгота і широта) із застосуванням ресурсів *GeoHack*. Отримані координати додавали в нову базу даних і адаптували її для роботи у програмі ГІС.

Оскільки дані щодо випадків сказу за весь 2019 р. у річних звітах будуть доступні лише у квітні 2020 р., то для пошуку і визначення географічних координат з кожного спалаху використовували дані попередніх років.

Загалом опрацьовано 10713 випадків (2012–2018 рр.), але у цьому дослідженні для представлення переваг застосування ГІС-технологій використовували дані 2018 р.

Просторовий аналіз

Для проведення просторово-часового аналізу використовували програмне забезпечення *Quantum GIS 3.4.6.*, що є загальнодоступною кросплатформенною ГІС (<https://www.qgis.org/ru/site/forusers/download.html>). Для ГІС-аналізу обчислювали стандартну відстань (*Standard Distance*), еліпс стандартних відхилень (*Standard Deviation Ellipse*) та ядерну оцінку щільності (*Kernel Density Estimation*). Стандартну відстань використовували для обчислення радіусу пошуку під час визначення ядерної оцінки щільності (https://docs.qgis.org/testing/en/docs/user_manual/index.html). Еліпс стандартних відхилень розраховували для визначення просторової тенденції напрямів поширення та визначення дисперсії випадків сказу. Для всіх еліпсів вибрали розмір одного стандартного відхилення, що враховує до 68 % випадків сказу від загальної кількості.

Просторовий розподіл проводили окремо для значущих груп тварин, а саме: серед домашніх м'ясоїдних — собак і котів (враховували домашніх і безпритульних), серед сільськогосподарських тварин — великої рогатої худоби (ВРХ), а серед диких — лисиць.

Для виявлення зон із високою щільністю сказу застосовували метод ядерної оцінки щільності, який конвертує точкові дані у суцільну поверхню та вказує інтенсивність подій і щільності. Усі карти були сформовані в *QGIS 3.4.6*. Векторні шари кордонів та областей України були отримані на сайті <https://www.diva-gis.org/Data>.

Результати й обговорення

Протягом 2018 р. в Україні було підтверджено 1704 випадки сказу, з яких 58 % — домашні тварини, а 42 % — дики (рис. 1). Серед домашніх тварин найбільшу захворюваність спостерігали у домашніх м'ясоїдних, переважно у котів (480 випадків — 28,2 %) та собак (427 випадків — 25 %). Серед сільськогосподарських — у ВРХ зафіксовано 136 випадків (8 %). Серед диких тварин захворюваність переважала у лисиць — 548 випадків (32,2 %).

З результатів досліджень, представлених на рис. 1, видно значне переважання захворюваності домашніх м'ясоїдних над дикими. Аналогічну тенденцію спостерігали і в попередніх роках з перманентним переважанням котів у частці захворювань сказом серед домашніх м'ясоїдних [6].

Визначення напрямку руху епізоотії сказу у найбільш значущих щодо захворюваності груп тварин (лисиць, котів, собак та ВРХ) дало можливість встановити такі закономірності і тенденції. Еліпс стандартних відхилень для випадків сказу у лисиць показав зміщення в південно-західному напрямку, що підтверджується збільшенням захворюваності у західних областях. Еліпс стандартних відхилень для випадків сказу у котів був витягнутішою форми, розташовувався у центрі України та рухався у північно-східному напрямку, що вказує на розосередженість захворюваності та переважання випадків у центральній та північній частині України. Еліпс для випадків сказу у собак, аналогічно еліпсу для котів, також зосередився у центральній частині України, але рухався у південно-східному напрямку. У цьому випадку еліпси для домашніх м'ясоїдних майже накладались. Еліпс для випадків сказу у ВРХ був компактнішим, що вказує на локалізацію епізоотії на обмежених територіях із напрямком руху епізоотії паралельно руху еліпсів для домашніх м'ясоїдних (рис. 2).

За проведення ядерної оцінки щільності захворювання на сказ для диких тварин суттєвою особливістю виявилась концентрація максимальної захворюваності в західних областях України. З результатів досліджень (рис. 3А) видно, що ізолінії чітко окреслюють межі епізоотії сказу в дикій природі, які охоплюють з однаковою інтенсивністю всю територію Вінницької (менше на кордоні із Молдовою) та Хмельницької обл., південну частину Житомирської обл. та південно-східну частину Чернівецької обл. (на кордоні із Молдовою), з меншою інтенсивністю — майже всю Тернопільську обл., центральну частину Житомирської та Кіровоградської обл.

Крім згаданих «гарячих точок», епізоотії сказу в дикій природі локалізувались у південно-західній частині Закарпатської обл. (на кордоні з Угорщиною), на перетині Львівської, Івано-Франківської та Тернопільської обл., на межі між Рівненською та Хмельницькою обл., у північно-західній частині Чернігівської обл. (на кордоні із Білоруссю), центральних частинах Сумської та Черкаської обл., на межі Дніпропетровської з Кіровоградською та Запорізькою та переважній частині Запорізької обл. У інших частинах України епізоотії сказу серед диких тварин реєструвались рідко. Зазначимо, що найменша щільність була зафіксована на території Полтавської обл.

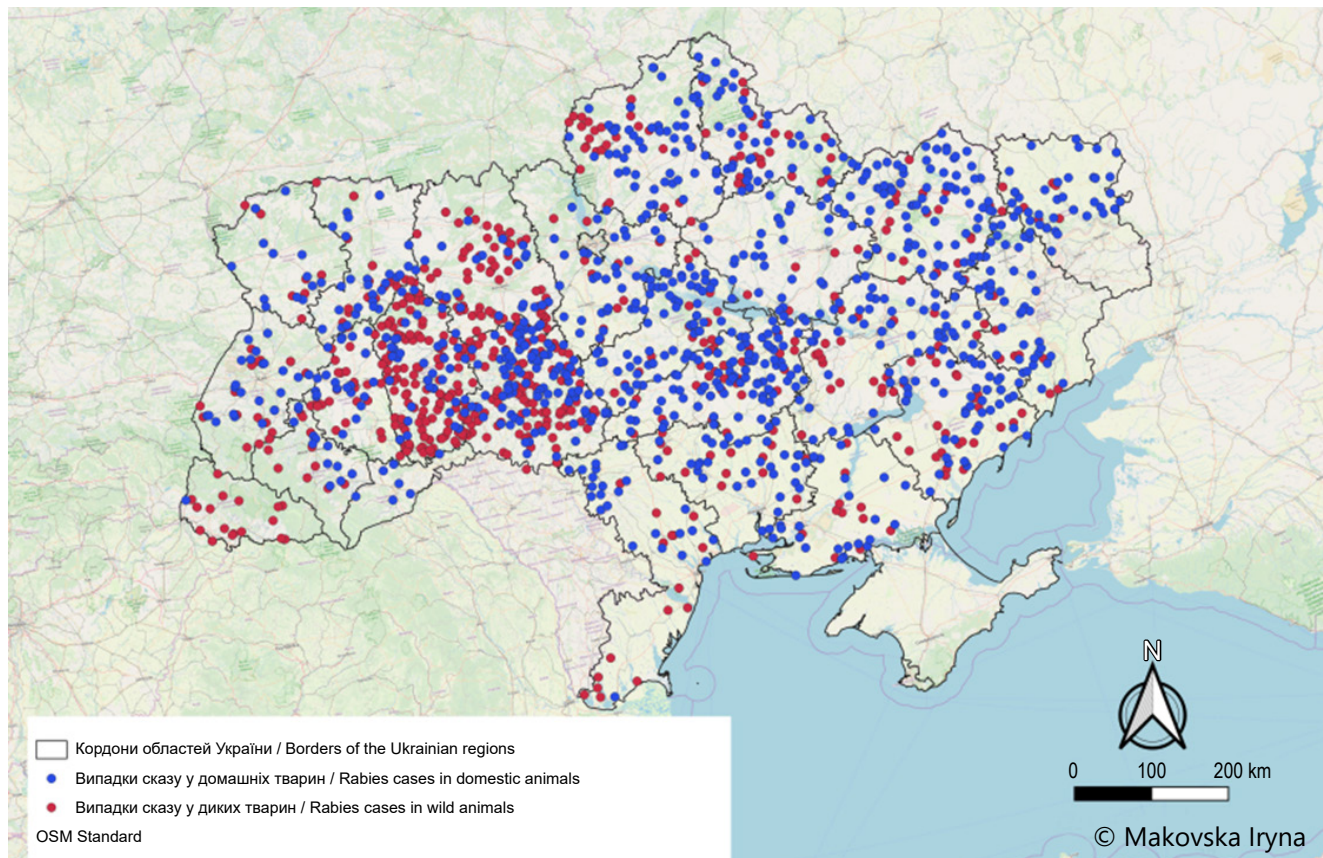


Рис. 1. Поширення захворювання на сказ серед домашніх та диких тварин в Україні протягом 2018 р.

Fig. 1. The spread of rabies among domestic and wild animals in Ukraine during 2018

Таку епізоотичну ситуацію можна пояснити різним ступенем ефективності кампаній з пероральної вакцинації, яку проводили вибірково лише у певних областях України, що було пов'язано з браком коштів та не враховувало надмірну щільність популяції лисиць [5]. Подібні висновки можна прочитати у роботах інших вчених [4, 8].

Проведення ядерної оцінки щільності випадків сказу серед домашніх тварин (рис. 3Б) показало, що епізоотія сказу охопила майже всі області України. Найвищу щільність сказу спостерігали також у Вінницькій обл., але у північно-східній її частині, особливо на межі із Київською обл., а також у північно-східній частині Черкаської та Кіровоградської обл. Менше були уражені Запорізька, Донецька, Луганська та Харківська обл. (поблизу кордонів з Росією). У всіх інших областях зафіксовано середню щільність випадків сказу. Найнижча щільність була встановлена на території Закарпатської та південної частини Одеської обл. За даними різних вчених, поширення сказу серед домашніх тварин на всій території України пов'язане з надзвичайно високою чисельністю популяції собак і котів — як домашніх, так і безпритульних, та низьким відсотком їх вакцинації [2].

За порівняльного аналізу залежності інтенсивності ураження сказом від сезонності із застосуванням методики ядерної оцінки щільності було встановлено (рис. 4) найвищу щільність у першому кварталі 2018 р. на території північно-східної частини Вінницької обл., у центральній частині Кіровоградської та на території східних областей.

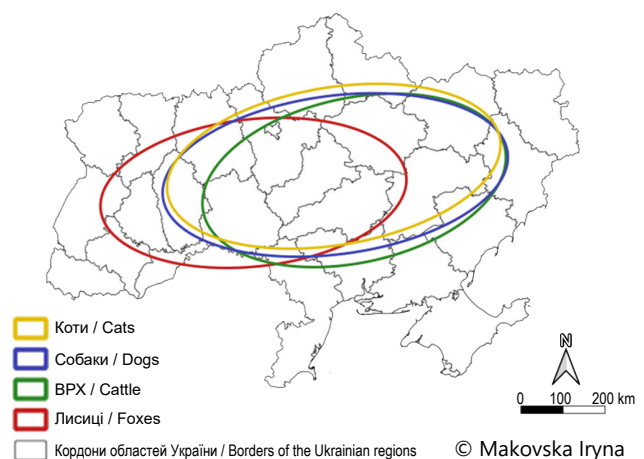


Рис. 2. Еліпси стандартних відхилень для диких та домашніх тварин в 2018 р.

Fig. 2. Standard Deviation Ellipses for wild and domestic animals in 2018

У другому і третьому кварталах зафіксовано незначні ураження тварин сказом на всій території України з переважанням у центральних областях. У четвертому кварталі найвищу щільність спостерігали на території всієї Хмельницької та північно-західної частини Вінницької обл. Оскільки у попередньому аналізі ми встановили, що на цих територіях сказ переважає серед лисиць, а у східних областях сказ переважував серед домашніх тварин,

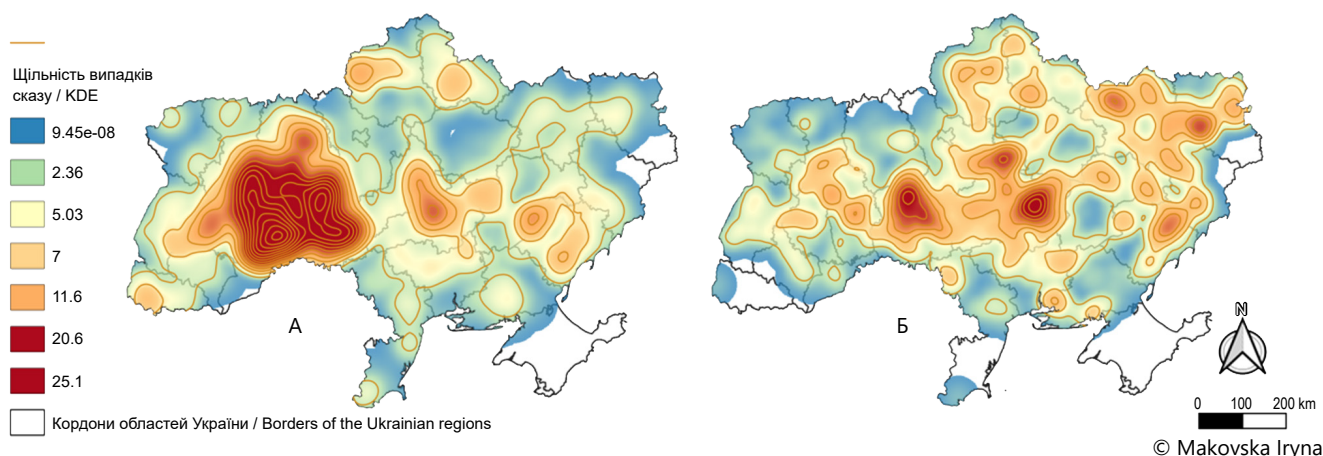


Рис. 3. Щільність випадків сказу серед диких (А) та домашніх (Б) тварин в Україні в 2018 р.

Тут і далі: червоним кольором позначено території із найвищою щільністю, блакитним — із найнижчою

Fig. 3. Density of rabies cases among wild (A) and domestic (B) animals in Ukraine in 2018.

Here and further: the highest density areas are highlighted in red, the lowest density areas are blue

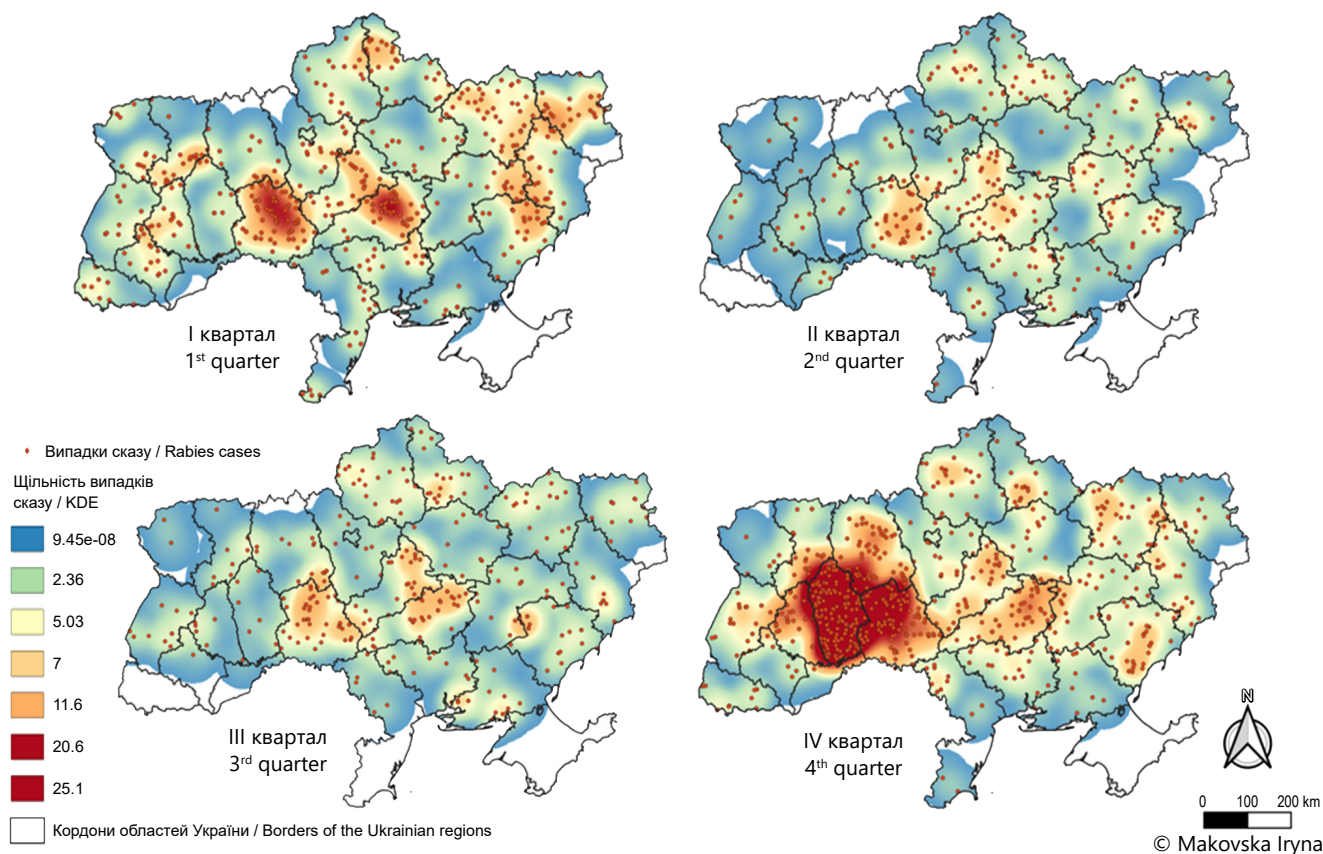


Рис. 4. Щільність випадків сказу серед всіх видів тварин за кварталами 2018 р.

Fig. 4. Density of rabies cases among animals in Ukraine in quarters of 2018

можна стверджувати, що в лисиць сказ найбільше проявляється у четвертому і першому кварталах, а в домашніх тварин — у першому кварталі 2018 р. Подібні висновки з огляду на сезонність поширення сказу серед різних видів тварин відображені в роботах інших вчених [2, 9].

Таким чином, глибше розуміння епізоотичного процесу сказу, періодів підйому і спаду епізоотій дозволить планувати й проводити вакцинацію в найбільш точні часові проміжки.

Висновки

Дослідження показало ефективність запровадження новітніх підходів для проведення аналізу епізоотичної ситуації щодо сказу, результати якого доцільно використовувати для вдосконалення системи нагляду та контролю сказу.

Імплементация ГИС замість класичного картографування дозволяє встановити: а) напрямки руху

епізоотій; б) видову геолокацію; в) динамічну візуалізацію; г) залежність від сезонності; д) території з найбільшим та найменшим ступенем ураження залежно від виду тварин не лише в межах областей, а й вздовж кордонів України, що значно спрощує розробку планування протиепізоотичних заходів.

Вважаємо, що на основі описаних підходів в Україні повинна формуватися національна програма контролю за сказом тварин.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження будуть скеровані на визначення кластерів захворювання для всіх видів тварин, побудову математичної моделі та прогнозування поширення сказу в Україні.

1. Fisher CR, Streicker DG, Schnell MJ. The spread and evolution of rabies virus: conquering new frontiers. *Nature Reviews Microbiology*. 2018; 16(4): 241–255. DOI: 10.1038/nrmicro.2018.11.
2. Kornienko LE, Moroz OA, Mezhenko AO, Skorokhod SV, Datsenko RA, Karpulenko MS, Polupan IM, Dzyuba YM, Nedosekov VV, Makovskaya IF, Hibaliuk YO, Sonko MP, Tsarenko TM, Pishchanskyy OV. Epizootological and epidemiological aspects for rabies in Ukraine for the period from 1999 to 2018. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*. 2019; 3: 90–109. DOI: 10.31890/vtp.2019.03.14.
3. Lourenço A, Carneiro S, Ferreira EC, Carreira R, Rocha LM, Glez-Peña D, Méndez JR, Fdez-Riverola F, Díaz F, Rocha I, Rocha M. Biomedical text mining applied to document retrieval and semantic indexing. In: *Distributed Computing, Artificial Intelligence, Bioinformatics, Soft Computing, and Ambient Assisted Living*. Proceedings of 10th International Work-Conference on Artificial Neural Networks, IWANN 2009 Workshops, Part II, Salamanca, Spain; 2009: 954–963. DOI: 10.1007/978-3-642-02481-8.
4. Maki J, Guiot AL, Aubert M, Brochier B, Cliquet F, Hanlon CA, King R, Oertli EH, Rupprecht CE, Schumacher C, Slate D, Yakobson B, Wohlers A, Lankau EW. Oral vaccination of wildlife using a vaccinia–rabies–glycoprotein recombinant virus vaccine (RABORAL V-RG®): a global review. *Veterinary Research*. 2017; 48(1): 57. DOI: 10.1186/s13567-017-0459-9.
5. Makovska IF, Nedosekov VV, Kornienko LY, Novokhatny YO, Nebogatkin IV, Yustyniuk VY. A retrospective analysis of the spread of rabies in Ukraine (1950–2019). *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*. 2020; 8(1): 36–49. DOI: 10.32819/2020.81007. (in Ukrainian)
6. Makovska IF, Nedosekov VV, Polupan IM, Latmanizova TS. Distribution trend rabies in cats in Ukraine. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*. 2018; 20(92): 18–23. DOI: 10.32718/nvvet9204.
7. Picot V, Rasuli A, Abella-Rider A, Saadatian-Elahi M, Aikim-bayev A, Barkia A, Benmaiz S, Bouslama Z, De Balogh K, Dehove A, Davlyatov F, Farahtaj F, Gongal G, Gholami A, Imnadze P, Issad M, Khoufi S, Nedosekov V, Rafila A, Rich H, Soufi A, Tuychiev J, Vranjes N, Vodopija R, Zaouia I, Nel L. The Middle East and Eastern Europe rabies Expert Bureau (MEEREB) third meeting: Lyon-France (7–8 April, 2015). *Journal of Infection and Public Health*. 2017; 10(6): 695–701. DOI: 10.1016/j.jiph.2017.03.005.
8. Polupan I, Bezymennyi M, Gibaliuk Y, Drozhzhe Z, Rudoi O, Ukhovskiy V, Nedosekov V, De Nardi M. An Analysis of rabies incidence and its geographic spread in the buffer area among orally vaccinated wildlife in Ukraine from 2012 to 2016. *Front. Vet. Sci*. 2019: 1–13. DOI: 10.3389/fvets.2019.00290.
9. Polupan I, Bezymennyi M, Golik M, Drozhzhe Z, Nychyk S, Nedosekov V. Spatial and temporal patterns of enzootic rabies on the territory of Chernihiv region of Ukraine. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*. 2017; 3(2): 31–36. Available at: <http://jvmbbs.kharkov.ua/archive/2017/volume3/issue2/article6.php>
10. Robertson C. Towards a geocomputational landscape epidemiology: surveillance, modelling, and interventions. *GeoJournal*. 2017; 82(2): 397–414. DOI: 10.1007/s10708-015-9688-5.
11. Ulugtekin N, Alkoy S, Seker DZ, Goksel C. Use of GIS in epidemiology: a case study in Istanbul. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 2006; 41(9): 2013–2026. DOI: 10.1080/10934520600780636.

New approaches to the analysis on epizootic situation of rabies in Ukraine

I. F. Makovska

iryna.makovska@nubip.edu.ua

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,

16 Polkovnyka Potykhina str., Kyiv, 03041, Ukraine, dekanat_vetmed@nubip.edu.ua

The priorities of study the epizootic process of any zoonoses should conduct the analysis using new approaches and technologies in developed countries of the world. Since geographic information systems (GIS) are a tool for collecting data from many sources by various methods that, unlike to standard mapping, can organize, store, retrieve, analyze, model, present spatial data and generate forecasts, our goal was to analyze the epizootic situation of rabies in Ukraine using geo-information technologies. To achieve this goal, we needed to collect rabies incidence data, determine the longitude and latitude of geographic coordinates for each case, create a database of all rabies cases and adapt it to run QGIS software. GIS was used for dynamic models in which the spatial distribution of rabies cases for different animal species varied over successive time frames. The use of GIS, unlike classical mapping, allowed the establishment of the epizootic movement directions, species geolocation, dynamic visualization, seasonality dependence, and the identification of the areas with the highest and lowest degree of infected depending not only on the region, but also within the species of each district. In this case, the determination of the epizootic, movement directions showed a move in the east direction for the domestic animals and in the west direction for the wild animals. Identification of the areas with the highest and lowest infected of rabies made it possible to establish that the highest the concentration of rabies cases among wild animals were observed in the Khmelnytskyi and Vinnytsia regions and the lowest was in the Poltava region. Among domestic animals, the highest incidence of rabies occurred in the north-eastern part of the Vinnytsia region, especially on the border with the Kyiv region, as well as in the northeastern part of the Cherkasy and Kirovograd regions, and the lowest in the territory of the Transcarpathian and southern parts of the Odesa region. Thus, the establishment of zones of greatest infected with rabies, understanding the periods of ups and downs of epizootics, the establishment of species the specificity of each region will provide qualitative and effective planning and carrying out control measures in the territory of all regions of Ukraine.

Key words: rabies, geoinformation technologies, epizooty, database, GIS analysis, visualization

Makovska IF. New approaches to the analysis on epizootic situation of rabies in Ukraine. *Biol. Tvarin*. 2020; 22(1): 31–35. DOI: 10.15407/animbiol22.01.031.



Flight activity of bee colonies at *Acer* spp. bee pollen collection

N. I. Martseniuk, L. O. Adamchuk, O. I. Akulonok

leonora.adamchuk@gmail.com

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

The aim of the research was to investigate the flight activity of bee colonies during *Acer* spp. flowering, as a source of monofloral bee pollen. To achieve this goal the following tasks were set: to investigate the intensity of flight of bees during flowering of maples; to estimate the condition of bee colonies by the strength and quantity of brood after feeding with the elements of training for feed; to establish the pollen productivity of bee colonies during *Acer* spp. flowering. The common zootechnical methods of forming the analogue groups were used (control — standard maintenance; experiment — feeding with maple pollen); pollen productivity of bee colonies was evaluated by the amount of products received; the botanical origin of the bee pollen was determined by pollen analysis. It was found that the flight intensity of bees of the experimental group was higher than the control during the first accounting by an average of 38.5 %, the second by 30.0 % and the third by 19.4 %. According to the number of open and sealed broods, the experimental colonies outweighed the controls by 0.5 and 1 honeycomb at the first count and by 0.5 — at the second; by the amount of forage by 0.5 honeycomb at the first count and by 1 — at the second. The experimental colonies were found to have higher pollen productivity. The daily volume of yields in the experimental colonies ranged from 64 to 97 g with a maximum coefficient of variation of 9.6 %, and in controls — from 90 to 135 g, with a variation of 14.4 %. This suggests that the more flying bees are there in a colony, the more different work they do (collecting nectar, pollen, propolis, water), which can affect productivity over time. It has been established that stimulating feeding and training of bees have a positive effect on the increase in the pollen productivity of colonies. The average daily pollen productivity of the bee colonies of the experimental group was 104.3 g, and the control one — 79.3 g, which is less by 24 %. The weight of the raw pollen received was 2.7 kg from the experimental group and 2.1 kg from the control group, which is 22.2 % less. The difference in weight of the total collection was also caused by the larger mass of a single pollen clump out of the monofloral gathering, which outweighed the polyfloral (control group) by 28 %. Therefore, stimulating feeding of bee colonies with sugar dough with maple pollen increases their pollen productivity on harvesting monofloral bee pollen during *Acer* spp. flowering.

Key words: pollen, bee pollen, feeding, *Acer*, pollen productivity, bee training

Bee pollen is a product of plant and animal origin. The basis of its composition is a set of pollen grains (flower pollen) mainly of angiosperms, which are their male germ cells (gametophytes). Bees collect pollen, add to it the secret of salivary glands and moisten with nectar, thus forming a lump of pollen grains in a special attachment on the rear legs (basket for collecting pollen) [1].

Beekeepers began to select bee pollen by using special devices with lattices that were mounted on the entrance. For the first time such devices were invented and applied in America in 1930–1932 by practitioner beekeeper Eckhart [13]. The first pollen collectors were released in the fifties by the American company “Dadan”. The device was completely metal

and heavy [6]. The principle of their work was that the bee passing through the lattice would leave a pollen lump outside. Because the openings were such that the bee could pass without the burden of pollen. This principle is still used today in all designs of modern pollen collectors. The first patent on the pollen collector lattice is owned by [1, 6].

Today, the technology for the production of bee pollen has been developed. Most of the scientific work on the development of this technology belongs to the prominent figure of Ukrainian beekeeping — Viktor Polishchuk [6]. The doctrine of the behavior of bees during the collection of forage belongs to Levchenko (1976) [5].

It is known [1, 5, 8, 7, 10, 11] that pollen productivity of colonies is influenced by many factors. They can be

divided into internal and external. Internal include those related to the conditions of development and functioning of the colony — strength, number of broods, microclimate and others. Thus, [5] investigated the effect of colony strength and bee-flying intensity on the mass of the bee. According to her findings, the amount of harvested bee pollen depends on the strength of the colony and the ratio of different bees age; in April, the mass of gathered the bee pollen is lower than in May, which is explained by the lower strength of colonies.

The correlation between the morphological features of the body of the bee and bee pollen is established. The age of bees involved in pollen collecting activities also matters. After all, bees comb pollen grains from the hairs that cover exoskeleton. With age, the bee loses its hairline. In addition, in different parts of the body of the bee, the hairs have a different structure, so they accumulate pollen grains not equally [1, 14]. It has been investigated [12] that selection of bee pollen affects the number of broods and, accordingly, the development of bee colonies.

At the same time, the topic of obtaining monofloral bee pollen is not fully disclosed. Earlier, the Department of Horse Breeding and Beekeeping of NULES of Ukraine investigated the morphological features of the monofloral bee pollen from *Acer* species [9] and established the possibility of obtaining it in commodity volumes. Therefore, the studies concerning the development of technology for obtaining monofloral bee pollen, the forage conditions for its collection, the behavior of bees during collection, are relevant.

The aim of the study was to investigate the flight activity of bee colonies during the flowering of *Acer* spp. as a source of monofloral bee pollen. To achieve this goal, the following tasks were set: to investigate the intensity of bee flight during *Acer* spp. flowering; to estimate the status of bee colonies by the strength and amount of brood after feeding with training feed elements; to establish the pollen productivity of bee colonies during *Acer* spp. flowering.

Materials and Methods

The studies were conducted in February-May 2019 in the conditions of the laboratory "Holosiivskyi educational and research apiary" on bee colonies of Ukrainian breed, which were kept in multi-body hives within 10 standard honeycombs. The tasks set were solved experimentally using zootechnical (alignment and assessment of the status of bee colonies, their flight activity and pollen productivity, assessment of bee pollen on classification grounds), microscopic (pollen analysis) and statistical methods of investigation.

Zootechnical research methods consisted of comparing the data obtained from the analogous groups of bee colonies (three colonies each). The control group is classic retention, without the use of feeding. Experimental group — classic retention + protein-carbohydrate feeding with elements of training bees to smell. Other factors for the two groups were the same (nature and climate, forage). **Training of bees** was carried out by the standard technique using sugar-pollen dough with monofloral pollen of *Acer* spp. [4]. Pollen productivity of bee colonies was evaluated by the number of products obtained using common methods [4].

The selection of bee sting from bee colonies began on 01.05.19, with the beginning of flowering of maple trees (*A. platanoides*, *A. campestre*, *A. tataricum*) and finished accounting with its ending on 26.05.19. The product was selected daily and weighed in the native form. After that, it was sent to the "Sadochok" dryer for 12 hours. The obtained bee pollen from control and experimental colonies was stored separately for further evaluation.

To determine the botanical origin of bee pollen, a pollen analysis technique (methods of melissopalynology [15]) and a pollen grains classifier developed at the Department of Horses and Beekeeping of NULES of Ukraine were used [3, 4]. Assessment of bee pollen by classification characteristics was performed according to previously established data [2].

The data obtained were statistically processed.

Results and Discussion

Observations on the bee colonies of the control and experimental groups revealed rapid development as a result of the feeding used. It was found that the intensity of flight work in control and experimental colonies was different (table 1).

Table 1. Intensity of flight activity of bees (n=3)

The number of bees that returned with pollen in 5 minutes				
Groups	Accounting time	Date		
		01.05	10.05	20.05
Control	08:00	94,1±10,24	118,2±6,20	132,2±7,12
	12:00	77,3±8,17	99,1±5,15	102,3±6,22
	15:00	15,2±6,10	30,3±7,11	47,2±4,08
	Average per day	62,20	82,53	93,90
Experimental	08:00	128,1±7,21	140,3±8,13	134,1±8,07
	12:00	119,3±5,16	125,2±6,23	130,3±7,18
	15:00	56,2±5,09	88,1±9,19	85,1±9,14
	Average per day	101,20	117,87	116,50

For three counts, a general trend of higher flight activity in the morning was observed, falling to the second half of the day. This is probably due to the functioning and secretion of nectaries, which were filled with secretions until midday and worker switched to gathering carbohydrate forage. In general, the flight intensity of the bees of the experimental group outweighed the control throughout the collection period of the bee's leg. Namely, during the first accounting by an average of 38.5 %, the second — by 30.0 % and the third — by 19.4 %. The decrease in the difference of the flight activity between experimental and control groups may be due to the fact that the bees of the colonies of control group began to even out in strength as a result of the accumulation of natural forages in the nests. This fact can be traced to the dynamics of the average daily flight performance of both groups (fig. 1).

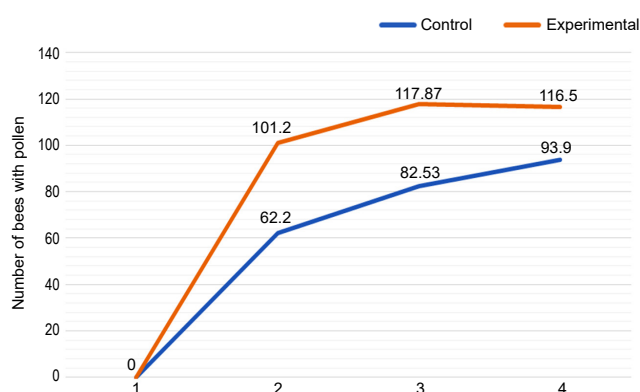


Fig. 1. Dynamics of bee flight activity during beekeeping selection

Fig. 1 shows that the average daily flight activity of the bees of the control group improved at the end of the bee collection period, which may indicate the impact of an increase in the feed base due to natural sources. At this time a large number of pollen-bearing plants began to bloom. Naturally, the bee colonies that were trained to collect pollen from maple trees were only focused on this species. And the colonies of the control group increased the number of flights by visiting different species of plants in the area of productive flight of bees.

The assumptions about the reason for the decrease in the difference between the flight performance of experimental and control groups were confirmed during the control inspection of the colonies. Thus, at the end of the bee pollen collection period, the control and experimental group colonies aligned in strength (table 2).

Table 2. Assessment of the status of bee colonies during flowering of *Acer* species

Indicator	Control			Experimental		
	1	2	3	4	5	6
for 10.05						
Strength of colonies, bee space	8	8	8	10	10	10
Open brood, combs	3	3	3	3.5	3.5	3.5
Sealed brood, combs	2	2	2	3	3	3
Fodder combs, pcs.	3	3	3	3.5	3.5	3.5
for 20.05						
Strength of colonies, bee space	10	10	10	10	10	10
Open brood, combs	3	3	3	3.5	3.5	3.5
Sealed brood, combs	3	3	3	3.5	3.5	3.5
Fodder combs, pcs.	4	4	4	3	3	3

Thus, during the second control inspection of colonies of the control group, their strength increased by 2 combs compared to the results of the first control inspection. In terms of number of broods opened and sealed, the experimental colonies outweighed the controls by 0.5 and 1 cell at the first control inspection and by 0.5 cells at the second. In terms of the number of feeds, experimental colonies outperformed the controls by 0.5 cells in the first accounting and 1 in the second.

Thus, we determined that the intensity of flight activity of bees depends on the strength of colonies and the amount of brood in the nest. This conclusion is in line with Ivanova's statements (2011) [1].

In the control colonies, where the numbers of open and sealed broods increased, there was a tendency towards the increase in flight activity. On the other hand, in experimental colonies, where the strength of colonies was the same throughout the accounting period, at the end of the flowering maple, flight activity decreased.

However, comparing the quantitative indicators of the gathered bee pollen, it has been found that the more brood there is in the colony, the more protein feed is collected by bees. The results of the bee colonies pollen productivity are presented in table 3.

Table 3. Pollen productivity of bee colonies during flowering of *Acer* species, g

Date	Control			Experimental		
	1	2	3	4	5	6
01.05	80	90	96	90	90	93
02.05	76	83	77	92	94	90
03.05	80	85	82	98	98	100
04.05	79	68	82	90	98	90
05.05	85	68	76	90	94	96
06.05	81	90	83	90	90	98
07.05	82	80	79	120	104	115
08.05	80	72	85	100	102	104
09.05	67	84	69	126	134	128
10.05	96	79	83	135	103	101
11.05	84	80	82	114	100	106
12.05	85	77	73	102	115	120
13.05	89	84	88	129	100	130
14.05	75	85	78	121	117	103
15.05	70	71	80	101	109	105
16.05	80	80	66	135	130	112
17.05	69	74	82	103	104	101
18.05	85	68	78	119	120	127
19.05	79	82	74	100	110	102
20.05	65	87	75	118	105	125
21.05	83	78	97	90	96	94
22.05	72	80	70	90	92	90
23.05	80	80	84	100	95	97
24.05	73	86	85	98	101	90
25.05	80	91	75	92	94	90
26.05	64	70	72	95	100	99
X±s	78.4± ±1.47	79.7± ±1.37	79.7± ±1.44	105.3± ±2.97	103.7± ±2.25	104.1± ±2.51
Cv, %	9.6	8.8	9.2	14.4	11.1	12.3
Lim	64→96	68→91	66→97	90→135	90→134	90→130

Note. X — the average of the sample; s — the standard error; Cv — correlation coefficient; Lim — the boundaries of the smallest and largest sample values.

Table 3 shows that the experimental colonies had higher pollen productivity, which fluctuated more in their indicators by day, as indicated by the coefficient of variation. Thus, in the experimental colonies, the daily volume of gathered bee pollen was from 64 g to 97 g with a maximum coefficient of variation of 9.6 %, and in control colonies — from 90 g to 135 g, with a variation of 14.4 %. This suggests that the more flying bees the colony has, the more different work they do (such as collecting nectar, pollen, propolis, water), which can change performance over time and cause a higher coefficient of variation.

The dynamics of averaged pollen productivity of bee colonies of control and experimental groups are shown in fig. 2.

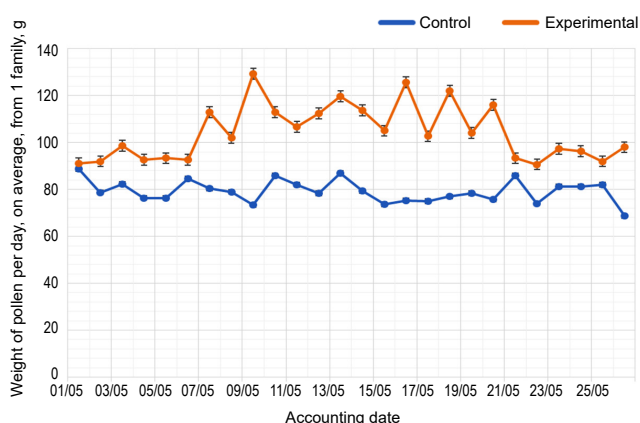


Fig. 2. Dynamics of pollen productivity of control and experimental groups during flowering of *Acer* species

As a result of the obtained data, it can be argued that the methods of increasing pollen productivity, namely carbohydrate protein feeding with odor training elements, have a positive effect on the increase of flight activity and as a consequence of the bee colonies' pollen productivity. Thus, the average daily pollen productivity of bee colonies of the experimental group was 104.3 g, and the control one — 79.3 g, which is 24 % less.

According to the results of the evaluation of bee pollen on classification grounds, the obtained product had significant differences. Thus, the mass of the collected native bee pollen during the whole accounting period was 2.7 kg from the experimental group and 2.1 kg from the control, which is less by 22.2 %. After drying of the product, the mass of the pollen decreased equally in both groups by 20 %, regardless of the species' botanical diversity. However, taking into account the average weight of one pollen lump, it differed (table 4).

Table 4 shows that the monofloral bee pollen outweighed the polyfloral obtained from the control group by an average of 28 % in terms of the weight of the pollen lump. This may be due to the fact that the total pollen collection had less formed pollen lumps or of lower weight as a species feature got into it. As well as the density of pollen lump formation and morphological structure of pollen grains.

Table 4. Classification indicators of bee pollen (n=100)

Indicator	Control	Experimental
Weight of one pollen lump, mg	9.1±1.74	12.6±0.92
Species of pollen-bearing plants	forest grass, trees, shrubs	trees of the <i>Acer</i> species
Botanical origin	forest	of <i>Acer</i> species
Season	spring	
Homogeneity	homogeneous	
Polyflora, %	polyfloral	monofloral, 90
Formation, points	2–5	5

As a result of pollen analysis, the bee pollen obtained from the control group was polyfloral, some pollen lumps had a botanical origin from forest plants, namely, grasses — anemones, garlic, nettle, wheat; bushes — barberry, white turf, trees — oak, ash, alder, maple. Because of this, within one pollen lump, it was homogeneous, that is, the pollen belonged to one type of plant. The bee pollen of the study group was homogeneous, with a monoflority of 90 %. The results of the assessment by formation showed that the pollen lumps of the bee pollen of the control group differed in the degree of formation depending on the botanical origin. In this case, the largest sizes were characterized by pollen clumps of maple and oak.

Conclusions

Flight activity of bee colonies at bee gathering is increased due to carbohydrate protein supplementation by an average of 29.3 % and dust efficiency by 24 %. Feeding bee colonies with training elements ensured the flight of bees to a specific species of plants and obtaining a 90 % monofloral product.

Prospects for Further Research

The prospects for further research are to investigate the technological conditions for obtaining monofloral bee stalk from other plant species.

Acknowledgments

Author Leonora Adamchuk thanks the International Visegrad Fund ID #51910842 for the scholarship and research internships, during which the results and knowledge presented in this paper were obtained. The publication was prepared with the active participation of researchers involved in the International network AgroBioNet of the Institutions and researchers for realization of research, education and development program "Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality" TRIVE (ITMS 26110230085).

1. Adamchuk LO. Bee pollen: a monograph. Kyiv, Vinnychenko Publishing House. 2017: 138 p. (in Ukrainian)
2. Adamchuk L. Classification features of bee pollen. *Animals of Ukraine*. 2013; 5: 16–21. (in Ukrainian)
3. Brovarskyi VD, Adamchuk LO. Classification of pollen grains by morphological features. *Bioresources and Nature Management*. 2011: 1–2. (in Ukrainian)
4. Brovarskyi V, Brindza J, Otchenashko V, Povolnikov M, Adamchuk L. *Methods of Research in Beekeeping*: a textbook. Kyiv, Vinichenko Publishing House. 2017: 166 p. (in Ukrainian)
5. Ivanova VD, Kyiashko SI. Improvement of bee pollen production technology. *Bulletin of Agrarian Science of the Black Sea*. 2011; 1(4): 31–34. (in Ukrainian)
6. Kayyas A. *Pollen: collection, properties, application*. Bucharest, 1968: 85 p. (in Russian)
7. Levchenko IA. *The transfer of information about the coordinates of the source of food in honey bees*. Kyiv, Naukova Dumka publ. 1976: 452 p. (in Russian)
8. Mishchenko OA. Impact of beekeeping selection on the development and flight activity of bee colonies. *Animal Husbandry and Food Technology*. 2015; 223: 51–55. (in Ukrainian)
9. Novytska A, Adamchuk L, Nikolaieva N. *Acer* L. bee pollen morphological features. *Animal Husbandry and Food Technology*. 2017; 250: 147–157.
10. Polatto LP, Chaud-Netto J, Alves-Junior VV. Influence of abiotic factors and floral resource availability on daily foraging activity of bees. *Journal of Insect Behavior*. 2014; 27(5): 593–612. DOI: 10.1007/s10905-014-9452-6.
11. Polishchuk VP, Haidar VA. *Apiary*. Kyiv, Perfect Style. 2008: 345 p. (in Ukrainian)
12. Razanov SF, Hutsol HV. Development of bee colonies for production of bee pollen and bee bread. *Collection of Scientific Works of VNAU*. 2013; 1(71): 108–111. (in Ukrainian)
13. Room D. Karl von Frisch and the 'spot codes' for marking insects. *Bee world*. 1989; 70(3): 120–126. DOI: 10.1080/0005772X.1989.11099002.
14. Tepedino VJ, Sipes SD, Griswold TL. The reproductive biology and effective pollinators of the endangered beardtongue *Penstemon penlandii* (Scrophulariaceae). *Plant Systematics and Evolution*. 1999; 219(1–2): 39–54. DOI: 10.1007/BF01090298
15. Von Der Ohe W, Oddo LP, Piana ML, Morlot M, Martin P. Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*. 2004; 35(1): S18–S25. DOI: 10.1051/apido:2004050.

Льотна діяльність бджолиних сімей на зборі бджолиного обніжжя з роду *Acer* L.

Н. І. Марценюк, Л. О. Адамчук, О. І. Акулюнок
leonora.adamchuk@gmail.com

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони, 15, оф. 207, Київ, 03041, Україна

Метою було дослідження льотної діяльності бджолиних сімей під час цвітіння *Acer* L. як джерела монофлорного обніжжя. Для досягнення мети було поставлено завдання: дослідити інтенсивність льоту бджіл під час цвітіння кленів; оцінити стан бджолиних сімей за силою та кількістю розплоду після підгодівлі з елементами дресирування на корм; встановити пилкопродуктивність бджолиних сімей під час цвітіння *Acer* L. Використовували загальноприйняті зоотехнічні методи формування груп-аналогів (контроль — стандартне утримання; дослід — підгодівля пилком з клену); пилкову продуктивність бджолиних сімей оцінювали за кількістю отриманої продукції; ботанічне походження бджолиного обніжжя визначали методом пилкового аналізу. Встановили, що інтенсивність льоту бджіл дослідної групи була вищою за контрольну під час першого обліку в середньому на 38,5 %, другого — на 30,0 % і третього — на 19,4 %. За кількістю відкритого і запечатаного розплоду дослідні сім'ї переважали контрольні на 0,5 і 1 стільник при першому обліку і на 0,5 — при другому; за кількістю кормів на 0,5 стільника при першому обліку і на 1 — при другому. Встановили, що дослідні сім'ї мали вищу пилкову продуктивність. Щоденний об'єм принесеного обніжжя у дослідних сім'ях знаходився у межах від 64 г до 97 г з максимальним коефіцієнтом варіації 9,6 %, а у контрольних — від 90 г до 135 г, з варіацією 14,4 %. Це дає підставу припустити, що чим сім'я має більше льотної бджоли, тим більше різної роботи вони виконують (збір нектару, пилку, прополісу, води), що може впливати на зміну показників продуктивності за певний період. Визначили, що стимулююча підгодівля і дресирування бджіл, мають позитивний ефект на збільшення пилкопродуктивності сімей. Середньодобова пилкопродуктивність бджолиних сімей дослідної групи становила 104,3 г, а контрольної — 79,3 г, що менше на 24 %. Маса сирого зібраного обніжжя за весь період становила 2,7 кг від дослідної групи і 2,1 кг від контрольної, що на 22,2 % менше. Різниця у вазі загального збору спричинена також більшою масою окремої пилкової грудочки монофлорного збору, що переважало поліфлорне (контрольної групи) на 28 %. Отже, стимуляційна підгодівля бджолиних сімей цукровим тістом з кленовим пилком, збільшує їх пилкопродуктивність на збиранні монофлорного бджолиного обніжжя під час цвітіння *Acer* L.

Ключові слова: пилко, бджолине обніжжя, підгодівля, *Acer*, пилкопродуктивність, дресирування бджіл



Продуктивні ознаки кролів за промислового схрещування порід «полтавське срібло», «радянська шиншила» та «новозеландська біла»

О. В. Бойко, О. Ф. Гончар, І. С. Лучин

Luchin60@ukr.net

Черкська дослідна станція біоресурсів НААН,
вул. Пастерівська, 76, м. Черкаси, 18036, Україна, bioresurs.ck@ukr.net

Метою роботи було обґрунтування схем схрещування кролів у популяції «полтавське срібло» з використанням порід «радянська шиншила» і «новозеландська біла» та отримання помісного поголів'я молодняку для інтенсифікації кролівництва. Для дослідження було підібрано методом пар-аналогів три групи кролематок породи «полтавське срібло» (ПС) по 15 голів у кожній. Кролематок контрольної групи (К) породи ПС запліднювали самцями цієї ж групи. Самців II дослідної групи породи ПС запліднювали самцями породи «радянська шиншила» (РШ). Кролематок III дослідної групи породи ПС запліднювали самцями «новозеландська біла» (НБ). Молодняк, отриманий від контрольної і дослідних груп, формували за принципом аналогів у три групи по 20 голів і у віці 35 діб оцінювали екстер'єрні та м'ясні показники. Проведене дослідження засвідчило, що схрещування позитивно впливає на відтворювальні якості кролематок, особливо в поєднанні самок породи ПС з самцями РШ. Встановлено, що кролематки II дослідної групи характеризувалися вищими показниками багатоплідності, великоплідності, молочності, кількості відлучених кроленят та масою гнізда кроленят, відлучених у віці 35 діб. Більший комбінаторний вплив на відтворні якості кролематок мало поєднання самок породи ПС з самцями породи РШ. За відгодівельними і особливо за м'ясними та забійними показниками переважав помісний молодняк кролів походження ПС та НБ.

Ключові слова: кролі, схрещування, відтворювальна здатність, екстер'єрні та забійні показники

Покращення наявних генотипів кролів та створення нових, продуктивніших порід залишаються актуальними питаннями. Для успіху селекційного процесу необхідно отримувати бажані генетичні зміни та нагромаджувати їх у низці поколінь вибраною системою технологій селекції, годівлі та утримання [2, 1, 7, 8, 11].

Інтенсифікація виробництва кролятини залежить від кількості та живої маси кроленят при народженні, збереженості гнізда, інтенсивності росту та рентабельності промислового виробництва кролятини [2, 14]. Чим більше ознак враховують при відборі у кролівництві, тим менший ефект може бути досягнутий. Тому спочатку враховують одну-дві ознаки, не нехтуючи іншими. На першому етапі звертають увагу на материнські якості: живу масу при народженні, живу масу при відлученні у віці 35 діб та збереженість [9, 17].

Використання у промислових технологіях схрещування має кілька цілей: збагатити спадковість однієї з порід, на базі двох і більше порід створити нову породу (генотип), яка б узагальнила всі позитивні сторони використаних для схрещування порід, а за основни-

ми — і перевищувала їх [5, 1, 13]. Завданням такої роботи є комбінування різних порід з метою максимальної ефективності виробництва [3, 19]. Дослідження наявних генотипів на їх комбінаторну здатність можна проводити за прямого і зворотного схрещування [6].

Для досягнення цієї мети необхідно використовувати породи, які переважають за ознаками з високою спадковістю, що контролюються генами адитивної дії й ознаками, за якими проявляється найкраща комбінаторна здатність у вигляді ефекту гетерозису. Ефект гетерозису повинен бути вищим, особливо коли породи значно відрізняються одна від одної генетично або віддалені спадково [12, 15, 14]. Коли обрані ознаки (жива маса при народженні, молочність і збереженість) позитивно корелюють між собою, селекція одночасно за цими трьома показниками не знижуватиме інтенсивність прояву відгодівельних ознак молодняку кролів [1, 3]. Для отримання максимального ефекту гетерозису потрібно створити генотипи, нащадки яких при схрещуванні можуть найкраще поєднуватись за основними кількісними показниками [10]. Для цього потрібно створити материнську форму, в якій переважають (фокусують) репродуктивні властивості кролематок

і дві або більше батьківських форм, у нащадків яких переважають відгодівельні і м'ясні показники [18]. Вдале поєднання цих генотипів забезпечить максимальний ріст продуктивності [4].

Виходячи з сказаного вище, метою дослідження було обґрунтувати схеми схрещування кролів у популяції ПС з використанням порід РШ і НБ та отримання помісного поголів'я молодняку для інтенсифікації кролівництва.

Матеріали і методи

Дослідження проводили у кролівничому господарстві Черкаської дослідної станції біоресурсів НААН, де застосовують технологію інтенсивного виробництва кролятини. Генотип кролів, яких розводять в господарстві, — ПС, РШ, НБ. Основні елементи технології, використані в дослідженні: відлучення кроленят у 35-добовому віці; підготовчий період для відгодівлі кроленят 5–7 днів; відгодівельний період з 40- до 90-добового віку. Як материнську породу використали кролематок породи ПС — цей генотип найбільш пристосований до виробничих і кліматичних умов центральної України. Батьківські породи — самці породи РШ і НБ, де більше виражені відгодівельні та м'ясні показники.

Для дослідження методом пар-аналогів підібрано три групи кролематок породи ПС по 15 голів у кожній. Кролематок контрольної групи (К) породи ПС запліднювали самцями цієї ж групи. Самиць II дослідної групи породи ПС запліднювали самцями породи РШ. Кролематок III дослідної групи породи ПС запліднювали самцями НБ відповідно до схеми (табл. 1).

Таблиця 1. Схема проведення дослідів на кролематках (n=15)
Table 1. Scheme of the experiment on rabbit females (n=15)

Групи Groups	Генотип / Genotype		Нащадки, F ₁ Offspring, F ₁
	самок females (♀)	самця male (♂)	
I контрольна I control	ПС / PS	ПС / PS	ПС / PS
II дослідна II experimental	ПС / PS	РШ / RS	1/2 ПС 1/2 РШ 1/2 PS 1/2 RS
III дослідна III experimental	ПС / PS	НБ / NB	1/2 ПС 1/2 НБ 1/2 PS 1/2 NB

Таблиця 2. Схема проведення дослідів на молодняку кролів (n=20)
Table 2. Scheme of the experiment on rabbit offspring (n=20)

Групи Groups	Генотип Genotype	Продуктивні показники Performance indicators				
		Жива маса кроленят, кг Live weight of rabbits, kg	Довжина тіла, см Body length, cm	Обхват грудей, см Chest girth, cm	Індекс збитості, % Compact index, %	Ширина попереку, см Rump width, cm
I контрольна I control	ПС PS					
II дослідна II experimental	1/2 ПС 1/2 РШ 1/2 PS 1/2 RS					
III дослідна III experimental	1/2 ПС 1/2 НБ 1/2 PS 1/2 NB					

Молодняк, отриманий від контрольної і дослідних груп, формували за принципом аналогів, відповідно, у три групи по 20 голів і у віці 35 днів оцінювали екстер'єрні та м'ясні показники за схемою, поданою у табл. 2.

Відтворювальну здатність кролематок оцінювали за індексом відтворювальної якості кролематок (ІВЯК) [16]:

$$\text{ІВЯК} = B + 10m + 5z,$$

де B — середня маса одного кроленяти при народженні, г;

m — молочність кролематок, кг;

z — кількість кроленят при відлученні в 35-добовому віці, гол.;

10 і 5 — корегуючі коефіцієнти.

Критерій оцінки: жива маса кроленят в 35-добовому і 3-місячному віці, довжина тіла, обхват грудей, індекс збитості, ширина попереку.

Індекс збитості тварин визначали за формулою:

$$I_{35} = \frac{\text{обхват грудей, см}}{\text{довжина тулуба, см}} \times 100.$$

Одержані матеріали дослідження обробляли методом математичної статистики засобами програмного пакету *Statistica 12.1* та *Microsoft Excel (Microsoft Office 2010)* за алгоритмами Н. А. Плохинського.

Результати й обговорення

Жива маса кролематок породи ПС була в межах 4200–4800 г, а середня маса плідників обох порід становила 4500–4600 г. Встановлено, що за показником багатоплідності кролематки у результаті схрещування породи ПС з самцями РШ та НБ переважали самок від чистопородного спаровування (табл. 3).

Найвищу багатоплідність одержано за поєднання кролематок ПС з самцями породи РШ — 7,0 голів, що на 0,2 голів більше порівняно з контролем і на 0,07 голів — порівняно з III дослідною групою.

Найбільшою великоплідністю характеризувались кролематки II і III дослідних груп, де застосоване міжпородне схрещування було вищим, відповідно, на 2 і 4 г порівняно з контрольною групою. Показник великоплідності корелює з відгодівельними результатами, а особливо з інтенсивністю росту молодняку.

Молочність кролематок є вагомим чинником високої інтенсивності росту та розвитку молодняку у підсисний період, оскільки кроленята у першу декаду життя живляться тільки високопоживним молоком кролематок. Тому кількість спожитого материнського молока кролематок є кореляційним показником до маси тіла кроленят. Найвищі показники молочної продуктивності кролематок відзначено у породи ПС за поєднання з самцями породи РШ, що становило 2,75 кг (P<0,05), цей показник переважав у контрольній та II дослідних групах.

За інтенсивного промислового виробництва кролятини застосовують відлучення кроленят у віці 35 днів. Важливим показником відтворювальної здатності кролематок є маса гнізда при відлученні (табл. 4). Цей показник був вищим у кролематок II групи (поєднання

Таблиця 3. Продуктивна здатність кролематок за різних варіантів схрещування ($M \pm m$, $n=15$)**Table 3.** Productivity of rabbit females in different variants of crossing ($M \pm m$, $n=15$)

Групи / Groups	Поєднання Combination		Багатоплідність, гол. Litter size	У т. ч мертвонароджених, гол. Including stillbirths	Великоплідність, г Body weight at birth, g	Молочність, кг Litter weight at weaning — litter weight at birth, kg
	♀	♂				
I контрольна I control	ПС PS	ПС PS	7,8±0,34	0,53±0,193	59,0±1,76	2,65±0,056
II дослідна II experimental	ПС PS	РШ RS	8,0±0,40	0,47±0,133	63,0±2,22*	2,75±0,082*
III дослідна III experimental	ПС PS	НБ NB	7,9±0,33	0,60±0,190	61,0±1,61	2,65±0,067

Примітка. У цій та наступній таблиці * — $P<0,05$; ** — $P<0,01$; *** — $P<0,001$ порівняно з контролем.

Note. In this and the next table * — $P<0,05$; ** — $P<0,01$; *** — $P<0,001$ compared to the control.

Таблиця 4. Показники гнізда в 35-добовому віці**Table 4.** Litter indicators at 35 days of age

Групи / Groups	Поєднання Combination		Показники гнізда / Litter indicators				ІВЯК Reproductive index
	♀	♂	кількість голів litter size	середня маса тіла, кг average body weight, kg	маса гнізда, кг litter weight, kg	збереженість, % survival, %	
I контрольна I control	ПС PS	ПС PS	6,8±0,24	0,76±0,02	4,7±0,18	93,5	119
II дослідна II experimental	ПС PS	РШ RS	7,0±0,30*	0,80±0,03	5,2±0,11**	93,0	125
III дослідна III experimental	ПС PS	НБ NB	6,9±0,26	0,78±0,03	4,9±0,21*	94,5	122

ПС × РШ), що на 0,21 кг більше, ніж у III дослідній групі (ПС × НБ) і на 0,45 кг — у I (контрольній) групі (ПС × ПС) з вірогідною різницею $P<0,01$.

Найвищий відсоток збереження кроленят до відлучення у 35-добовому віці спостерігали у кролематок III дослідної групи за поєднання ПС × НБ — 94,5 %. Встановлено, що на збереження гнізда значною мірою впливав гетерозис у поєднанні з якостями кролематок породи ПС, пристосованої до регіональних кліматичних умов та утримання в приміщеннях. Враховуючи переваги окремих показників, які можуть впливати на подальший розвиток молодняку кролів, встановили індекс відтворних якостей кролематок. Найвищий показник ІВЯК був у кролематок другої II дослідної групи — 125 (ПС × РШ), у III дослідній групі — 122 (ПС × НБ). Кролематки цих груп характеризувалися високою молочністю та великоплідністю.

Отже, схрещування позитивно впливають на відтворювальні якості кролематок, особливо в поєднанні самок породи ПС з самцями РШ. Явище гетерозису найбільш виражене за селекції кролів РШ, що спрямовано на пристосування до умов промислової, інтенсивної технології виробництва кролятини, а також породи, створеної на основі порід, не споріднених зі створенням породи кролів ПС. Показники кролематок від цього поєднання (ПС × РШ) переважали контрольну групу (ПС × ПС) за багатоплідністю на 2,9 %, за великоплідністю — вірогідно на 6,4 %, молочністю — вірогідно на 3,8 %, кількістю відлучених кроленят — на 2,9 % ($P<0,05$), масою гнізда, відлученого у віці 35 днів — на 8,7 % ($P<0,01$).

У кролематок III дослідної групи (ПС × НБ) перевага над контролем була незначною без вірогідних різниць. Можливо, застосування селекції кролів породи НБ проводили за інших умов промислової технології — бройлерне виробництво кролятини, що неефективно (комбінаційно) проявилось у поєднанні з кролематками породи ПС.

Отриманий молодняк від трьох варіантів поєднань оцінювали за екстер'єрними, відгодівельними і прижиттєвими м'ясними показниками за відлучення у віці 35 днів та 3-місячному віці (табл. 5).

Встановлено, що помісний молодняк II дослідної групи у 35-добовому віці вірогідно ($P<0,05$) на 59 г, а III групи — на 43 г переважав аналогів контрольної групи за показником живої маси.

Об'єктивним показником, який корелює із забійними та м'ясними якістьями, є індекс збитості, який був вірогідно вищим ($P<0,01$) у помісного молодняку кролів III дослідної групи і переважав аналогів II групи на 4,11 %, а контроль — на 8,26 %. Ширина попереку як показник м'ясної продуктивності в молодняку кролів у 35-добовому віці не є фокусуючою ознакою, але все ж за цим показником нащадки від порід ПС та НБ вірогідно ($P<0,05$) переважали на 0,16 см ровесників контрольної групи.

За показником живої маси у віці 90 днів помісний молодняк II групи вірогідно ($P<0,05$) переважав контрольну групу молодняку породи ПС на 144 г, молодняк III помісної групи з невірогідною різницею переважав аналогів I групи на 57 г.

Таблиця 5. Екстер'єрні показники молодняку кролів, отриманих чистопородним розведенням та схрещуванням ($M \pm m$, $n=15$)**Table 5.** Characteristics of young rabbits obtained by purebred breeding and crossing ($M \pm m$, $n=15$)

Ознаки / Signs	Генотип / Genotype		
	ПС PS	$\frac{1}{2}$ ПС $\frac{1}{2}$ РШ $\frac{1}{2}$ PS $\frac{1}{2}$ RS	$\frac{1}{2}$ ПС $\frac{1}{2}$ НБ $\frac{1}{2}$ PS $\frac{1}{2}$ NB
Показники молодняку кролів у 35-добовому віці Performance of young rabbits at 35 days of age			
Жива маса, г Live weight, g	791,0 $\pm$ 9,72	850,0 $\pm$ 10,75*	834,0 $\pm$ 9,64
Довжина тіла, см Body length, cm	24,1 $\pm$ 0,39	23,8 $\pm$ 0,29	23,2 $\pm$ 0,26*
Обхват грудей, см Chest girth, cm	17,9 $\pm$ 0,22	18,7 $\pm$ 0,23	19,2 $\pm$ 0,31*
Індекс збитості, % Compact index, %	74,6 $\pm$ 1,08	78,7 $\pm$ 0,88*	82,8 $\pm$ 1,12**
Ширина попереку, см Rump width, cm	3,39 $\pm$ 0,039	3,45 $\pm$ 0,050	3,55 $\pm$ 0,050*
Показники молодняку кролів у 90-добовому віці Performance of young rabbits at 90 days of age			
Жива маса, г Live weight, g	2823,0 $\pm$ 0,04	2967,0 $\pm$ 0,01*	2880,0 $\pm$ 0,03
Довжина тіла, см Body length, cm	40,6 $\pm$ 0,12	40,3 $\pm$ 0,18	39,4 $\pm$ 0,45
Обхват грудей, см Chest girth, cm	26,7 $\pm$ 0,10	27,0 $\pm$ 0,19	28,0 $\pm$ 0,52*
Індекс збитості, % Compact index, %	65,6 $\pm$ 0,31	67,0 $\pm$ 0,66	70,8 $\pm$ 1,32*
Ширина попереку, см Rump width, cm	5,83 $\pm$ 0,064	5,90 $\pm$ 0,058	6,01 $\pm$ 0,063*

Показник обхвату грудей мав вірогідну різницю у III дослідній групі ($P < 0,05$) і переважав кролів контрольної групи на 2,3 см.

Індекс збитості 90-добового молодняку кролів III групи, за походженням $\frac{1}{2}$ ПС $\frac{1}{2}$ НБ вірогідно ($P < 0,05$) переважав чистопородних аналогів ПС на 5,28 см і домінував за цією ознакою генотипу плідника НБ породи.

Показник прижиттєвої м'ясної оцінки — ширина попереку, в 90-добовому віці, вірогідно зростає у III дослідній групі ($\frac{1}{2}$ ПС $\frac{1}{2}$ НБ) на 6,0 см, який позитивно корелював з забійною масою та забійним виходом.

Отже, більший комбінаторний вплив на материнські показники мало поєднання самиць породи ПС з самцями породи РШ. За відгодівельними і особливо за м'ясними та забійними показниками переважав помісний молодняк кролів походження ПС і НБ.

Висновки

Продуктивні показники кролематок від схрещування ПС х РШ переважали контрольну групу (ПС х ПС) за багатоплідністю, великоплідністю, молочністю, кількістю відлучених кроленят, масою гнізда відлученого молодняку у віці 35 днів.

За відгодівельними і особливо за м'ясними та забійними ознаками переважав помісний молодняк кролів походження «полтавське срібло» і «новозеландська біла». Ця група кролів у 35- і 90-добовому віці переважала аналогів за показником живої маси.

Показник прижиттєвої м'ясної оцінки — ширина попереку в 90-добовому віці — був вищим у помісей полтавського срібла та новозеландської білої і становив 6,0 см, що позитивно корелює з показниками забійної маси, забійного виходу.

Перспективи подальших досліджень

Доцільно в подальшому отримати дво-, трипородні помісі кролів порід «полтавське срібло», «радянська шиншила» і «новозеландська біла» та дослідити їх за репродуктивними, відгодівельними і м'ясними показниками.

1. Bashchenko MI, Gavrish OM, Vashchenko OV. Features of body structure and changes in live weight rabbits of the Poltava silver breed in separate periods of their cultivation. *Effective rabbit breeding and fur farming*. 2018; 4: 6–12. (in Ukrainian)
2. Baschenko M, Gonchar A, Shevchenko E, Vashchenko A. Use breeding and genetic methods to assess to evaluate impact the genotype of meat rabbits the formation of performance. *Effective rabbit breeding and fur farming*. 2016; 2: 5–12. (in Ukrainian)
3. Boyko O, Gonchar O, Gavrish O. Variability breeding and genetic factors formation of productivity American mink input using the method of crossing. *Effective rabbit breeding and fur farming*. 2017; 3: 6–13. (in Ukrainian)
4. Boyko O, Gonchar O, Gavrish O, Sotnichenko Y. Increase product quality rabbit by means of industrial mating. *Effective rabbit breeding and fur farming*. 2019; 5: 155–165. (in Ukrainian)
5. Boyko O, Gonchar O, Gavrish O, Sotnichenko Y, Vashchenko O. Effectiveness of application of industrial hybridization in rabbits. *Effective Rabbit Breeding and Fur Farming*. 2018; 4: 13–23. (in Ukrainian)
6. Carneiro M., Afonso S, Gerales A, Garreau H, Bolet G, Boucher S, Tircazes A, Queney G, Nachman MW, Ferrand N. The Genetic structure of domestic rabbits. *Molecular Biology and Evolution*. 2015; 28(6): 1801–1816. DOI: 10.1093/molbev/msr003.
7. Castle WE, Sawin PB. Genetic linkage in the rabbit. *PNAS*. 1941; 27(11): 519–523. DOI: 10.1073/pnas.27.11.519.
8. Colin M. Rabbit production in East European countries. *World Rabbit Sci.* 1993; 1(1): 37–52. DOI: 10.4995/wrs.1993.194.
9. Gavrish O. Productive quality of rabbits of domestic and foreign selection with intensive cultivation technology. *Effective rabbit breeding and fur farming*. 2017; 3: 14–21. (in Ukrainian)
10. Gonchar OF, Shevchenko EA. Features of genetic monitoring in rabbit breeding by DNA markers. *Effective rabbit breeding and fur farming*. 2019; 5: 36–50. (in Ukrainian)
11. Hawkins P. Refining rabbit care — a resource for those working with rabbits in research. *Report from the UFAW/RSPCA Rabbit Behaviour and Welfare Group*. 2008: 365.
12. Ibatullin I, Zhukorskyi O, Bashchenko M, Honchar O. Methodology and organization of scientific research in animal husbandry. *Agrarian science*. 2017: 328 p. (in Ukrainian)
13. Jackson R, Rogers AD, Lukefahr SD. Inheritance of the naked gene and associations with postweaning performance and thermotolerance characters in fryer rabbits from an F_2 generation. *World Rabbit Sci.* 2006; 14(3): 147–155. DOI: 10.4995/wrs.2006.559.
14. Kerdiles V, Rochambeau H. A genetic description of two selected strains of rabbits. *Anim. Breed. Genet.* 2002; 119(1): 25–33. DOI: 10.1046/j.1439-0388.2002.00315.x.

15. Lesly D. Genetic principles of farm animal breeding. *Ear*. 1982: 226–229. (in Russian)
16. Luchyn I. Vakulenko I. Method of estimation of reproductive ability of rabbits of different genotypes. *Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Livestock*. 2004; 87: 38–41. (in Ukrainian)
17. Matics Z, Szendrő Z, Hoy S, Nagy I, Radnai I, Biró-Németh E, Gyovai M. Effect of different management methods on the nursing behaviour of rabbits. *World Rabbit Sci*. 2004; 12(2): 95–108. DOI: 10.4995/wrs.2004.578.
18. Morton D, Jennings M, Batchelor GR. Refinements in rabbit husbandry. *Second report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW, J.W.G. Refinement. Laboratory Animals*. 1993; 27: 301–329. DOI: 10.1258/002367793780745633.
19. Nitt J. *Rabbit Production*. 9th Edition. CABI. Oxfordshire. 2013; 1: 47.

Productive characteristics of rabbits at industrial crossbreeding of *Poltava Silver*, *Soviet Chinchilla* and *New Zealand White* breeds

O. Boiko, O. Honchar, I. Luchyn
Luchin60@ukr.net

Cherkasy Experimental Station of Bioresources,
76 Pasterivska str., Cherkasy, 18036, Ukraine, bioresurs.ck@ukr.net

The purpose of the study was to substantiate schemes of crossbreeding of rabbits in the population of *Poltava Silver* breed using *Soviet Chinchilla* and *New Zealand White* breeds to obtain a local stock of young animals for intensification of rabbit breeding. Three groups of *Poltava Silver* does of 15 heads each were selected for the experiment by the method of pair-analogues. Rabbits of the control group (C) of the *Poltava silver* (PS) breed were fertilized by males of the same group. Rabbits of the II group of the *Poltava silver* breed were fertilized by males of the *Soviet Chinchilla* (SC) breed. Rabbits of the III group were fertilized by males of *New Zealand White* breed (NZ). The offspring of control and experimental groups was divided on the principle of analogues in three groups 20 animals in each group, and at the age of 35 days rabbit exterior and meat quality were evaluated. The research has shown that crossing make a positive effect on reproductive qualities of rabbits, especially in combination of the *Poltava Silver* breed females with males of the *Soviet Chinchilla*. The second experimental group was characterized by highest litter size, litter weight at birth and litter weight at weaning. The highest percentage of survival in rabbits youth weaned at 35 days was observed in PS × NZ group (94.5 %). An important indicator correlating with the slaughter and meat quality of animals is chest girth/body length index, which was significantly higher in hybrid young rabbits of the III experimental group, outperforming the group II analogues by 4.11 % and control by 8.26 %. Greater combinatorial influence on the reproductive qualities of does had a combination of *Poltava Silver* females with *Soviet Chinchilla* males. *Poltava Silver* and *New Zealand White* predominated in the meat and slaughter indices, in particular in meat and slaughtering indices.

Key words: rabbits, crossbreeding, fertility, slaughter



Природні механізми захисту корошових риб за ураження бактерійним аеромонозом і за дії синбіотичного препарату «Ентеронормін»

Х. Я. Солопова

khrystyna.solopova@gmail.com

Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

Аеромоноз корошових риб є одним з найпоширеніших захворювань ставкових риб, яке завдає значної шкоди рибництву: загибель риби становить від 10 до 90 %. Для лікування хворих риб застосовують антибактерійні препарати: нітрофурані, антибіотики, кормові антибіотики, а також барвники. Незважаючи на значні переваги від використання антибіотиків, сьогодні вважають, що надмірне використання будь-яких антибіотичних речовин упродовж певного періоду часу може призвести до появи локальної популяції бактерій, стійкої до їх дії. Тому пробіотики мають низку переваг перед наявними вітамінними і антибіотичними препаратами: технологічні в застосуванні тваринам; малотоксичні; їх виробництво просте і екологічно чисте; ці препарати дешеві; економічна ефективність їх застосування висока. Наведено результати досліджень впливу синбіотичного препарату «Ентеронормін» у комплексі з Йодом і Селеном на показники неспецифічної резистентності організму корошів, уражених бактерійним аеромонозом. Дослідження проводили в умовах акваріумів у Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН. Контрольна група, до якої входили клінічно здорові риби, впродовж 7 днів через зонд отримувала 3 % крохмальну суспензію; перша дослідна група (Д1) — хворі на аеромоноз короши, яким аналогічно задавали лише 3 % крохмальну суспензію; другій дослідній групі (Д2), яку сформували з хворих на аеромоноз корошів, задавали препарат «Ентеронормін» з розрахунку 2 мг на 1 кг маси риби у складі 3 % крохмальної суспензії. Перед введенням корошам досліджуваній препарат активували 14–16 год. водою, збагаченою іонами біологічно активного йоду та селену у формі «Йодіс+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011). Дослідження показали, що захворювання корошів асоційованою бактеріальною формою аеромонозу спричиняло імуносупресивний вплив на показники природної резистентності організму. Зокрема, зафіксовано зниження фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів і лізоцимної активності сироватки крові на тлі збільшення вмісту циркулюючих імунних комплексів і фагоцитарного індексу. Констатовано реабілітаційну дію синбіотичного препарату «Ентеронормін» у комплексі з Йодом і Селеном на досліджувані показники клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності організму риб, уражених бактерійним аеромонозом.

Ключові слова: риби, корош, аеромоноз, синбіотики, «Ентеронормін», циркулюючі імунні комплекси, лізоцимна активність сироватки крові, фагоцитарна активність, фагоцитарний індекс, фагоцитарне число

Хвороби риб наносять значні економічні збитки світовій аквакультурі. Вивчення закономірностей їх виникнення та поширення, розробка заходів профілактики є важливою проблемою сучасного рибництва, оскільки від її вирішення залежить ефективність відтворення та вирощування рибних об'єктів, збереження рибної продукції [15].

Аеромоноз корошових риб (краснуха, геморагічна септицемія, інфекційна черевна водянка) належить до одного з найпоширеніших захворювань

ставкових риб, яке завдає значної шкоди рибництву. Відхід риби внаслідок цього захворювання становить 10–90 %. Виникнення аеромонозу може бути спровоковане стрес-факторами: рибоводні маніпуляції, різке підвищення температури, органічне забруднення водного середовища, зниження резистентності організму риб [15]. Для лікування хворих риб застосовують антибактерійні препарати: нітрофурані, антибіотики, кормові антибіотики, а також барвники [11].

Речовини, що застосовуються в іхтіопатології, — переважно канцерогени і мутагени (формалін, хлорофос, купрум сульфат) або з незначним терапевтичним індексом (фунгіциди, певні антибіотики), які вже давно не використовуються у більшості країн.

Для підвищення неспецифічної резистентності організму риб найчастіше застосовують імуномодулятори (задають рибі із кормом), які сприяють формуванню повноцінної імунної відповіді, у тому числі клітинної і гуморальної ланок. До них належать пробіотики, препарати комплексної дії, а також вітаміни С, Е та А, що підвищують резистентність організму [3, 9, 10, 15].

Пробіотики і пребіотики мають низку переваг перед наявними вітамінними і антибіотичними препаратами: технологічні в застосуванні тваринам; малотоксичні; їх виробництво просте й екологічно чисте; ці препарати дешеві; економічна ефективність їх застосування висока. Комбіновані препарати з пробіотиків і пребіотиків називаються синбіотиками [5].

Ентеронормін — синбіотичний препарат, що складається з комплексу бактерій — *Enterococcus* spp., *Bacillus subtilis* spp., *Lactobacillus* spp. та допоміжних речовин — хітозану, пептону ферментативного і меленого цукру (РП № ВВ-00427-02-12 від 13.04.2012). Він проявляє антагоністичну активність до широкого спектру патогенних бактерій і грибів. Формуючи нормальну мікрофлору, тим самим нормалізує секреторний імунітет, обмін речовин, стабілізує захисні сили організму, збільшує продуктивність тварин, птиці та бджіл, їх збереженість і продуктивність, зменшує витрати кормів на одиницю приросту живої ваги. Препарат не має кумулятивної здатності, не вимагає захисних засобів в умовах виробництва і застосування та не викликає забруднення довколишнього середовища [3].

Водночас на рибі такі дослідження фрагментарні. На сьогодні недостатньо вивченим є вплив пробіотичних препаратів на активність захисних систем організму риб. Насамперед з'ясування вимагає дослідження впливу синбіотичних препаратів на стан природних механізмів захисту у королевих риб за умов їх захворювання.

З огляду на це, значне наукове і практичне зацікавлення становить вивчення впливу препарату «Ентеронормін» на показники неспецифічної резистентності у королевих, хворих на аеромоноз.

Матеріали і методи

Експериментальну частину роботи виконували на дворічках коропа у Львівській дослідній станції Інституту рибного господарства НААН. Було сформовано 3 групи риб по 5 особин у кожній. Контрольна група, до якої входили клінічно здорові риби, отримувала лише 3 % крохмальну суспензію; перша дослідна група (Д1) — хворі на аеромоноз коропа, яким задавали лише 3 % крохмальну суспензію; друга дослідна група (Д2) — хворі на аеромоноз коропа, яким через зонд упродовж 7 днів у складі 3 % крохмальної суспензії задавали препарат «Ентеронормін» з розрахунку 2 мг на 1 кг маси риби. Перед введенням коропам досліджуваній препарат активували 14–16 год. водою, збагаченою іонами біологічно активного йоду

та селену у формі «Йодіс+Se» (ТУ У 15.7-30631018-011:2011). Аеромоноз діагностували за результатами бактеріологічного дослідження (проведено виділення та ідентифікацію збудника — *Aeromonas Hydrophila*) з урахуванням епізоотологічних даних, клінічних ознак і патологоанатомічних змін.

Матеріалом для дослідження слугувала кров, яку брали з серця риб за допомогою піпетки Пастера, попередньо застосовували наркоз з використанням ефірної олії гвоздики (*Eugenia caryophyllus*). У сироватці крові визначали лізоцимну активність (ЛАСК) до добової культури *Myxococcus Lysodeikticus*; вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси. У стабілізованій гепарином крові визначали показники фагоцитозу: фагоцитарну активність (ФА), фагоцитарне число (ФЧ) та фагоцитарний індекс (ФІ). З метою вивчення інтенсивності фагоцитозу, вираховували ФІ та ФЧ. Фагоцитарний індекс характеризує кількість захоплених мікроорганізмів одним активним фагоцитом. Фагоцитарне число виражає кількість фагоцитованих мікробних клітин на 100 підрахованих лейкоцитів [13]. Визначення ЛАСК і ФА проводили з врахуванням специфіки досліджень на гідробіонтах, використовуючи відповідні добові культури лабораторних штамів і температурний режим культивування [7].

Одержані цифрові дані опрацьовано статистично за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики з визначенням середніх величин (M), їх квадратичної похибки (m) та достовірності різниць, які встановлювали за t -критерієм Стюдента.

Результати й обговорення

Циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) характеризують рівень антитілоутворення в організмі, спрямований на елімінацію патогенних антигенів. З наведених у табл. 1 даних бачимо, що захворювання королевих на аеромоноз призводить до вірогідного зростання вмісту ЦІК на тлі зниження лізоцимної активності сироватки крові. Відомо, що утворення імунних комплексів в організмі є результатом специфічної взаємодії антигенів з антитілами. Циркулюючі імунні комплекси належать до високомолекулярних білкових сполук, структура та функція яких залежить від фізико-хімічних та біологічних властивостей антигену й антитіла.

Таблиця 1. Вміст циркулюючих імунних комплексів та лізоцимна активність крові досліджуваних королевих ($M \pm m$, $n=4$)
Table 1. Content of circulating immune complexes and serum lysozyme activity in blood of experimental carps ($M \pm m$, $n=4$)

Показники Parameters	Групи / Groups		
	Контроль Control	Д1 / E1	Д2 / E2
ЦІК, ммоль/л / CIC, mmol/L	42 $\pm$ 1,8	58 $\pm$ 2,4**	44,2 $\pm$ 1,9
ЛАСК / SLA, %	30,5 $\pm$ 2,4	27,25 $\pm$ 1,8	27,2 $\pm$ 2,2

Примітка. Тут і надалі різниці статистично вірогідні порівняно з контролем: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$.

Note. In this and next tables the significance of differences with the control is: * — $P < 0.05$, ** — $P < 0.01$, *** — $P < 0.001$.

Вміст ЦІК у сироватці крові короїв, хворих на асоційовану форму аеромонозу, збільшився в 1,3 рази ($P<0,01$) порівняно з їх рівнем у риб контрольної групи. Застосування короїм другої дослідної групи 3 % крохмальної суспензії і препарату «Ентеронормін» спричиняло нормалізуючий вплив на вміст досліджуваних високомолекулярних білкових сполук. Про це вказує зменшення вмісту ЦІК у сироватці крові короїв другої дослідної групи та відсутність вірогідних різниць стосовно контрольної групи.

Лізоцим — універсальний ензим, який має неспецифічну бактерицидну дію [4]. Як низькомолекулярний білок, він має здатність піддавати лізису стінки бактерій, стимулює синтез антитіл і нейтралізує бактеріальні токсини, присутній у сироватці крові, слизі риб, тканинах внутрішніх органів [12]. Найбільша його концентрація виявлена у нирках риб, менша — у селезінці, слизі шкіри і кишечнику. У сироватці крові лізоциму дуже мало, його активність прямо пропорційно пов'язана зі станом імунної системи. У деяких видів риб цей ензим зовсім не знайдений [6].

При дослідженні гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму короїв, зокрема лізоцимної активності сироватки крові, констатовано тенденцію до зниження цього показника природного захисту у хворих на аеромоноз риб і підвищення за дії синбіотичного препарату. Це, ймовірно, пов'язано з тим, що титр лізоциму значно залежить від багатьох факторів.

Імунологічна реактивність організму визначається за його здатністю розпізнавати та знешкоджувати генетично чужорідне. Клітинну ланку неспецифічної резистентності організму риб, як і ссавців, характеризує фагоцитарна активність крові. Фагоцитоз — це процес активного поглинання клітинами організму патогенних живих і вбитих мікроорганізмів, а також інших чужорідних часток з подальшим перетравленням їх за допомогою внутрішньоклітинних ензимів. Основними клітинами, які беруть участь у процесі фагоцитозу, є нейтрофільні гранулоцити [13].

Проведені дослідження показали, що захворювання короїв на асоційовану форму аеромонозу спричиняло зростання фагоцитарного індексу та фагоцитарного числа на тлі зниження фагоцитарної активності нейтрофілів крові (табл. 2). Необхідно зауважити, що фагоцитарний індекс, який характеризує кількість захоплених мікроорганізмів одним активним фаго-

цитом, у крові хворих короїв був на 21,1 % ($P<0,05$) більший, ніж у клінічно здорової риби. Результати цих досліджень свідчать, що захворювання короїв на асоційовану форму аеромонозу спричиняє імуносупресивний вплив на фагоцитарну активність нейтрофілів крові, водночас потужність фагоцитозу зростає. У короїв другої дослідної групи, якій застосовували препарат «Ентеронормін», показники фагоцитозу гранулоцитів крові за значеннями були на рівні контрольної групи, тобто здорових риб.

Отже, результати проведених досліджень вказують на те, що у короїв, уражених асоційованою бактеріальною формою краснухи, зафіксовано збільшення вмісту циркулюючих імунних комплексів та зниження показників клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності, а саме фагоцитарної та лізоцимної активності крові. З цих даних можна зробити припущення, що у короїв, хворих на асоційовану бактеріальну форму краснухи, ця ланка захисту функціонально менш активна, ніж у здорових риб. Цей фактор може бути або одним з провідних у патогенезі їх захворювання краснухою або її наслідком.

Застосування хворим на аеромоноз короїм препарату «Ентеронормін» у комплексі з Йодом і Селеном спричиняло нормалізуючий вплив на досліджувані показники природного захисту. Ці зміни, ймовірно, зумовлені комплексною адитивною дією молочнокислих бактерій (*Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp. та *Bacillus subtilis* spp.) і допоміжних компонентів хітозану та пептону, що є у досліджуваному препараті, а також Селену та Йоду. Разом з цим, препарат проявляє антагоністичну активність до широкого спектру патогенних бактерій і грибів. Формуючи нормальну мікрофлору, «Ентеронормін» цим стабілізує захисні сили організму короїв.

Висновки

Захворювання короїв на асоційовану бактеріальну форму краснухи спричиняє імуносупресивний вплив на показники природної резистентності організму. Зокрема, зафіксовано зниження фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів і лізоцимної активності сироватки крові на тлі збільшення вмісту циркулюючих імунних комплексів і фагоцитарного індексу ($P<0,05-0,01$).

Констатовано реабілітаційну дію синбіотичного препарату «Ентеронормін» у комплексі з Йодом і Селеном на показники клітинної і гуморальної ланок неспецифічної резистентності організму риб, хворих на асоційовану бактеріальну форму краснухи.

Перспективи подальших досліджень

Актуальним є з'ясування впливу синбіотика «Ентеронормін» на стан системи антиоксидантного захисту короїв. Також доцільним є дослідження інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів та рівня окиснювального пошкодження білків у короїв за ураження аеромонозом і за лікування вказаним препаратом.

Таблиця 2. Показники неспецифічної резистентності (фагоцитарна активність, фагоцитарний індекс і фагоцитарне число) у крові досліджуваних короїв ($M\pm m$, $n=4$)

Table 2. Indicators of nonspecific resistance (phagocytic activity, neutrophil phagocytic index and phagocytic neutrophil count) in the blood of the experimental fish ($M\pm m$, $n=4$)

Показники Parameters	Групи / Groups		
	Контроль Control	Д1 / E1	Д2 / E2
ФА / РА, %	40,5±3,3	38,0±1,05	39,5±1,1
ФІ, од. / NPI, units	10,4±0,4	12,6±0,6*	11,2±0,4
ФЧ, од. / PNC, units	4,2±0,1	4,8±0,2	4,4±0,08

1. Davydov ON, Abramov AV, Kurovskaja LJ. *Biological preparations and chemicals in aquaculture*. Kyiv, Logos. 2009: 21–39. (in Russian)
2. Gryga NP, Bohdan VP. Exedieny and necessity of using of probiotic for animals. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives*, 2017; 18(1): 310–313. Available at: http://www.scivp.lviv.ua/images/files/Naukovo_tekhnichny_byuleten/2017_18_1/53.pdf (in Ukrainian)
3. Hai NV. The use of probiotics in aquaculture. *Journal of applied microbiology*. 2015; 119(4): 917–935. DOI: 10.1111/jam.12886.
4. Jakobisjak M. Immunology. Vinnytsya, Nova Knyga, 2004: 672 p. (in Ukrainian)
5. Kotsiumbas IY, Gunchak VM, Stetsko TI. The problem of using antimicrobials to promote growth of productive animals and alternatives their using. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives*, 2013; 14(3–4): 381–389. Available at: http://www.scivp.lviv.ua/images/files/Naukovo_tekhnichny_byuleten/NTB_2013_14_3_4/71.pdf (in Ukrainian)
6. Lie Ø, Evensen Ø, Sørensen A, Frøysdal E. Study on lysozyme activity in some fish species. *Diseases of Aquatic Organisms*. 1989; 6: 1–5. DOI: 10.3354/dao006001.
7. Mikryakov VR. *Fish immune system response to water contamination by toxicants and acidification of the environment*. Moscow, Nauka. 2001: 126 p. (in Russian)
8. Official Journal of the European Union L276/33, 2010. Directive 2010/63/EU of The European Parliament and of The Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609/EC. 20.10.2010.
9. Pandiyan P, Balaraman D, Thirunavukkarasu R, George EGJ, Subaramaniyan K, Manikkam S, Sadayappan B. Probiotics in aquaculture. *Drug Invention Today*. 2013; 5(1): 55–59. DOI: 10.1016/j.dit.2013.03.003.
10. Pérez-Sánchez T, Ruiz-Zarzuela I, de Blas I, Balcázar JL. Probiotics in aquaculture: a current assessment. *Reviews in Aquaculture*. 2014; 6(3): 133–146. DOI: 10.1111/raq.12033.
11. Roberts RJ. *Fish Pathology*. 4th ed. Wiley-Blackwell. 2012: 590 p. DOI: 10.1002/9781118222942.
12. Saurabh S., Sahoo PK. Lysozyme: an important defense molecule of fish innate immune system. *Aquaculture research*. 2008; 39(3): 223–239. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2007.01883.x.
13. Vishchur OI, Kychun IV, Leshovska NM, Mamchuk NA, Yamroz VY, Matlakh IY, Rokita IM. Natural resistance of some fish species. Scientific and technical bulletin of Institute of animal biology and State scientific research control institute of veterinary medical products and fodder additives. 2008; 9(3): 343–347. (in Ukrainian)
14. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Ratych IB. *Laboratory Methods of Investigation in Biology, Stockbreeding and Veterinary Medicine: a reference book*. Lviv, 2012: 764 p. (in Ukrainian)
15. Vovk NI, Bozhik VJ. *Ichthyopathology*. Kyiv, Agram osvita. 2014: 308 p. (in Ukrainian)

Natural defense mechanisms in carp infected by bacterial aeromonosis and after treatment with the synbiotic drug "Enteronormin"

Kh. Ya. Solopova

khrystyna.solopova@gmail.com

Institute of Animal Biology NAAS,

38 V. Stus str., Lviv, 79034, Ukraine

Aeromonosis of carp fish is one of the most common diseases of pond fish, which causes significant loss for fisheries: fish mortality is from 10 to 90 %. For fish treatment antibacterial drugs such as nitrofurans, antibiotics, feed antibiotics, as well as dyes are used. Despite the significant benefits of using antibiotics, it is now believed that overuse of any antibiotic substance over a period of time can lead to a local population of bacteria resistant to them. Therefore, probiotics have several advantages over existing vitamin and antibiotic drugs: they are technological in animal use; low toxic; cheap; simple and environmentally friendly production; high economic efficiency of application. Here are the results of studies of the influence of the synbiotic drug "Enteronormin" with iodine and selenium on the indices of nonspecific resistance to the organism of carp affected by bacterial aeromonosis. The research was conducted under the conditions of aquariums at the Lviv Research Station of the Institute of Fisheries of NAAS. The control group, which consisted of clinically healthy fish, received only 3 % starch suspension, the 1st experimental group (E1) — aeromonosis affected carps who were given only 3 % starch suspension, the 2nd experimental group (E2), which consisted of carps affected aeromonosis, through the probe within 7 days was administered the drug "Enteronormin" at the rate of 2 mg per 1 kg of fish weight in the composition of 3 % starch suspension. Before feeding for the carp drug was activated for 14–16 hours water enriched with iodine and Selenium ions in the Iodis + Se form (TU U 15.7-30631018-011:2011). Studies have shown that a disease associated with the bacterial form of aeromonosis has an immunosuppressive effect on the body's natural resistance. In particular, there was a decrease in the phagocytic activity of neutrophilic granulocytes and lysozyme activity of the blood serum against the background of an increase in the content of circulating immune complexes and phagocytic index. The rehabilitative effect of the enteronormin synbiotic drug on the investigated indices of cellular and humoral setions of nonspecific resistance of fish organisms affected by bacterial aeromonosis was ascertained.

Key words: fish, carp, aeromonosis, synbiotics, "Enteronormin", circulating immune complex, lysocimic activity, phagocytal activity, neutrophil phagocytic index, phagocytic neutrophil count



Relationships between subclinical laminitis and sole ulcer in cows

P. Mudroň

pavol.mudron@uvlf.sk

University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, clinic of ruminants,
73 Komenského, Košice, 04181, Slovakia

Subclinical laminitis is a multifactorial syndrome with complex pathophysiology and significant economic impact on dairy industry. One of the effects it has on the welfare of cattle is that it predisposes to the development of other lesions on the foot, predominantly sole ulcers and white line disease. The aim of the study was to investigate if the subclinical laminitis actually predisposes dairy cows to the development of sole ulcer. The data used in this study were obtained on 220 Holstein Friesian dairy cows during of routine orthopedic and claw trimming visits as well as within a period between them when lame cows were treated. All of the cows were kept on manure solid bedding and fed TMR. The average milk year yield was 9000 kg. At the first visit the cows with subclinical laminitis were identified (LS group). The occurrence of the sole ulcer was checked at the following visits in all the cows. Out of the 220 examined dairy cows, 10 were affected by the subclinical laminitis (LS group; 4.55 %). 69 dairy cows were free of claw diseases (control group; 31.4 %). In the following orthopaedic controls, the sole ulcer was detected in two cows from the LS group (20 %) and only in one cow in the control group (1.45 %). The difference in incidence of the sole ulcer between both groups was significant ($P < 0.05$). The results of this study indicate that there is an association between subclinical laminitis and prevalence of sole ulcer in dairy cows.

Key words: cows, subclinical laminitis, sole ulcer

Lameness is the most serious welfare problem facing the dairy cow and the European dairy industry. The disorder causes pain and distress for the cow and substantial economic losses. When evaluating the cost of each case of lameness, many factors have to be considered, which can be divided into direct and indirect costs. Indirect losses are related to: prolonged calving interval, culling losses, reduced milk yield, weight loss and replacement costs. The direct losses are considered to be the veterinary expenses and drugs. A quarter of all losses of lameness, are due to the reduced milk yield and the discarded antibiotic-treated milk during the therapy periods. Cows with a higher yield have an increased risk of lameness, and problems with lameness occur primarily in the early lactation period; one to three months [7].

Lameness is a multifactorial condition. Primary causes include infectious agents (e.g., foot rot, digital dermatitis), laminitis, conformational or other lesions (e.g., corkscrew claw, leg injury); and claw lesions such as white line disease, thin sole-induced toe ulcers, sole ulcers, toe ulcers, sole punctures, and thin soles [2]. Sole ulcers, which are one of the most severe pathologies causing lameness, are non-infectious in nature and occur when claw horn formation is disrupted. The underlying tissue then becomes inflamed and sometimes exposed. Cows are particularly vulnerable around the time of parturition;

changes in hormone levels cause increased vascular permeability, increasing the risk of oedema and ischemia in the hoof [5].

The purpose of this study was to examine the relationship between body condition score and claw diseases in dairy cows in order to form a better understanding of the development of claw diseases.

Materials and Methods

The data used in this study were obtained on 220 Holstein Friesian dairy cows during two sessions of routine orthopaedic and claw trimming visits (autumn 2016 and spring 2017) as well as within a period between them when lame cows were treated. All of the cows were kept on manure solid bedding and fed TMR. The average milk year yield was 9000 kg. At the first visit the cows with subclinical laminitis were identified (LS group). The diagnosis of the subclinical laminitis was based on an observation of symptoms of sole haemorrhages and yellowish-coloured soles. The occurrence of the sole ulcer was checked at the following visits in all the cows. Statistical analysis was performed by running a chi-squared test to test a difference between sole ulcer incidence in LS and control (healthy) group.

Results and Discussion

Out of the 220 dairy cows examined during autumn 2016 ten cows were affected by the subclinical laminitis (LS group; 4.55 %). 69 dairy cows were free of claw diseases (control group; 31.4 %). In the following orthopaedic controls the sole ulcer was detected in two cows from the LS group (20 %) and only in one cow in the control group (1.45 %). The difference in incidence of the sole ulcer between both groups was significant ($P < 0.05$, table).

Laminitis is an inflammation of the laminar corium of the hoof wall. In general, the term laminitis is used to describe a systemic disease affecting not only the hooves, but also the general condition of the animal. Researchers believe the inflammation is primarily associated with a dysfunction of the digital vasculature system that results in hypoxia and malnutrition of the sensitive laminar structure in the hoof wall. The aetiology of the circulatory disturbance is not fully understood and there are some possible explanations often related to nutrition, which we will discuss further. Due to mechanical stretching of the attachment between the inner and outer laminar structures of the hoof wall, which has been affected by the inflammation (i.e. laminitis), the claw bone can rotate and or sink inside the hoof [1]. Depending on the severity of the laminitis, the mobility of the claw bone inside the capsule and the counter pressure on the sole from hard floors, the sole corium can be contused and secondary lesions of the sole area can develop [6].

Subclinical laminitis is a multi-factorial welfare issue which predisposes to the development of other sole lesions, such as sole ulcer and white line disease, by weakening the integrity of claw tissues. Its impact on the economy of dairy industries is enormous, with up to 52 % (average 20–25 %) of high-production intensive-managed dairy cows becoming lame each year [4].

Sole ulcers are one of the most common causes of lameness in dairy cows and the most important one [8]. Over the last few years, an extensive change has been in the supposed role of nutritional management in the control of lameness. In the past, the control of subacute ruminal acidosis (SARA) was believed to be a major factor in limiting claw horn lesions because of SARA's suggested role in the development of laminitis [3]. The control of SARA is still believed to be important for maintaining the health and production but it has now been proven to be of low priority in the control of lameness.

In our study 20 % of cows suffering from subclinical laminitis during the controls ended up developing sole ulcer on either the same or different claw. Although the number of patients tested is relatively reduced, the results of the study are significant and justify the hypothesis of the relationship between subclinical laminitis and sole ulcer. As above mentioned, laminitis is a disease of many aetiologies and have such a complex pathogenesis, that some mechanisms may predispose to the development of sole ulcer at a certain time and another time not. It is vital to keep in mind that not only disease or infection leads to sole lesions, but welfare, nutrition, management and different stages of the life of the animal play a crucial role on the emergence of lesions on the claws that cause lameness and reduce productivity.

Table. Assessment of the sole ulcer in 220 dairy cows (100 %) with/without subclinical laminitis

Claw Status	1 st trimming		Sole ulcer on subsequent trimmings	
	N	%	N	%
No Disorders	69	31.4	1	1.45 (of 69)
Subclinical Laminitis	10	4.55	2	20 (of 10)*

Note. * — $P < 0.05$, χ^2 -test.

Conclusion

The results of this study indicate that there is an association between subclinical laminitis and prevalence of sole ulcer in dairy cows. Therefore, a dairy farm management should pay more attention to avoid all known risk for subclinical laminitis development on the farm to prevent higher incidence of lameness.

Prospects for Further Research

Laminitis is a complicated disease of which the origin is not clearly understood. Overall, the update information strongly suggests that endotoxins (ET) play a significant role in the development of laminitis in dairy cows. It is important to continue expanding our knowledge of ET and to develop possible preventative measures against their actions on the host. Although more information is available for the role of lipopolysaccharides, several studies indicate a contribution of lipoteichoic acid in this disorder as well, which demonstrates a need to also increase research efforts in this area.

1. Bergsten C. Causes, risk factors, and prevention of laminitis and related claw lesions. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2003; 44(1): S157. DOI: 10.1186/1751-0147-44-S1-S157.
2. Cook NB, Nordlund KV. The influence of the environment on dairy behavior, claw health and herd lameness dynamics. *Vet Journal*. 2009; 179(3): 360–369. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.09.016.
3. Danscher AM, Toelboell TH, Wattle O. Biomechanics and histology of bovine claw suspensory tissue in early acute laminitis. *Journal of Dairy Science*. 2010; 93(1): 53–62. DOI: 10.3168/jds.2009-2038.
4. Green LE, Hedges VJ, Schukken YH, Blowey RW, Packington AJ. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2002; 85(9): 2250–2256. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74304-X.
5. Knott L, Tarlton JF, Craft H, Webster AJF. Effects of housing, parturition and diet change on the biochemistry and biomechanics of the support structures of the hoof of dairy heifers. *The Veterinary Journal*. 2007; 174(2): 277–287. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.09.007.
6. Ossent P, Lisher C. Bovine laminitis: the lesions and their pathogenesis. *In Practice*. 1998; 20: 415–427. DOI: 10.1136/inpract.20.8.415.
7. Peake KA, Biggs AM, Argo CM, Smith RF, Christley RM, Routly JE, Dobson H. Effects of lameness, subclinical mastitis and loss of body condition on reproductive performance of dairy cows. *Vet. Record*. 2011; 168(11): 301–306. DOI: 10.1136/vr.c6180.
8. Van Amstel SR, Shearer JK. Review of *Pododermatitis circumscripta* (ulceration of the sole) in dairy cows. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2006; 20(4): 805–811. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2006.tb01789.x.

Зв'язок між субклінічним ламінітом та виразкою підошви у корів

П. Мудрон

pavol.mudron@uvlf.sk

Університет ветеринарної медицини та фармації у Кошице, клініка жуйних тварин,
Вул. Коменського, 73, м. Кошице, 04181, Словаччина

Субклінічний ламініт — це багатофакторний синдром зі складною патофізіологією та значним економічним впливом на молочне скотарство. Один із негативних наслідків ламініту на здоров'я великої рогатої худоби полягає в можливому ускладненні його перебігу іншими хворобами копит, зокрема виразкою підошви та патологіями білої лінії. Метою нашого дослідження було з'ясування ролі субклінічного ламініту у розвитку виразки підошви. Використані у цьому дослідженні дані були отримані на 220 молочних голштино-фризьких коровах під час планових сеансів ортопедичного огляду та обрізання копит, а також при лікуванні захворювань копит. Корів утримували на глибокій підстилці і годували повнораціонною кормовою сумішшю (TMR). Середня річна молочна продуктивність корів становила 9000 кг. При першому відвідуванні виявляли корів з субклінічним ламінітом. При наступних обстеженнях всіх корів перевіряли на наявність виразки підошви. З 220 обстежених молочних корів, у 10-ти діагностовано субклінічний ламініт (дослідна група; 4,55 %), а у 69 корів не виявлено жодних патологій копит (контрольна група; 31,4 %). Під час наступних обстежень виразка підошви була виявлена двох корів із групи з субклінічним ламінітом (20 %) та лише у однієї корови контрольної групи (1,45 %). Різниця захворюваності на виразку підошви між групами була статистично вірогідною ($P < 0,05$). Результати цього дослідження свідчать про взаємозв'язок між наявністю субклінічного ламініту та виникненням виразки підошви у корів.

Ключові слова: корови, субклінічний ламініт, виразка підошви



Микола Гамалія — видатний мікробіолог та епідеміолог (до 160-річчя від дня народження)

О. В. Титаренко

elenaviktit@gmail.com

Полтавська державна аграрна академія,
вул. Сковороди, 1/3, м. Полтава, 36003, Україна

Викладено короткий біографічний нарис на пошану 160-річчя від дня народження Миколи Федоровича Гамалії, видатного мікробіолога, епідеміолога, гігієніста і організатора охорони здоров'я, який створив другу в світі бактеріологічну станцію для щеплень проти сказу. Микола Федорович народився 17 лютого 1859 р. в Одесі у сім'ї відставного гвардійського офіцера Федора Михайловича Гамалії. Микола Федорович Гамалія був 12-ю дитиною у сім'ї, яка належала до старовинного дворянського роду. Дід Михайло Леонтійович Гамалія був лікарем, який першим у царській Росії опублікував результати досліджень щодо сибірки. Один з його предків Григорій Висоцький служив у Богдана Хмельницького, був його послом в Туреччині, де отримав прізвище «Гамалія», що з турецької означало «могутній». У 1880 р. Микола Гамалія закінчив Новоросійський університет в Одесі, а у 1883 р. — Військово-медичну академію в Санкт-Петербурзі. У 1883 р. Гамалія повернувся в рідну Одесу. Тут він займався проблемами бактеріології туберкульозу і сибірки. У 1886 р. працював у Парижі у Луї Пастера, вивчаючи щеплення проти сказу, удосконалив пастерівський метод запобіжних щеплень. У 1886 р. Н. Ф. Гамалія разом з І. І. Мечниковим і Я. Ю. Бардахом організували в Одесі бактеріологічну станцію для щеплень проти сказу. Микола Федорович визначив основний захід боротьби з чумою — винищення пацюків. Розробляв щеплення проти висипного тифу і туберкульозу. Микола Гамалія зробив значний науковий внесок у розроблення заходів дезінфекції, ввів термін «дезінсекція», був ініціатором проведення на території всієї країни загальної вакцинації від віспи.

Ключові слова: Гамалія Микола Федорович, історія мікробіології, гігієни та епідеміології

У 2019 р. виповнилося 160 років від дня народження Миколи Федоровича Гамалії, який народився 17 лютого 1859 р. в Одесі в сім'ї відставного гвардійського офіцера Федора Михайловича Гамалії [3]. Микола Федорович був 12-ю дитиною в сім'ї, що належала до старовинного козацького роду. Дід Михайло Леонтійович Гамалія був лікарем, який першим в царській Росії опублікував результати досліджень щодо сибірки [3]. Один з його предків Григорій Висоцький служив у Богдана Хмельницького, був його послом у Туреччині, де отримав прізвище «Гамалія», що турецькою означало «могутній». Звідти і прізвище. Після закінчення приватної гімназії Микола Гамалія вступив на природниче відділення фізико-математичного факультету Новоросійського університету в Одесі [5]. Зараз це Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. Три літніх канікулярних місяці Гамалія щорічно проводив у Франції в Страсбурзькому університеті в лабораторії Ф. Гоппелера, вивчаючи біохімію. У 1880 р. він закінчив

університет і вступив на 3-й курс Військово-медичної академії у Санкт-Петербурзі. Закінчивши у 1883 р. академію, повернувся до рідної Одеси [5].

Лікарі та ветеринари, особливо південних губерній царської Росії, були занепокоєні поширенням таких небезпечних інфекційних захворювань, як сказ з його стовідсотковою смертністю, сибірка і холера. Одеса була своєрідними воротами для епідемій — великий морський порт, в який приходили судна з усього світу, у тому числі з неблагополучних в епідеміологічному аспекті країн. Одеські бактеріологи працювали над створенням надійного щита від епідемій, і молодий лікар Микола Гамалія став причетним до вирішення цієї гострої проблеми [4].

В Одесі він займався проблемами бактеріології туберкульозу і сибірки. У 1886 р. працював у Парижі в Луї Пастера, вивчаючи щеплення проти сказу, удосконалив пастерівський метод запобіжних щеплень. У тому ж році разом з І. І. Мечниковим і Я. Ю. Бардахом організував в Одесі першу в Російській імперії



Рис. 1. Гамалія Микола Федорович [2]
Fig. 1. Hamaliya Mykola Fedorovich [2]

і другу в світі бактеріологічну станцію для щеплень проти сказу [2].

Пастерівська станція була відкрита 12 червня 1886 р., а 11 липня Микола Федорович вже зробив перші щеплення людям, які отримали укуси. Станція спочатку була розміщена в квартирі Гамалії [5].

Впродовж року Гамалія вивчає, удосконалює і аналізує метод Пастера, підтримуючи з ним постійне листування. У результаті цієї роботи були змінені метод приготування вакцини і схема імунізації. Нешкідливість активніших препаратів Гамалія перевіряв на собі [5].

Гамалія займався багатьма проблемами і зробив чимало цінних спостережень, які, як виявилось згодом, не завжди були зрозумілими і оціненими його сучасниками, тому що були зроблені надто рано. Так, у 1888 р. він показав, що збудник чуми рогатої худоби проходить через мікропористі фільтри, які затримують бактерії, тобто виявив вірус. Микола Федорович зауважив явище спонтанного лізису бактерій сибірки, назвав його бактеріолізом, вивчив цей процес і через багато років зрозумів, що відкрив явище бактеріофагії. Але пріоритет вже належав Д'Еррелю [2].

У 1892 р. Микола Гамалія захистив докторську дисертацію на тему «Етіологія холери з точки зору експериментальної патології» [3].

У 1899 р. Микола Федорович стає директором організованого ним на свої кошти Бактеріологічного і фізіологічного інституту в Одесі на базі створеної ним бактеріологічної станції. Колектив Інституту займався діагностикою, навчанням лікарів, випуском лікувальних препаратів (наприклад, протидифтерійної антитоксичної сироватки) [5].

У 1901–1902 рр. Микола Федорович керував протиепідемічними заходами під час чуми в Одесі [2]. Гамалія встановив, що основним джерелом чуми були чорні щури, які прибували до Одеси на пароплавах з теплих країн. Тому Микола Федорович визначив основний захід боротьби з чумою — винищення пацюків. Перш за все було очищено від щурів 42 пароплави, які прибули до порту. У місті, додатково до спеціальних груп міських працівників, він створив добровільні загони зі знищення пароплавних і міських щурів з подальшим спалюванням трупів. Винищення пацюків тривало 12 днів, і спалах чуми в Одесі припинився [5].

У 1908 р. Гамалія був першим, хто зрозумів, що висипний тиф передається через укуси вошей [8]. У 1910 р. вперше обґрунтував значення дезінсекції для ліквідації висипного і поворотного тифів [2]. Микола Федорович ввів термін «дезінсекція» [5]. У 1912 р. Гамалія стає керівником інституту щеплень проти віспи імені Дженнера в Санкт-Петербурзі [3]. Керував інститутом до 1928 р. [2]. Зараз це Санкт-Петербурзький науково-дослідний інститут епідеміології та мікробіології ім. Пастера [9]. Гамалія займався організацією міністерства народного здоров'я, створенням санітарних органів нагляду, перебудовою водопостачання. Розробляв щеплення проти висипного тифу і туберкульозу [3].

Розроблені Гамалією теорії інфекції, запалення, вірусної етіології злоякісних пухлин, вчення про токсини становлять фундаментальну основу загальної патології, імунології, мікробіології та біохімії мікроорганізмів. Гамалія був ініціатором проведення у Петрограді і в усій країні загальної вакцинації проти віспи [3]. Значний науковий внесок зробив у розробку вчення про дезінфекцію [7].

З 1930 по 1938 рр. Гамалія керував Центральним інститутом епідеміології і бактеріології в Москві [2].

У 40-х рр. Микола Федорович фактично здійснив феномен генетичної трансформації кишкових бактерій, що підтверджує наявність матеріального носія спадковості — гену. Роботи з трансформації були продовжені академіком В. Д. Тімаковим та його співробітниками, що у подальшому призвело до створення радянської школи генетики та молекулярної біології мікроорганізмів [2].

У роки Другої світової війни Гамалія для лікування туберкульозу розробив препарат, що складається з двох компонентів: «міколу», який містить антигени туберкульозної палички і характеризується імунізуючим ефектом, і «тіссуліну» — екстракту тканин імунізованих пацюків, що має лікувальну дію [5]. Микола Федорович був автором понад 300 публікацій, серед яких велике місце займали монографії та навчальні посібники. Перший підручник з бактеріології для лікарів був виданий ще у кінці 90-х рр. XIX ст. У 30–40-ті рр. багато поколінь майбутніх лікарів вивчали мікробіологію за його підручниками. З 1938 р. і до кінця життя Микола Федорович завідував кафедрою мікробіології 2-го Московського медичного інституту [2].

У 1941–1944 рр. Микола Гамалія з дружиною Надією, доньками, онуками та іншими видатними радянськими вченими з родинами перебували в евакуації в містечку Борове у Казахстані [1].

У Боровому тоді був туберкульозний курорт. Тут Гамалія організував лабораторію і проводив фундаментальні дослідження щодо специфічного лікування туберкульозу, регенерації тканин і відновлення. Цікавим є факт, що Микола Федорович за досить короткий час вивчив казахську мову і навіть перейняв деякі традиції народного лікування казахів. За методом місцевих лікарів Гамал-ага, як вони з повагою називали Гамалію лікував туберкульозних хворих із використанням золота. 1930 р. в Кзил-Орді казахською мовою, накладом у 4 тисячі примірників була надрукована його книга «Сказ», присвячена організації у Казахстані станції-лабораторії для щеплень від сказу [1].

Гамалія надавав великого значення гіалуронової кислоті, як фактору регенерації тканин, і пропонував її для лікування вогнищ туберкульозного розпаду і трофічних виразок. Незважаючи на похилий вік, читав лекції лікарям, писав спогади, працював над новим виданням підручника [2].

Микола Федорович практично все своє життя також займався проблемою старіння та продовження життєвих меж [1]. Його дружина протягом шістдесяти років життя була для нього вірним другом і помічником. Померла Надія Гамалія у 1944 р., похована у Боровому [1].

У 1939 р. Миколу Федоровича обрали членом-кореспондентом Академії наук СРСР, а в 1945 р. — дійсним членом Академії медичних наук СРСР [8].

Помер Микола Федорович Гамалія 29 березня 1949 р. в Москві у віці 90 років. Неопублікованими залишилися кілька рукописів, у тому числі «Вірусна теорія раку». В останній статті у Миколи Федоровича є такі слова: «Вища радість для вченого — усвідомлювати, що його праці приносять користь людині» [2].

До числа учнів Н. Ф. Гамалії зараховували себе академіки АМН СРСР В. Д. Тімаков і З. В. Єрмольєва [5]. Ім'я Н. Ф. Гамалії у 1949 р. було присвоєно Науково-дослідному інституту епідеміології та мікробіології Академії медичних наук СРСР в Москві. З 1966 по 2014 р. назва інституту змінювалося шість разів. З 2017 р. заклад має назву «Національний дослідницький центр епідеміології та мікробіології імені почесного академіка Н. Ф. Гамалії» Міністерства охорони здоров'я Російської Федерації. Іменем вченого також названа вулиця, на якій розташований дослідницький центр, який проводить фундаментальні і прикладні дослідження з актуальних проблем епідеміології, медичної мікробіології, генетики та молекулярної біології бактерій, інфекційної імунології, клітинної мікробіології та біоінженерії. Дослідження здійснюються в семи відділах центру: епідеміології, генетики та молекулярної біології бактерій, медичної мікробіології, бактеріальних інфекцій, інтерферонів та імунології [6].

У 1964 р. було завершено видання зібрання творів Миколи Гамалії в шести томах [2].

Син почесного академіка Федір Миколайович Гамалія був військовим лікарем у Сибіру, в Забайкальському краї, в регіоні, де час від часу лютували вірусний енцефаліт та інші інфекції [4].

Онук видатного вченого — завідувач відділу клітинної фотобіології і фотомодуляції пухлинного росту Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН Укра-



Рис. 2. М. Ф. Гамалія в президії X Всесоюзного з'їзду бактеріологів, епідеміологів і санітарних лікарів в Одесі, 1926 р. [2]

Fig. 2. M. F. Hamaliya at the Presidium of the X All-Union Congress of Bacteriologists, Epidemiologists and Sanitary Physicians in Odesa, 1926 [2]

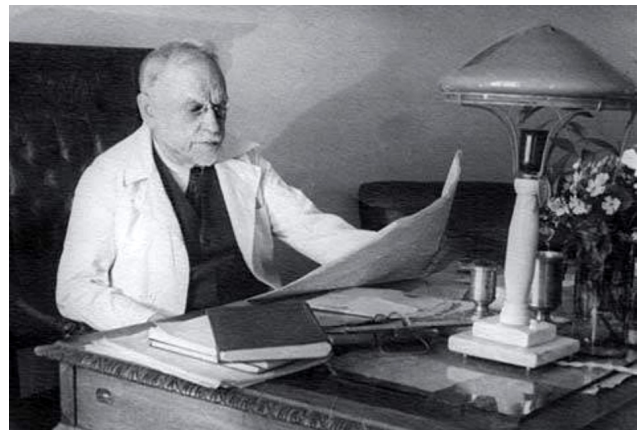


Рис. 3. М. Ф. Гамалія у Боровому, 1941 р. [2]

Fig. 3. M. F. Hamaliya at the Borove, 1941 [2]

їни, доктор біологічних наук, професор Микола Федорович Гамалія, який працює над перспективним методом фотодинамічної терапії пухлин. Головним методом фотодинамічної терапії — вибірковою світловою ураження пухлинної тканини (на відміну від хірургічного втручання) і мала травматичність. Цей метод дозволяє не лише домогтися безпосереднього ураження пухлинних клітин, але й запустити імунологічні механізми [4].

Висновок

Внесок Миколи Федоровича Гамалії у вітчизняну науку є беззаперечним. Микола Федорович удосконалив пастерівський метод запобіжних щеплень проти сказу, займався проблемами сибірки, холери, висипного і поворотного тифів, чуми та віспи, ввів термін «дезінсекція», розробляв методи дезінфекції, проводив фундаментальні дослідження щодо специфічного лікування та профілактики туберкульозу, регенерації тканин і відновлення нервів, розробив теорії інфекції, запалення, вірусної етіології злоякісних пухлин, вченню про токсини, вивчав проблеми старіння.

1. Absemetov MO. Nikolay Fedorovich Gamaleya — the patriarch of microbiology and epidemiology. *Modern Problems of Science and Education*. 2014; 5. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14589> (in Russian)
2. Averbukh L. Gamaleya Nikolay Fedorovich (1859–1949). In: *They left a mark in the history of Odessa*: Odessa biographical reference book. 2015. Available at: <http://odessa-memory.info/index.php?id=116> (in Russian)
3. Bragin K. Nikolay Gamaleya is a founder of nationality medical microbiology. *Russian Planet*. 2017. Available at: <https://rusplt.ru/wins/nikolay-gamaleya-osnovatel-29251.html> (in Russian)
4. Kalita V. The dynasties of doctors and scientists of the Gamaleya are 420 years old. A chronicle of the life of three generations. *Health.ua*. 2015. Available at: <https://health-ua.com/article/18049-dinastii-vrachej-i-uchenyh-gamaleev--420-lethronika-zhizni-treh-pokolenij> (in Russian)
5. Kostyukova N. N. Nikolay Fedorovich Gamaleya. *National Research Centre of Epidemiology and Bacteriology named after Nikolay Fedorovich Gamaleya*. 2009. Available at: <http://www.gamaleya.org/index.php?catid=39&id=39:2009-12-02-08-38-34> (in Russian)
6. National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N. F. Gamaleya. 2019. Available at: <http://gamaleya.org/index.php/2009-12-03-13-53-28> (in Russian)
7. Sarbei V. H. Hamaliia Mykola Fedorovich. In: *Encyclopedia of the History of Ukraine*: vol. 2. Ed. V. A. Smoliy NAS of Ukraine. Institute of Ukrainian History. Kyiv, Naukova Dumka publ. 2004: 688 p. Available at: http://www.history.org.ua/?termin=Gamaliia_M (in Ukrainian)
8. *The Great Soviet Encyclopedia*. 3rd ed. (1970–1979). Available at: <https://encyclopedia2.thefreedictionary.com/Gamaleia%2c+Nikolai+Fedorovich>
9. The History of Saint Petersburg Pasteur Institute. 2019. Available at: <http://www.pasteurorg.ru/rubric/280/Istoriya-Instituta> (in Russian)

Mykola Hamaliya, an outstanding microbiologist and epidemiologist (to the 160th anniversary of the birthday)

E. V. Titarenko
elenavikt@t@gmail.com

Poltava State Agrarian Academy,
1/3 Skovorody str., Poltava, 36003, Ukraine

The brief biographical essay in honor of the 160th anniversary of the birth of Mykola Fedorovich Hamaliya, an outstanding Ukrainian microbiologist, epidemiologist, hygienist and health care organizer who organized the second bacteriological station in the world for vaccination against rabies. He was born on February 17, 1859 in Odesa in the family of a retired Guards Officer Fedir Mykhailovych Hamaliya. Mykola was the 12th child in the family, which belonged to an old cossack family. Grandfather Mykhailo Leontovych Hamaliya was a doctor who was the first in Tsarist Russia to publish the results of his research on anthrax. One of his ancestors, Hryhoriy Vysotsky, served with Bohdan Khmelnytsky, was his ambassador in Turkey, where he got the nickname “Hamalia”, which in Turkish meant “mighty”. Mykola Hamaliya graduated from the University in Odesa in 1880 and the Academy of Military Medicine in St. Petersburg in 1883. In 1883, Hamaliya returned to his native Odesa. He began to study the bacteriology of tuberculosis and anthrax in Odesa. In 1886 he worked in Paris with L. Pasteur. Studying vaccination against rabies, he improved on Pasteur’s method of prophylactic inoculations. In 1886 M. F. Hamaliya, I. I. Mechnikov and Y. Yu. Bardah organized a bacteriological station in Odesa for vaccination against rabies. Mykola Hamaliya identified the main measure of the fight against plague — the extermination of rats. He developed vaccination against typhus and tuberculosis. Mykola Hamaliya made a significant scientific contribution to the development of the doctrine of disinfection, he introduced the term “desinsection” into the language. Hamaliya initiated global vaccination for smallpox.

Key words: Mykola Fedorovich Hamaliya, history of microbiology, epidemiology and hygiene

Titarenko EV. Mykola Hamaliya, an outstanding microbiologist and epidemiologist (to the 160th anniversary of the birthday). *Biol. Tvarin*. 2020; 22(1): 53–56. DOI: 10.15407/animbiol22.01.053.

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН ОГОЛОШУЄ НАБІР:

в АСПІРАНТУРУ —
ОЧНА (ДЕННА / ВЕЧІРНЯ)
І ЗАОЧНА ФОРМА



за спеціальностями:

091 «БІОЛОГІЯ»

спеціалізації: «біохімія», «фізіологія людини і тварин»

211 «ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА»

спеціалізації: «біохімія», «фізіологія людини і тварин»

204 «ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА ТА ПЕРЕРОБКИ ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННИЦТВА»

спеціалізації: «біохімія», «фізіологія людини і тварин»

**При вступі до аспірантури абітурієнти складають
іспити з іноземної мови і спеціальності.**

Навчання в аспірантурі здійснюється за рахунок:

- коштів держбюджету України — за державним замовленням;
- коштів юридичних та фізичних осіб — на умовах контракту (заочна форма).

Термін подання документів: з 01.07. до 31.08.2020 р.

за адресою: Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034.

Довідки за телефонами: (032) 260-07-95, факс (032) 270-23-89;
(032) 270-25-04, +38 (097) 831-83-30 (вчений секретар Інституту).

e-mail: inenbiol@mail.lviv.ua

www.inenbiol.com

Інститут біології тварин НААН оголошує конкурс на здобуття премії імені С. З. Гжицького

Премія імені С. З. Гжицького присуджується за наукові праці (цикл наукових праць) з вивчення і з'ясування фізіолого-біохімічних механізмів формування продуктивності та резистентності організму, дослідження з фізіології і біохімії, живлення тварин, розроблення та впровадження нових біотехнологічних методів, препаратів, біологічно активних добавок, діагностикумів, створення нових порід, типів і ліній сільськогосподарських тварин та птиці, а також за наукові роботи, які є значущими у розв'язанні актуальних проблем збереження поголів'я тварин, підвищення їх продуктивності та плодючості.

Премія присуджується раз на два роки за результатами конкурсу наукових установ системи Національної академії аграрних наук України, Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України і Міністерства освіти і науки України. До участі в конкурсі допускаються роботи, виконані окремими науковцями або колективами науковців, які працюють в установах НААН, Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України і МОН України. Висунення і представлення робіт на здобуття премії імені С. З. Гжицького проводиться колективами наукових підрозділів установи, в якій працюють претенденти, або вченою (науково-технічною) радою. Кожний учасник може бути автором чи співавтором лише однієї з представлених на конкурс (або циклу робіт).

Претендентом на отримання премії може бути колектив до 5 осіб. До участі

у конкурсі допускаються наукові праці, від дня публікації яких минуло не менше 6 місяців, але не більше 5 років, а також винаходи після їх впровадження в народне господарство. Роботи, які вже отримали Державні премії України або інші премії України, до конкурсу не допускаються.



На розгляд ученої ради Інституту біології тварин НААН претенденти мають подають такі документи:

- заяву про участь у конкурсі з переліком членів авторського колективу;
- роботу, що рекомендується (цикл робіт, статей тощо);
- анотацію роботи з коротким викладом її змісту і значення для розвитку науки і народного господарства;
- довідку про творчий внесок кожного з претендентів, підписану кожним з авторів роботи;
- протокол вченої (науково-технічної) ради щодо рекомендації роботи на здобуття премії;
- за потреби — додаткові матеріали (акти апробацій, акти впровадження, копії авторських свідоцтв, відгуки громадськості тощо).

За результатами конкурсу видається свідоцтво про перемогу в конкурсі і пам'ятна відзнака.

Термін подання конкурсних матеріалів — з 1 червня по 15 вересня 2020 року.

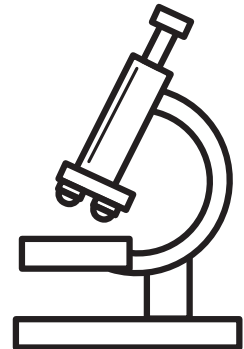
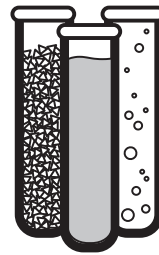
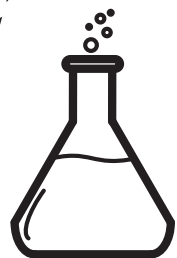
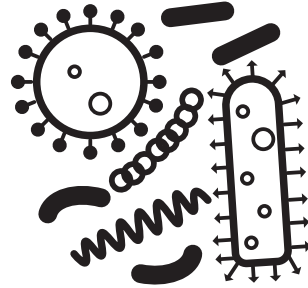
Документи надсилати за адресою: Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034.

Контактний тел.: (032) 260-07-95, , факс (032) 270-23-89.

Конкурсний комітет

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН ПРОВОДИТЬ:

- Дослідження біохімічних показників
(аналізатор *Humalyzer 2000*, Німеччина)
- Гематологічний аналіз
(аналізатор *Mythic-18Vet*, Швейцарія)
- Мікробіологічні дослідження
(посів на стерильність, антибіотикограма,
склад мікрофлори кишечника тварин,
мікробіологічний аналіз кормів, води, повітря)
- Імуноферментні дослідження
(аналізатор *Stat Fax 3000*, Німеччина)
- Оцінка репродуктивної здатності тварин,
штучне осіменіння, трансплантація ембріонів
- Селекційно-генетичні дослідження
- Дослідження кормів
- Дослідження молока
- Дослідження яєць
- Визначення показників якості меду
- Дослідження вовни і волосся
- Атомно-абсорбційний і атомно-емісійний аналіз
концентрації хімічних елементів
- Аналіз органічних добрив



Організовує проведення досліджень на лабораторних тваринах
і надає кваліфіковану інтерпретацію отриманих результатів.

* можливе проведення інших досліджень

** всі лабораторії інституту акредитовані для проведення досліджень

Інститут біології тварин НААН
вул. В. Стуса 38, м. Львів, 79034
тел.: +38 (032) 270-23-89, +38 (068) 709-94-59
e-mail: markinfo@inenbiol.com.ua

Завжди раді співпраці з Вами!

Центр репродуктивної медицини та біотехнології тварин

ПП «Акроміон»

Ми, команда фахівців репродуктологів та біологів-біотехнологів, які вийшли з наукового середовища, мають відповідний науковий ступінь (PhD) за спеціальністю «Біотехнологія тварин» і більш ніж десятирічний практичний досвід, використовуючи найновіші досягнення науки та сучасне обладнання, пропонуємо потенційним клієнтам широкий спектр послуг для домашніх і господарських тварин.

Встановлення оптимального періоду для спаровування чи штучного осіменіння

Для собак — за допомогою основних методів: вагінальної цитології і визначення концентрації прогестерону у крові та допоміжних: ендоскопічна вагіноскопія, УЗД матки і яєчників.

Для коней — УЗД яєчників (діаметр і форма фолікула).

Для кіз і овець — синхронізація статевих охоти у заданій групі в процесі їх підготовки для турового штучного осіменіння.

Штучне осіменіння

Для собак — проведення штучного осіменіння сук як вагінальним методом біля шийки матки (парацервікальний), так і нехірургічним глибокоматковим методом через шийку матки (трансцервікальний) з використанням ендоскопа або «Норвезького катетера» залежно від породи собаки.

Для коней — внутрішньоматкове осіменіння свіжою, охолодженою (транспортованою) та замороженою спермою.

Для кіз і овець — внутрішньоматкове штучне осіменіння кіз та осіменіння вівцематок в шийку матки свіжою або охолодженою спермою, тоді як лапароскопічне внутрішньоматкове осіменіння вівцематок проводиться замороженою спермою.

Для кролів — штучне осіменіння кролиць з використанням як наявних на фермі самців, так і самців, які утримуються в інших власників.

Для качок та індиків — організація штучного осіменіння на фермах з вирощування цих видів птахів, але, у зв'язку з відмінністю між ними у відборі сперми, середовищами та самим осіменінням, є різниця в технологічних підходах.

УЗД-діагностика вагітності

Діагностика вагітності із використанням високоякісного портативного УЗД-апарату з відповідним ветеринарним програмним забезпеченням, що дозволяє встановити термін вагітності та дату пологів у собак, кобил, овець і кіз, а також стать плода кобил (58–70 день жеребності).

Гінекологічне та андрологічне обстеження і лікування тварин з історією неплідності

Ендокринологічне обстеження, УЗД репродуктивних органів, спермограма. Діагностика і лікування патологій простати у собак.

Заморожування сперми (кріоконсервація)

Проводимо заморожування сперми самців різних видів тварин та зберігання її у нашому кріосховищі, яке функціонує вже понад 13 років. Є можливість отримання і подальшого заморожування життєздатних спермій (епідидимальні) від несподівано загиблих самців.

Організація отримання та надсилання охолодженої сперми (в Україні і за її межами)

Сперма псів, жеребців, цапів і баранів (та ін.) після відповідної підготовки і розбавлення поживним середовищем може бути охолоджена до 5 °C і транспортуватися в термоконтейнері протягом кількох діб на великі відстані зі збереженням своєї запліднювальної здатності.

Технологія *Ovum Pick Up**

Відбір незрілих яйцеклітин з яєчників високопродуктивних корів-донорів під контролем УЗД з подальшим дорощуванням та заплідненням *in vitro* сексованою (розділеною за статтю) спермою і культивуванням зародків до трансферабельної стадії. Дозволить отримувати від однієї корови десятки телиць в рік без жодної загрози її репродуктивному здоров'ю. В подальшому планується застосування цієї технології на конях та козах.

*За детальною інформацією стосовно згаданих послуг
та гнучкого індивідуального підходу звертайтеся за тел.: +(380) 68 505 74 57*

* Триває підготовка до впровадження послуги.