

Видається з 1996 року

Засновник і видавець  
Сумський національний аграрний  
університет

Реєстраційне свідоцтво  
КВ № 23689-13529 Р від 21.11.2018 р.

Редакційна колегія серії

**Шкромада О. І.**, доктор ветеринарних  
наук, доцент, редактор, Сумський  
національний аграрний університет  
(Україна)

**Березовський А. В.**, доктор  
ветеринарних наук, професор Сумський  
національний аграрний університет  
(Україна)

**Євстаф'єва В. О.**, доктор ветеринарних  
наук, професор, Полтавська державна  
аграрна академія (Україна)

**Камбур М. Д.**, доктор ветеринарних  
наук, професор, Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Кассіч В. Ю.**, доктор ветеринарних наук,  
професор Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Касяненко О. І.**, доктор ветеринарних  
наук, професор Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Нагорна Л. В.**, доктор ветеринарних  
наук, доцент Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Палій А. П.**, доктор ветеринарних наук,  
професор, ННЦ «Інститут  
експериментальної і клінічної  
ветеринарної медицини» (Україна)

**Петров Р. В.**, доктор ветеринарних  
наук, професор Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Пецца-Кіліб Ева**, кандидат  
ветеринарних наук,  
Вроцлавський університет наук про  
довкілля та життя (Польща)

**Ребенко Г. І.**, кандидат ветеринарних  
наук, доцент Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Сатторов Носирджон.**, доктор  
біологічних наук, доцент, Таджикська  
академія сільськогосподарських наук  
(Таджикистан)

**Скляр О. І.**, доктор ветеринарних наук,  
професор Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Сурай П. Ф.**, доктор біологічних наук,  
професор (Великобританія);

**Улько Л. Г.**, доктор ветеринарних наук,  
професор Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Фотіна Г. А.**, доктор ветеринарних наук,  
професор, Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

**Фотіна Т. І.**, доктор ветеринарних наук,  
професор, Сумський національний  
аграрний університет (Україна)

# ВІСНИК СУМСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО АГРАРНОГО УНІВЕРСИТЕТУ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ  
Виходить 4 рази на рік.

Серія "Ветеринарна медицина"

Випуск 4 (51), 2020

<b>Титух Я. В., Байдевлєтов Ю. А., Ребенко Г. І., Мусієнко Ю. В.</b> Зміни показників запліднюваності за вакцинації корів проти сибірки.....	3
<b>Коваленко Л. М., Коваленко О. І.</b> Патоморфологічні зміни в організмі телят при протозоозах, заходи профілактики .....	11
<b>Герун І. В., Скляр О. І., Мусієнко О. В.</b> Вплив технології виробництва молока на його якість та безпечність .....	17
<b>Abubakari Ibrahim Cawla</b> Comprehensive methods of diagnosis and prevention of postpartum complications in cows.....	23
<b>Неджеря Т. І.</b> Доклінічні дослідження дезінфікуючих властивостей препарату «Контавір» .....	32
<b>Бондаренко І. В.</b> Сироватка кордової крові поєднано з Актовегіном за корекції відтворної функції корів.....	39
<b>Духницький В. Б., Деркач І. М., Деркач С. С., Фрицький І. О., Плутенко М. О.</b> Протіанемічна дія препаратів феруму у поросят .....	46
<b>Yanan Wang, Hanna Fotina</b> Design of antigen synthesis and preparation and characterization of specific and eurytopic antibodies against B-group aflatoxins .....	52

Науковий журнал  
«Вісник Сумського національного  
аграрного університету.  
Серія: ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА»  
визнано фаховим виданням  
Категорії «Б» в галузі ветеринарних  
наук (наказ МОН України  
від 24.09.2020 р. № 1188)

Науковий журнал «Вісник Сумського  
національного аграрного  
університету» індексується в  
Міжнародних наукометричних базах  
Index Copernicus, PИHЦ

Матеріали журналу знаходяться у  
вільному доступі на сайті  
<https://snau.edu.ua>

Усі статті проходять процедуру  
таємного рецензування. До публікації  
в журналі не допускаються матеріали,  
якщо є достатньо підстав вважати, що  
вони є плагіатом.

Відповідальність за точність  
наведених даних і цитат покладається  
на авторів.

Матеріали друкуються українською та  
англійською мовами.

У разі цитування посилання на  
«Вісник Сумського національного  
аграрного університету» обов'язкове

Друкується згідно з рішенням  
вченої ради  
Сумського національного  
аграрного університету  
(Протокол № 7 від 25.12.2020 р.)

Адреса видавця та виготовлювача:  
40021, м. Суми,  
вул. Г. Кондратьєва, 160  
Телефон: (0542)70-10-42  
E-mail: [visnyk.snau@gmail.com](mailto:visnyk.snau@gmail.com)  
<https://snau.edu.ua>

Тираж 300 пр.  
Зам. №6

© Сумський національний  
аграрний університет, 2020

## ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЗАПЛІДНЮВАНOSTI ЗА ВАКЦИНАЦІЇ КОРІВ ПРОТИ СИБІРКИ

**Титух Ярослав Вікторович**

аспірант кафедри акушерства і хірургії  
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)  
ORCID: 0000-0002-2504-0928  
[yaroslavusvet@gmail.com](mailto:yaroslavusvet@gmail.com)

**Байдевлатов Юрій Анварович**

кандидат ветеринарних наук, доцент,  
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)  
ORCID: 0000-0001-5042-7414  
[yurii.baydevlatov@snau.edu.ua](mailto:yurii.baydevlatov@snau.edu.ua)

**Ребенко Галина Іванівна,**

кандидат вет. наук, доцент,  
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)  
ORCID: 0000-0002-1884-4901,  
[halyna.rebenko@snau.edu.ua](mailto:halyna.rebenko@snau.edu.ua)

**Мусієнко Юрій Володимирович**

кандидат ветеринарних наук, доцент  
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)  
ORCID: 0000-0002-9735-4758  
[musik\\_ne@ukr.net](mailto:musik_ne@ukr.net)

*Показник запліднюваності є одним з маркерів ефективності галузі тваринництва, проте благополучному утворенню і закріпленню зиготи в слизовій оболонці матки можуть перешкоджати не лише різні запальні процеси, а й імунологічні реакції поствакцинального комплексу.*

*Попередні спостереження за станом запліднюваності корів в господарстві вказували на суттєве зниження цього показника як раз після проведення вакцинації проти сибірки. Результати досліджень, наведені в статті показують достовірне зменшення показника запліднюваності. На нашу думку, це пов'язане з імунологічними процесами в організмі провакцинованих корів, яких осіменяли. Тобто, стимульована під час вакцинації імунна система не здатна гальмувати свою роботу в окремо взятих статевих шляхах, тому й заважає прикріпленню успішно утвореної при заплідненні зиготи до слизової матки, що в підсумку закінчується безпліддям і настанням повторної охоти.*

*Отримані результати дозволяють стверджувати, що вакцинація тварин проти сибірки і особливо період активного формування поствакцинального специфічного імунітету знижують показники відтворення у корів: показники запліднюваності знижувалися на 16,2% протягом першого тижня після вакцинації та на 50% протягом другого у порівнянні з показниками тварин, які осіменялися до початку вакцинації*

*З'ясовано, що у корів, яких осіменяли під час імунологічного навантаження, відмічене збільшення тривалості термінів неплідності – відповідно на 12,7% та 38,6%.*

*Економічні розрахунки показали, що збитки від недоотримання телят в групі корів, осіменених безпосередньо після вакцинації, були в 2,7 разі більші, а в групі корів, осіменених на другому тижні після вакцинації, – відповідно в 3,5 рази вищі, ніж у корів, яких осіменяли до вакцинації. Збитки від недоотримання молока в цих групах збільшились відповідно на 7,6 % та 38,4%.*

*Ключові слова: показники запліднюваності, штучне запліднення, вакцинація проти сибірки, економічні збитки.*

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.4.1>

**Вступ.** Показник запліднюваності, як один з маркерів ефективності галузі тваринництва, залежить від цілого ряду факторів, серед яких запальні явища статевих шляхів самок (найчастіше ендометрити), якість сперми, дотримання термінів та кондицій. Фізіологічне середовище в статевих шляхах має забезпечити благополучне утворення зиготи, проте не лише запальні процеси заважають в цьому випадку. Імунологічні реакції поствакцинального комплексу також здатні впливати на запліднюваність.

Створення належних умов утримання поголів'я, виконання комплексу рекомендацій щодо повноцінної і якісної годівлі тварин, організація і своєчасне проведення оздоров-

чих і профілактичних заходів дозволяють підтримувати благополуччя господарств різної форми власності стосовно інфекційних і незаразних хвороб, а також отримувати високі показники продуктивності тварин і продукцію належної якості у відповідності до стандартів. До списку особливо небезпечних хвороб, проти яких запроваджена обов'язкова щорічна вакцинація всіх видів сприйнятливих тварин, є сибірка. Для імунізації використовують живу вакцину, застосування якої вимагає розуміння можливих небажаних наслідків та вжиття заходів з їх запобігання.

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** Споруюча бактерія *Bacillus anthracis* - збудник сибірки -

розповсюджена практично всюди, де є тваринництво, в тому числі і в Україні. За повідомленням Рубленко І.О. (2018) лише на території України знаходиться більше 13,5 тис. захоронень тварин, що загинули від сибірки. Поширеність цього мікроорганізму та його стійкість в довкіллі створюють передумови стаціонарного неблагополуччя територій і постійної загрози зараження свійської худоби, попередити яку можна лише охопленням профілактичними щепленнями усього поголів'я тварин (Rublenko, I.O., 2018).

З часів запровадження першої ефективної живої протисибіркової вакцини Л. Пастера було запропоновано декілька варіантів засобів для активної імунізації. Більшість ветеринарних вакцин в світі використовують токсигенні безкапсульні (рХО1 + / рХО2-) штами *Bacillus anthracis* Stern 34F2, K79Z, CB, UA-07, тощо, які забезпечують імунний захист шляхом утворення нейтралізуючих антитіл до компонентів сибіркового токсину: протективного антигену, летального фактору та фактору набряку (Adone, R., Sali, M., Francia, M., Iatarola, M., Donatiello, A., Fasanella, A., 2016, Rublenko, I.O., 2018).

Не зважаючи на визнаний основний спосіб зараження людей від хворих тварин та через контаміновану продукцію тваринництва – тобто типовий зооноз, – останнім часом *Bacillus anthracis* віднесено до мікроорганізмів з високим потенціалом використання за біотероризму (Spickler, A.R., 2017). Випадки застосування спор сибірки для соціально-політичної дестабілізації широко відомі. Так, ще у 2001 році *B. Anthracis*, використана як біологічна зброя, призвела до захворювання 22 осіб та смерті 5. (Martin E. Hugh-Jones, 2015). Отже, застосування вакцин проти сибірки є актуальним не лише для попередження хвороби у тварин. Люди, що входять до груп ризику, також мають бути захищені за допомогою вакцинопрофілактики.

Для пре-експозиційної імунізації людей, наприклад, в США та Європі застосовують субдинні вакцини з очищених білків *B. anthracis* (Arthur M. Friedlander, John D. Grabenstein, Philip S. Brachman, Stanley A. Plotkin, Walter A. Orenstein, Paul A. Offit, Kathryn M. Edwards, 2018).

Таку вакцину отримують шляхом кон'югування капсули з білковим носієм. Кон'югована вакцина проти капсули *B. anthracis*, індукована антитілами до опсоно-адгезії. Вона ефективна проти інгаляційної форми зараження сибіркою. Капсульна вакцина виявилася першою не пов'язаною з токсином-антигеном (Chabot, D.J., Joyce, J., Caulfield, M., Cook, J., Hepler, R., Wang, Su, Vietri, N. J., Ruthel, G., Shoop, W., Pitt, L., Leffel, E., Ribot, W., Friedlander, A. M. (2012)..

Доведено багатьма дослідженнями, що потрапляння антигену в організм викликає цілий ряд специфічних та неспецифічних реакцій, які в більшості випадків спричиняють негативний вплив на різні органи і системи, перебудову їх функціональної діяльності, відтворюючи легку форму перебігу захворювання.

До найпоширеніших ризиків, пов'язаних з вакцинами, належать залишкова токсичність, яка може спричинити реакції на місці ін'єкції, депресію, алергічні реакції, захворювання імуноскомпроментованих господарів (особливо модифіковані живі вакцини), неврологічні ускладнення та іноді загострення прихованих інфекцій, спричинених іншими патогенами. Вакцини, що містять вбиті грамнегативні організми, можуть також містити сліди ендотоксинів, які стимулюють вивільнення інтерлейкіну-1 і можуть спричинити лихо-

манку та лейкопенію, а іноді і аборти (Ian Tizard, 2020).

Сама процедура імунізації є додатковим стресом для організму, особливо в періоди зниженої резистентності, фізичної ослабленості, вагітності, тощо. Застереження щодо використання живих спорових вакцин з безкапсульних штамів *Bacillus anthracis* для вагітних тварин вказані навіть в OIE Terrestrial Manual (2018).

Таким вразливим періодом за даними дослідників є процеси осіменіння та запліднення самок, які регулюються різними групами гормонів і в повній мірі залежать від загального стану організму та адекватності імунологічних реакцій, особливо реакцій гальмування імунної відповіді, для попередження деактивації сперматозоїдів, а також відторгнення ембріона.

Американські дослідники, що вивчали питання вакцинації проти сибірки з метою запобігання зараженню, якщо *B. anthracis* використовується як біологічна зброя, але довгостроковий вплив вакцинації проти сибірки на репродуктивний результат був невідомий, поки William H. Catherino, Andrew Levi, Tzu-Cheg Kao, Mark P. Leondires, Jeffrey McKeeby та James H. Segars (2005) не встановили, що вакцина проти сибірки для чоловіків, яким її вводили, не впливала негативно на параметри сперми, рівень запліднення, якість ембріонів чи клінічну вагітність.

Вивчення залежності побічних реакцій в поствакцинальному періоді за використання протисибіркових вакцин від статі вакцинованих виявило більшу частоту ускладнень у самок за підвищеного рівня статевих гормонів. (Tracy Pondo, Charles E. Rose, Stacey W. Martin, Wendy A. Keitel, Harry L. Keyserling, Janiine Babcock, Scott Parker, Robert M. Jacobson, Gregory A. Poland, Michael M. McNeil 2014)

В доступній нам літературі існують відомості, що зростаюча кількість жінок вакцинується протягом дітородних років вакциною BioThrax® (адсорбована вакцина проти антраксу або AVA). Існує обмежена кількість досліджень на людях, щодо впливу AVA на репродуктивне здоров'я. AVA безпосередньо або опосередковано через вироблення анти-PA IgG, як видається, не чинить несприятливого впливу на вагітних або їх потомство, як вимірюється за показниками спаровування та народжуваності, спостереженнями природних пологів, клінічними ознаками, внутрішньоутробного росту і виживання, морфологічного розвитку та життєздатності плоду. Проте, у жінок, щеплених вакциною проти сибірки AVA, знижений рівень прогестерону в сироватці крові до вакцинації був пов'язаний з порушенням водно-електролітного балансу і подальшим розвитком набряку руки в місці введення. Введення вакцини AVA з урахуванням менструальної фази жінки може зменшити появу певних реакцій у місці ін'єкції (Zhang, Y., Martin, S.W., Rose Jr., C.E., Biagini, R.E., Franzke, L.H., Smith, J.P., Sammons, D.L., Robertson, S.A, McNeil, M.M., 2008).

Найбільш поширеними побічними явищами, які оцінювали як пов'язані з вакцинацією BioThrax та AV7909, були реакції на місці ін'єкції. Транзиторна лімфопенія спостерігалася після першої дози в кожній групі. Частота реакцій в місці ін'єкції та системні реакції були зафіксовані суб'єктами у щоденниках протягом 7 днів після кожної ін'єкції. У дослідженні не спостерігалось особливих цікавих явищ (аутоімунних подій) 9Robert J. Hopkins, Nancy F. Daczowski, Paulina E. Kaptur, Derek Muse, Eric Sheldon, Craig LaForce, Suha Sari, Thomas L. Rudge, Edward Bernton, 2013).

Розглядаючи питання імуногенезу, ми знайшли повідомлення Kern, J. та Schneewind, O. (2010), що мікробні патогени використовують поверхневі клейкі білки, щоб зв'язуватися з тканинами хазяїна та взаємодіяти з ними. BslA, білок S-шару, є необхідним та достатнім для адгезії вакцинного штаму *Bacillus anthracis* Sterne, до клітин-господарів. Порівняно з надзвичайно вірулентним батьківським штамом *B. anthracis* Ames, мутанти bslA демонстрували різке збільшення летальної дози та середнього часу до смерті. У той час як усі тканини тварин, інфікованих *B. anthracis* Ames, містили велику кількість паличок, лише кілька вегетативних форм можна було відновити з внутрішніх органів тварин, інфікованих мутантом bslA. BslA на поверхні (на полюсах інкапсульованих паличок) забезпечував зв'язування вегетативних форм з клітинами-господарями, тобто функціонував як поверхневий адгезин.

Екзотоксини, що виділяються *B. anthracis*, використовують білок капілярного морфогенезу 2 (CMG2) як головний рецептор токсину і відіграють важливу роль у патогенезі протягом усього перебігу захворювання (Liu, S., Moayeri, M., Leppla, S.H, 2014).

Введення набрякового токсину, як зазначають Firoved, A.M., Miller, G.F., Moayeri, M., Kakkar, R., Shen, Y., Wiggins, J.F., McNally, E.M., Tang, W.-J., Leppla, S.H. (2005), призводить до збільшення кількості цитокінів, включаючи гранулоцитарний колоніестимулюючий фактор, еотаксин, цитокін, що походить від кератиноцитів, MCP-1 / JE, інтерлейкін-6, інтерлейкін-10 та інтерлейкін-10. Фізіологічні вимірювання також виявили одночасну гіпотензію та брадикардію.

Місця введення вакцин проти сибірки (вбитої KBMA та живої HBSS) оцінювали Skoble, J., Beaber, J.W., YiGao, Lovchik, J.A., Sower, L.E., Liu, W., Luckett, W., Peterson, J. W., Calendar, R., Portnoy, D. A., Lyons, C. R. and Dubensky, T.W. Jr. (2009). Сліпе рандомне дослідження на ступінь тяжкості запалення на основі наявності нейтрофілів та мононуклеарних клітин або пошкодження міоцитів в місці введення. Запалення в групі, яка отримувала вакциновану KBMA, досягло максимуму через 1 день після первинної вакцинації і не відрізнялося від запалення, яке було введено HBSS через 1 тиждень. У тварин, вакцинованих спорами живої вакцини, запалення поступово наростало до 14-го дня, залишалось високим до 21-го дня.

Fasanella, A., Tonello, F., Garofolo, G., Muraro, L., Carattoli, A., Adone, R., Montecucco C. (2008) досліджували поствакцинальні реакції на рекомбінантну вакцину проти сибірки. Системних реакцій не спостерігалось: ані симптомів токсинемії або бактеріемії сибірки, ані температури або чутливості. На місці ін'єкції спостерігався лише тимчасовий локальний набряк, ймовірно, через масляну суміш, але макроскопічних ознак некрозу не спостерігалось.

Отже, як бачимо з попередніх повідомлень, усі види вакцин проти сибірки давали незначні або місцеві реакції, які ніяк не могли стосуватися слизової оболонки статевих шляхів. Яким іншим чином проведення вакцинації могло вплинути на показники запліднюваності. Відомо, що вагітність з ранніх термінів пов'язана з обширними імунологічними адаптаціями в організмі, які змінюють імунологічну реактивність до багатьох захворювань,

Імунна система слизової самиць може розпізнавати алогенні специфічні для сперматозоїдів білки, що впливають

на кінематику сперми та зони зв'язування сперматозоїдів, що призводить до імунного безпліддя. Archana, SS, Selvaraju, S, Binsila, BK, Arangasamy, A, Krawetz, SA. (2019) зазначають, що середовище цитокінів і лейкоцитів, що створюється спермою в жіночих репродуктивних шляхах, переважно в шийці матки, збільшує експресію генів запальної та імунної відповіді. В матці прозапальні хемокіни, цитокіни та макрофаги допомагають захистити алогенні сперматозоїди в жіночих репродуктивних шляхах. Під час неінфікованих умов клітини ендометрію можуть секретувати T-клітини, що несуть CD25, CD59, тоді як клітини трофобластів виділяють додаткові регуляторні білки, такі як CD55 і CD46, що, в свою чергу, допомагає встановити бластоцисту в матці.

Hansen, P. J. (2007) також підтверджує думку, що вагітність призводить до зміни кількості та функції імунних клітин статевих шляхів самки, що потенційно впливає на виживання плода та захисні механізми матки після пологів. Ці зміни регулюються сигналами від пладу, а також гормональними змінами, спричиненими плацентою або материнським організмом. T-клітини накопичуються в епітелії матки під час вагітності і можуть брати участь у рості пладу, імунодепресії або відшаруванні плаценти при пологах.

Це відбувається завдяки прогестерону, пригнічує імунну відповідь матки, викликаючи в епітелії ендометрію секрецію інгібітора серинової протеїнази, що називається маточним серпіном. Серпін матки може блокувати проліферацію лімфоцитів *in vitro* та клітин-кіллерів, що зумовлюють аборт *in vivo* у мишей. Відповідність змін імунної функції матки репродуктивному та імунному статусу жуйних тварин до кінця не встановлена. Є дані про імунологічні причини втрати вагітності,

Оптимальна імунна функція статевих шляхів самки вимагає балансу між необхідністю підтримувати ефективний імунний нагляд та ефекторними механізмами з вимогою мінімізувати імунологічні реакції, що ведуть до загибелі плоду.

Про випадки порушення відтворної функції, пов'язаної з вакцинацією проти сибірки повідомляли Bassuino, D.M., Siqueira, F.M., Konradt, G., Vielmo, A., Rolim, V.M., Gonçalves M.A., Cibulski S.P., Snel, G., MayerF.Q., Castagna de Vargas A. Driemeier, D. Pavarini, S.P. (2020), зазначивши при цьому, що хоча вакцинація проти сибірської виразки характеризується підвищеним захисним профілем та дуже низькою залишковою вірулентністю, імунізація вакциною з штаму *Sterne* може спричинити аборт у великої рогатої худоби, імовірно, плазмідними токсинами rX01 у рідкісних або особливих ситуаціях. Ідентифікація *B. anthracis* була підтверджена виявленням молекулярного хромосомного маркера Ba813. Геномі з ізолюваного *B. anthracis* (з назвою SPV842\_15) та з ізолюваного вакцинного штаму (бразильського вакцинного штаму), який був вилучений з комерційної вакцини, що застосовується у вагітної корови, були секвенировані. Геномні порівняння показали високий рівень ідентичності нуклеотидів у порівняннях між *B. anthracis* SPV842\_15 та бразильським вакцинальним штамом *B. anthracis* (98,2%). Крім того, в обох штаммах була виявлена лише послідовність плазміди rX01.

Мануйлов А.В. (2004) вказував, що висока імунологічна реактивність організму корів під час формування та розвитку плода свідчить про відсутність адекватних взаємин у системі «мати-плацента-плід», а також про недостатню

взаємну толерантність. Зміна імунного статусу організму корови під час вагітності в сторону його специфічної і неспецифічної активізації (що спостерігається при введенні їй вакцинних антигенів), позначається на рефрактерності зародка, на взаємній толерантності його організму і організму матері, на нормальному функціонуванні її репродуктивної системи.

**Метою нашої роботи** було вивчення впливу вакцинопрофілактики проти сибірки на стан відтворної функції корів в умовах господарства ТОВ «Агрофірма Лан» Сумського району Сумської області.

**Матеріали і методи досліджень.** Дослідження проводились на поголів'ї великої рогатої худоби голштинської породи ТОВ «Агрофірма Лан» Сумського району Сумської області

Вакцинація проти сибірки проводилася вакциною живою споровою проти сибірки тварин із штаму «СБ» виробництва Сумської біологічної фабрики відповідно до плану заходів з профілактики заразних хвороб, затвердженого для Сумського району, а також згідно з настановою по застосуванню вакцини.

Для оцінки впливу проведеної імунізації на репродуктивну здатність корів було сформовано 3 дослідні групи: перша група – корови, осіменіння яких відбулося до вакцинації, друга – осіменіння відбувалося під час і протягом 1-6 днів після вакцинації проти сибірки, і третя група – тварини, що прийшли в охоту і осіменілися з 7-го по 14 день після вакцинації. Штучне осіменіння проводилося ректоцервікальним методом. При цьому застосовували одноразовий стерильний інструмент для введення спермодози у цервікальний канал тварин у вигляді паєт (пакетів, соломинок) з розмороженою спермою.

Тварини утримувалися в аналогічних умовах, для

них застосовували однаковий раціон, режим годівлі та технологічні маніпуляції.

За тваринами усіх трьох груп встановили контроль клінічного стану. Фіксувалися терміни настання статевої охоти.

Визначали показники запліднюваності за результатами УЗД діагностики, аналізували відсоток запліднених корів та тривалість неплідності по групам.

За отриманими результатами проводили розрахунки економічних збитків від збільшення періоду неплідності, виражені в недоотриманні приплоду та недоотриманні молока, згідно загальноприйнятої методики визначення економічної ефективності ветеринарних заходів, використовуючи актуальні для даного господарства на момент розрахунків закупівельні ціни.

#### Результати досліджень

Для визначення результативності штучного осіменіння в господарстві і подальшого використання цього показника як базового для аналізу впливу проведення вакцинації корів проти сибірки, ми провели визначення показників запліднюваності у корів, які увійшли в групу 1. Середньорічні показники в цьому випадку не можуть бути використані у зв'язку з їх коливанням в залежності від сезону. Запліднюваність у весняну пору року стабільно нижче середньорічної за останні 3 роки, а план профілактичних протиєпізоотичних заходів передбачає щеплення проти сибірки завчасно перед початком пасовищного сезону.

Дані таблиці 1 свідчать про те, що в групі тварин, які осіменілися до початку вакцинації проти сибірки із загальної кількості 23 голови запліднилось 10 голів. При цьому середній по групі показник запліднюваності складав 43,4 %, тривалість неплідності по групі впродовж місяця становила 390 днів, що в перерахунку на 1 голову складала 16,95 днів.

Таблиця 1

#### Результати осіменіння корів до вакцинації проти сибірки

Всього голів	Прийшло в охоту і осіменено			Тільних	Запліднюваність, %	Середня запліднюваність по групі, %	Днів неплідності по групі	В перерахунку на 1 голову
	№ охоти	голів	%					
23	I	9	39,0	2	22,0	43,4	390	16,95
	II	2	8,7	0	0			
	III	7	30,4	5	71,0			
	IV	5	21,7	3	60,0			

В групі тварин, осіменіння яких співпало в часі з періодом проведення вакцинації і в найближчі за вакцинацією дні спостерігалось незначне зниження результативності штучного осіменіння (таблиця 2). Так, середній по групі

показник запліднюваності становив 36,4 %, що помітно нижче, ніж у першій дослідній групі. Тривалість неплідності була на 30 днів по групі більше і в перерахунку на 1 голову була вищою - 19,1 %.

Таблиця 2

#### Результати осіменіння корів в період вакцинації проти сибірки

Всього голів	Прийшло в охоту і осіменено			Тільних	Запліднюваність, %	Середня запліднюваність по групі, %	Днів неплідності по групі	В перерахунку на 1 голову
	№ охоти	голів	%					
22	I	8	36,4	1	12,5	36,4	420	19,1
	II	4	18,2	3	75,0			
	III	6	27,3	3	50,0			
	IV	4	18,2	1	25,0			

Суттєве зниження рівня запліднюваності спостерігалось в групі, корови якої були піддані осіменінню на другому тижні після завершення вакцинації, в період, коли імунна система тварин, потужно простимульована живою вакциною, як раз активно напрацьовувала специфічні антитіла.

Дані по цій групі наведені в таблиці 3. Середній показник по групі становив 21,7 %, що вдвічі нижче, ніж показали тварини з першої групи. Тривалість неплідності на 1 голову складала 23,5 днів.

## Результати осіменіння корів через 7 днів після вакцинації проти сибірки

Всього голів	Пришло в охоту і осіменено			Тільних	Запліднюваність, %	Середня запліднюваність по групі, %	Днів неплідності по групі	В перерахунку на 1 голову
	№ охоти	голів	%					
23	I	15	65,2	2	13,3	21,7	540	23,5
	II	2	8,7	1	50,0			
	III	3	13,0	0	0			
	IV	3	13,0	2	66,6			

Таким чином, результати свідчать про те, що і сама вакцинація, і особливо період активного формування пост-вакцинального імунітету проти сибірки негативно впливають на показники відтворення у корів. При цьому суттєво знижу-

ються показники запліднюваності – відповідно на 16,2% та на 50% (рис 1), а також збільшується тривалість термінів неплідності – відповідно на 12,7% та 38,6%.

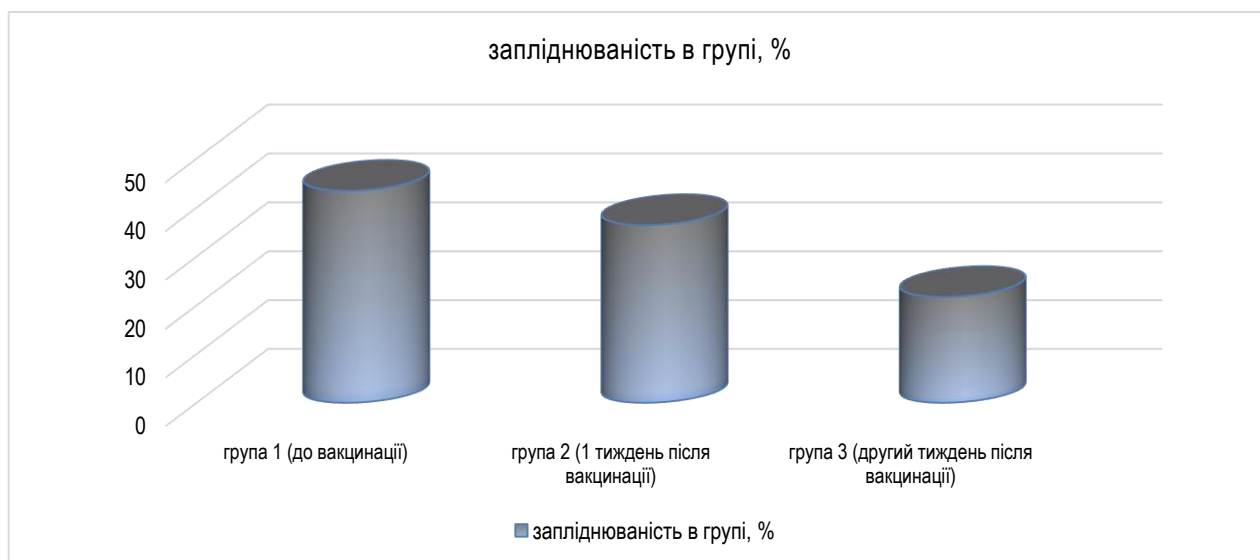


Рис 1. Залежність показників запліднюваності від проведення вакцинації проти сибірки

Зниження запліднюваності призводить до збільшення періоду неплідності, а відповідно до недоотримання

приплоду та вподальшому, молока, що помітно відображується на економічних показниках господарства (таблиця 4).

Таблиця 4

## Економічні збитки від втрати продуктивності корів

Групи корів	Недоотримано молока, ц/ грн	Недоотримано телят (голів)	Сума збитків (грн.)	Сума збитків в перерахунку на 1 голову
До вакцинації	11,7	1,24	13490,6	586,5
	11700	1790,6		
Під час вакцинації	12,6	1,33	17401,3	790,9
	12600	4801,3		
На другому тижні після вакцинації	16,2	1,71	22373,1	972,7
	16200	6173,1		

Розраховуючи показники економічних збитків від недоотримання продукції слід зазначити, що, враховуючи в цілому великі терміни неплідності по господарству в цей період часу, більшу частину збитків становлять втрати виручки за молоко. А по групах тварин, що осіменялися під час імунологічного навантаження, суттєвий внесок в економічні

збитки мають втрати від недоотримання телят. В другій дослідній групі (осіменених безпосередньо після вакцинації) ці збитки були в 2,7 разів більші, ніж в першій, а в третій (осіменених на другому тижні після вакцинації) – відповідно в 3,5 рази. Збитки від недоотримання молока в цих групах збільшились відповідно на 7,6 % та 38,4%. (рис 2.)

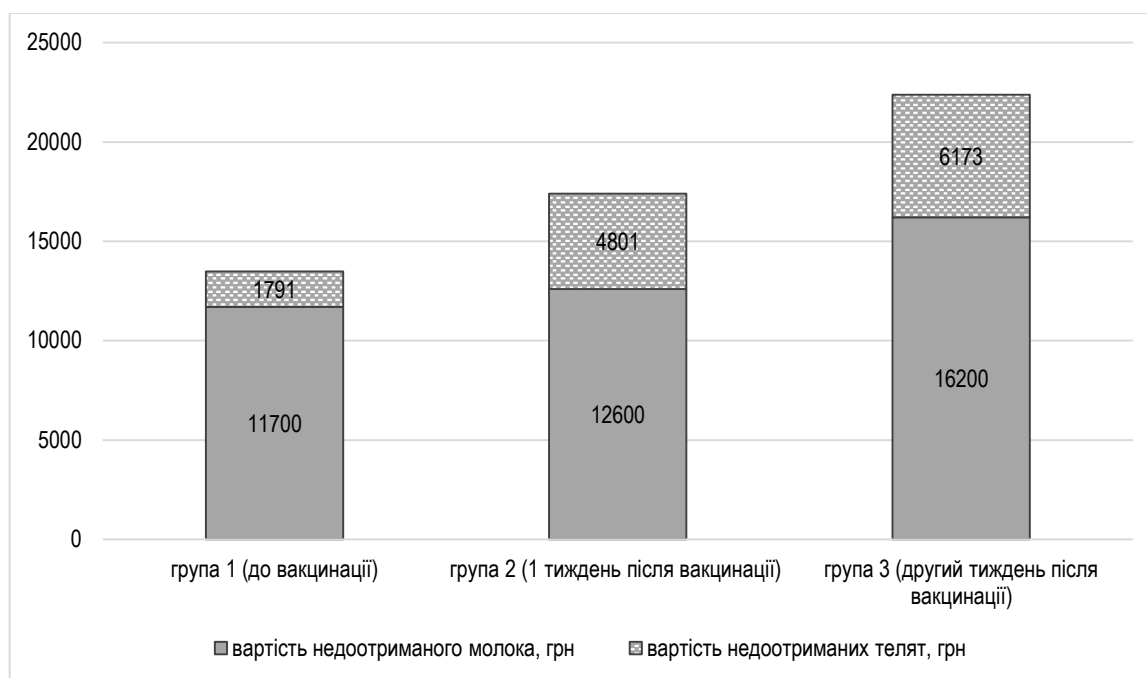


Рис 2. Грошові втрати від недоотримання продукції по групам до і після проведення вакцинації корів проти сибірки

Вартість від втрати продукції в перерахунку на 1 корову збільшилась відповідно по групам на 204, 4 грн та на 386,2 грн у порівнянні з групою тварин, які осіменялися до вакцинації.

#### Обговорення

Отже, багаторічні попередні спостереження за станом запліднюваності корів в господарстві вказували на різке зниження цього показника як раз після проведення вакцинації проти сибірки. Результати досліджень, наведені в статті показують достовірне зменшення показника запліднюваності.

На нашу думку, це пов'язане з імунологічними процесами в організмі провакцинованих корів, яких осіменяли. Описані П. Хансеном (2007) гормонально-імунологічні механізми пригнічення імунної відповіді матки допомагають закріпленню бластоцисти в слизовій матки. Отже, стимульована під час вакцинації імунна система не здатна гальмувати свою роботу в окремо взятих статевих шляхах, тому й заважає прикріпленню успішно утвореної при заплідненні зиготи до слизової матки, що в підсумку закінчується безпліддям і настанням повторної охоти.

Про відсутність адекватних взаємин у системі «матиплацента-плід», а також про недостатню взаємну імунологічну толерантність внаслідок специфічної активізації імунітету вказував також Мануйлов А.В. (2004).

Бразильські вчені Bassuino, D.M., Siqueira, F.M., зі співавторами (2020), відзначили. Що в окремих випадках

імунізація вакциною проти сибірки з штаму *Sterne* може спричинити навіть аборт у великої рогатої худоби.

#### Перспективи досліджень з даного напрямку.

Для подальших досліджень варто було б глибше зрозуміти імунологічні підстави такого виду неплідності, визначити, чи інші вакцини (особливо живі) мають подібний вплив, знайти способи обійти тимчасову гіперактивізацію імунної системи локально для слизової статевих шляхів, щоб мінімізувати втрати.

#### Висновки.

1. Вакцинація проти сибірки і особливо період активного формування поствакцинального імунітету знижують показники відтворення у корів: показники запліднюваності знижувалися на 16,2% протягом першого тижня після вакцинації та на 50% протягом другого у порівнянні з показниками тварин, які осіменялися до початку вакцинації

2. У корів, яких осіменяли під час імунологічного навантаження, відмічене збільшення тривалості термінів неплідності – відповідно на 12,7% та 38,6%.

3. Економічні збитки від недоотримання телят в групі корів, підданих осімененню безпосередньо після вакцинації, були в 2,7 разів більші, а в групі корів, осіменених на другому тижні після вакцинації, – відповідно в 3,5 рази вищі, ніж у корів, яких осіменяли до вакцинації. Збитки від недоотримання молока в цих групах збільшилось відповідно на 7,6 % та 38,4%.

#### References

1. Adone, R., Sali, M., Francia, M., Iatarola, M., Donatiello, A., Fasanello, A. (2016). Development of a Sterne-Based Complement Fixation Test to Monitor the Humoral Response Induced by Anthrax Vaccines. *Frontiers in Microbiology*, 7, 19. DOI=10.3389/fmicb.2016.00019. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00019> [accessed Sep 23 2020].
2. Archana, SS, Selvaraju, S, Binsila, BK, Arangasamy, A, Krawetz, SA. (2019). Immune regulatory molecules as modifiers of semen and fertility: A review. *Mol Reprod Dev.*, 86: 1485– 1504. <https://doi.org/10.1002/mrd.23263>
3. Archana, SS, Selvaraju, S, Binsila, BK, Arangasamy, A, Krawetz, SA. Immune regulatory molecules as modifiers of semen and fertility: A review. *Mol Reprod Dev.* 2019; 86: 1485– 1504. <https://doi.org/10.1002/mrd.23263>



4. Arthur M. Friedlander, John D. Grabenstein, Philip S. Brachman, Stanley A. Plotkin, Walter A. Orenstein, Paul A. Offit, Kathryn M. Edwards. (2018). Plotkin's Vaccines (Seventh Edition), Anthrax Vaccines, Elsevier, 134-148. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35761-6.00011-0>.
5. Bassuino, D.M., Siqueira, F.M., Konradt, G., Vielmo, A., Rolim, V.M., Gonçalves M.A., Cibulski S.P., Snel, G., Mayer F.Q., Castagna de Vargas A. Driemeier, D. Pavarini, S.P. (2020) Bovine abortion by a vaccine strain of Bacillus anthracis *Ciência Rural* 50(12). DOI: 10.1590/0103-8478cr20200264. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/344324108\\_Bovine\\_abortion\\_by\\_a\\_vaccine\\_strain\\_of\\_Bacillus\\_anthraxis](https://www.researchgate.net/publication/344324108_Bovine_abortion_by_a_vaccine_strain_of_Bacillus_anthraxis) [accessed Oct 2 2020]
6. Chabot, D.J., Joyce, J., Caulfield, M., Cook, J., Hepler, R., Wang, Su, Vietri, N. J., Ruthel, G., Shoop, W., Pitt, L., Leffel, E., Ribot, W., Friedlander, A. M. (2012). Efficacy of a capsule conjugate vaccine against inhalational anthrax in rabbits and monkeys. *Vaccine*, 30, 5, 846-852. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.010>.
7. Fasanella, A., Tonello, F., Garofolo, G., Muraro, L., Carattoli, A., Adone, R., Montecucco C. (2008). Protective activity and immunogenicity of two recombinant anthrax vaccines for veterinary use. *Vaccine* 26(45), 5684-5688. DOI:10.1016/j.vaccine.2008.08.026
8. Firoved, A.M., Miller, G.F., Moayeri, M., Kakkar, R., Shen, Y., Wiggins, J.F., McNally, E.M., Tang, W.-J., Leppla, S.H. (2005). Bacillus anthracis edema toxin causes extensive tissue lesions and rapid lethality in mice. *American Journal of Pathology*, 167, 5, 1309-1320.
9. Franco, C., Lewis, E., Morseth, S., Simon, L., Waytes, A.T. (2009). Reproductive toxicity of BioThrax® in rabbits. *Birth Defects Research Part B - Developmental and Reproductive Toxicology*, 86, 5, 370-376
10. Hansen, P. J. (2007). Regulation of immune cells in the uterus during pregnancy in ruminants. *Journal of Animal Science*, 85, E30-E31.
11. Hansen, P. J. (2007). Regulation of immune cells in the uterus during pregnancy in ruminants. *Journal of Animal Science*, 85, E30-E31.
12. Ian Tizard (2020) Vaccine Failure and Other Adverse Events in Animals. At <https://www.merckvetmanual.com/pharmacology/vaccines-and-immunotherapy/vaccine-failure-and-other-adverse-events-in-animals>
13. Ibrahim, L. A., Rizo, J. A., Fontes, P. L. P., Lamb, G. C., & Bromfield, J. J. (2018). Seminal plasma modulates expression of endometrial inflammatory mediators in the bovine. *Biology of Reproduction*, 100, 660-671.
14. Ionin, B., Hopkins, R.J., Pleune, B., Sivko, G.S., Reid, F.M., Clement, K.H., Rudge Jr., T.L., Stark, G.V., Innes, A., Sari, S., Guina, T., Howard, C., Smith, J., Swoboda, M.L., Vert-Wong, E., Johnson, V., Nabors, G.S., Skiadopoulos, M.H. (2013). Evaluation of immunogenicity and efficacy of anthrax vaccine adsorbed for postexposure prophylaxis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 20, 7, 1016-1026
15. Kern, J., Schneewind, O. (2010). BslA, the S-layer adhesin of B. anthracis, is a virulence factor for anthrax pathogenesis. *Molecular Microbiology*, 75, 2, 324-332
16. Liu, S., Moayeri, M., Leppla, S.H. (2014). Anthrax lethal and edema toxins in anthrax pathogenesis. *Trends in Microbiology*, 22, 6, 317-325
17. Manuilov AV (2004) Vliyaniye vaksynoproyfilyaktyky ynfektsyonnykh boleznei na vosproyzyvodytelnuyu funktsiyu korov. [Influence of vaccine prophylaxis of infectious diseases on reproductive function of cows]. *Dyss kand vet nauk [PhD theses]*, 16. [in Russian]
18. Marey, M. A., Liu, J., Kowsar, R., Haneda, S., Matsui, M., Sasaki, M., ... Miyamoto, A. (2014). Bovine oviduct epithelial cells downregulate phagocytosis of sperm by neutrophils: Prostaglandin E2 as a major physiological regulator. *Reproduction*, 147, 211-219.
19. Marey, M. A., Yousef, M. S., Kowsar, R., Hambruch, N., Shimizu, T., Pfarrer, C., & Miyamoto, A. (2016). Local immune system in oviduct physiology and pathophysiology: Attack or tolerance, *Domestic Animal Endocrinology*, 56, S204-S211.
20. Martin E. Hugh-Jones (2015). Overview of Anthrax. <https://www.merckvetmanual.com/generalized-conditions/anthrax/overview-of-anthrax>
21. Oscherwitz, J., Quinn, C.P., Cease, K.B. (2015). Anthrax vaccine recipients lack antibody against the loop neutralizing determinant: A protective neutralizing epitope from Bacillus anthracis protective antigen. *Vaccine*, 33, 20, 2342-2346
22. Quinn CP, Sabourin CL, Schiffer JM, Niemuth NA, Semenova VA, Li H, Rudge TL, Brys AM, Mittler RS, Ibegbu CC, Wrammert J, Ahmed R, Parker SD, Babcock J, Keitel W, Poland GA, Keyserling HL, El Sahly H, Jacobson RM, Marano N, Plikaytis BD, Wright JG. (2016). Humoral and Cell-Mediated Immune Responses to Alternate Booster Schedules of Anthrax Vaccine Adsorbed in Humans. *Clin Vaccine Immunol.*, 23(4), 326-338. doi: 10.1128/CVI.00696-15.
23. Robert J. Hopkins, Nancy F. Daczkowski, Paulina E. Kaptur, Derek Muse, Eric Sheldon, Craig LaForce, Suha Sari, Thomas L. Rudge, Edward Bernton. (2013). Randomized, double-blind, placebo-controlled, safety and immunogenicity study of 4 formulations of Anthrax Vaccine Adsorbed plus CPG 7909 (AV7909) in healthy adult volunteers. *Vaccine*, 31, 30, 3051-3058, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.04.063>.
24. Rublenko, I.O. (2018). Sybirka u tvaryn. [Anthrax in animals]. *Nauk. visnyk Lviv. nats. un-tu vet. medytsyny ta biotekhnolohii im. S.H. Gzhytskoho*, [Science. Bulletin of Lviv. nat. un-tu vet. of Medicine and Biotechnology S.G. Gzhytsky], 20 (83), 13-16.
25. Rublenko, I.O. (2018). Vyznachennia stupenia zalyshkovoї virulentnosti i reaktohenosti shtamu Bac. anthracis UA-07. [Determination of the degree of residual virulence and reactogenicity of strain Bac. anthracis UA - 07] *Nauk.-tekhn. biuleten In-tu biolohii tvaryn i DNDKI vetpreparativ ta kormovykh dobavok* [Scientific and technical Bulletin of the Institute of Animal Biology and

DNDKI veterinary drugs and feed additives], 19 (1), 102–108.

26. Rublenko, I.O. and Skrypnik, V.G. (2016). Features of specific immunity formation in cattle after vaccination against animals anthrax with vaccine of UA–07 “Antravak” strain”. Bioresources and nature management: scientific-theoretical. Journal of NULES of Ukraine, 8. (№5–6), 67–71.

27. Sandra I. Sulsky, Rose S. Luippold, Patrick Garman, Hayley Hughes, Paul J. Amoroso, (2011). Risk of disability for US army personnel vaccinated against anthrax, 1998–2005, *Vaccine*, 29, 35, 6035-6041. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.028>.

28. Skoble, J., Beaver, J.W., YiGao, Lovchik, J.A., Sower, L.E., Liu, W., Luckett, W., Peterson, J. W., Calendar, R., Portnoy, D. A., Lyons, C. R. and Dubensky, T.W. Jr. (2009). Killed but Metabolically Active *Bacillus anthracis* Vaccines Induce Broad and Protective Immunity against Anthrax. *Infection and Immunity*, 77(4), 1649-1663. DOI: 10.1128/IAI.00530-08. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/23939046\\_Killed\\_but\\_Metabolically\\_Active\\_Bacillus\\_anthraxis\\_Vaccines\\_Induce\\_Broad\\_and\\_Protective\\_Immunity\\_against\\_Anthrax](https://www.researchgate.net/publication/23939046_Killed_but_Metabolically_Active_Bacillus_anthraxis_Vaccines_Induce_Broad_and_Protective_Immunity_against_Anthrax) [accessed Sep 23 2020].

29. Spickler, A.R. (2017). The center of food security and public health: Disease Information. Anthrax 2017 At <https://www.cfsph.iastate.edu/diseaseinfo/disease/?disease=anthrax&lang=en>

30. Tracy Pondo, Charles E. Rose, Stacey W. Martin, Wendy A. Keitel, Harry L. Keyserling, Janiine Babcock, Scott Parker, Robert M. Jacobson, Gregory A. Poland, Michael M. McNeil (2014). Evaluation of sex, race, body mass index and pre-vaccination serum progesterone levels and post-vaccination serum anti-anthrax protective immunoglobulin G on injection site adverse events following anthrax vaccine adsorbed (AVA) in the CDC AVA human clinical trial. *Vaccine*, 32, 28, 3548-3554, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.04.025>.

31. William H. Catherino, Andrew Levi, Tzu-Cheg Kao, Mark P. Leondires, Jeffrey McKeeby, James H. Segars. (2005). Anthrax vaccine does not affect semen parameters, embryo quality, or pregnancy outcome in couples with a vaccinated male military service member. *Fertility and Sterility*, 83, 2, 480-483. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.07.965>.

32. Zhang, Y., Martin, S.W., Rose Jr., C.E., Biagini, R.E., Franzke, L.H., Smith, J.P., Sammons, D.L., Robertson, S.A, McNeil, M.M. (2008) Evaluation of body mass index, pre-vaccination serum progesterone levels and anti-anthrax protective antigen immunoglobulin G on injection site adverse events following anthrax vaccination in women. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 17, 11, 1060-1067

**Yaroslav Tytukh**, PhD Student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

**Yurii Baydevliatov**, PhD in vet. science, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

**Halyna Rebenko**, PhD in vet. science, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

**Yurii Mucienko**, PhD in vet. Science, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

#### **Influence of vaccination of cows against anthrax on the artificial insemination results**

*Fertility rate is one of the markers of the effectiveness of the livestock industry, but the successful formation and fixation of the zygote in the mucous membrane of the uterus can be hindered by various inflammatory processes. Immunological reactions of the postvaccination complex can also affect fertility.*

*Previous observations of the fertility status of cows on the farm indicated a significant decrease in this indicator just after vaccination against anthrax. The results of the studies presented in the article show a significant decrease in fertility. In our opinion, this is due to the immunological processes in the body of vaccinated cows that were inseminated. That is, the immune system stimulated during vaccination is not able to inhibit its work in the genital tract, and therefore prevents the attachment of the successfully formed during fertilization zygote to the uterine mucosa, which eventually ends in infertility and the onset of re-libido.*

*The results suggest that vaccination of animals against anthrax and especially the period of active formation of post-vaccine specific immunity reduces reproduction rates in cows: fertility rates decreased by 16.2% during the first week after vaccination and by 50% during the second compared with animals that inseminated before vaccination It was found that in cows that were inseminated during the immunological load, there was an increase in the duration of infertility - by 12.7% and 38.6%, respectively. The economic loss from calves in the group of cows inseminated immediately after vaccination was 2.7 times greater, and in the group of cows inseminated in the second week after vaccination - respectively 3.5 times higher than in cows inseminated before vaccination. Losses from milk shortage in these groups increased by 7.6% and 38.4%, respectively.*

**Key words:** fertility rate, artificial insemination, vaccination against anthrax, economic loss

Дата надходження до редакції: 20.11.2020 р.

## ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ОРГАНІЗМІ ТЕЛЯТ ПРИ ПРОТОЗООЗАХ, ЗАХОДИ ПРОФІЛАКТИКИ

Коваленко Лідія Михайлівна

кандидат ветеринарних, доцент

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0002-4350-2284

[lidia.kovalenko@snau.edu.ua](mailto:lidia.kovalenko@snau.edu.ua)

Коваленко Олександр Іванович

кандидат ветеринарних, доцент

Сумська регіональна лабораторія Державної Служби України

з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів (м. Суми, Україна)

[Vetlabsumy@ukr.net](mailto:Vetlabsumy@ukr.net)

За результатами ряду досліджень встановлений широкий спектр розповсюдженості протозоозів серед тварин, це питання розкривається в даній статті. Територіальне розташування Сумської області на Півночі України має особливі природно-кліматичні зміни, а це є одним із факторів виникнення та розповсюдженості криптоспоридіозу серед тварин. Криптоспоридіоз телят має широке розповсюдження в господарствах Сумської та Чернігівської областях. Екстенсивність інвазії у різних районах коливається від 12,4 % до 81,4 % та в середньому складає 41,23 % від обстеженого поголів'я. В різних територіально-кліматичних зонах розташування господарств при обстеженні був майже однаковий рівень ураженості телят від 39,3 % до 81,4 %. При обстеженні хворих тварин був виявлений збудник *Cryptosporidium parvus*.

Термін ураженості та розвиток інвазії у новонароджених телят залежить прямо-пропорційно від їх утримання та сезонності. Починаючи вже з четвертої доби від народження реєструється виділення ооцист. Максимальна кількість спостерігається на сьому добу і показник складає  $50,8 \pm 0,47$  % в зимовий період та від  $29,6 \pm 0,25$  % до  $42,8 \pm 0,31$  % в літню пору року. При ураженості криптоспоридіями у телят спостерігається два піка екстенсивності інвазії. Перший реєструється на п'ятий день з початку виділення збудника. На сьому добу встановлюється друга хвиля виділення ооцист. Тривалість виділення ооцист *Cryptosporidium* у телят складає до 21 доби від народження.

Ветеринарно-санітарні умови утримання тварин відіграють значну роль у розповсюдженні збудника криптоспоридіозу серед сприйнятливої поголів'я. Накопичення ооцист у зовнішньому середовищі, обумовлює постійна його циркуляція у тваринницьких приміщеннях по утриманню новонароджених телят.

При гематологічному дослідженні встановлена екстенс-ефективність препаратів кокцидіостатиків при комплексному застосуванні. При їх використанні в крові тварин, які підлягали лікуванню, збільшується кількість гемоглобіну, еритроцитів. Рівень лейкоцитів та показники лейкограми відповідають фізіологічній нормі в процесі видужання.

При лабораторній діагностиці використовували модифікований метод сегментації в розчині поверхнево-активних речовин. В якості засобів, які гальмують розвиток збудника, використовували комплексно препарат вітчизняного виробництва Бравітакоцид в дозі 1,5 г/10 кг маси тіла з вітаміном В<sub>1</sub> та поєднували з препаратами, які стабілізують обмін речовин в організмі тварин. Особливу увагу приділяли підготовці приміщень з утримання новонароджених телят, з попереднім дослідженням в лабораторних умовах, змивів з стін, станків, предметів побуту, на забрудненість ооцистами збудника *C. Parvum* та інших представників інвазійних збудників.

**Ключові слова:** ооцисти, біохімічний аналіз, гематологічні дослідження, кров, феєс, товстий відділ кишечника, слизова оболонка, бравітакоцид, бровасептол.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.4.2>

**Вступ.** Із числа регіональних об'єктів Північної частини України важливе місце в сільському господарстві займає скотарство. Гастроентерити телят на ранньому етапі стають причиною неблагополуччя господарства. Це визначається цілим комплексом етіологічних факторів. Збудники захворювання та інфіковані тварини сприяють забрудненості навколишнього середовища. Вони зумовлюють зниженню імунного рівню молодячої великої рогатої худоби. На теперішній час ще недостатньо вивчені фактори розвитку хвороби, що має ускладнену діагностику на криптоспоридіоз. Збудниками у телят встановлені *Cryptosporidium parvum* і *C. muris*, відносяться до типу *Sporozoa*, класу *Coccidida*, родини *Cryptosporidiidae*. У збудників криптоспоридіозу, яскравої специфічності не виявлено, по відношенню до хазяїна, тому це зооантропоознозне захворювання залишається проблемою як для ветеринарної, так і гуманної

медицини (Grebenev A.L., Myagkova L.P., 2006). Різноманітність дії простіших на організм господаря утруднює достовірність діагностичних даних. Лабораторні методи діагностики не мають високу чутливість до збудників, це пов'язано з їх морфологічними особливостями. Сучасна наукова діяльність спрямовується на розробку ефективних заходів боротьби з криптоспоридіозом. Збудники розвиваються за схемою гомоксенного життєвого циклу кокцидій, тобто повний їх розвиток проходить в організмі одного хазяїна. Завершується розвиток паразиту виділенням з фекаліями ооцист, які мають стійкість до дії несприйнятливих факторів. Ооцисти зберігаються у зовнішньому середовищі більш тривалий час і уражують нових хазяїв. За результатами дослідницької роботи в цьому напрямку, недостатньо розроблені засоби, які сприяють блокуванню розвитку збудників як в організмі хазяїна, так і в навколишньому середовищі (Zhurenko V.V.,

Soroka N.M., Zhurenko O.V., 2016).

Господовірна тематика «Заходи боротьби та профілактики захворювань тварин» дозволила нам провести моніторинг розповсюдженості криптоспоридіозу тварин в господарствах Північної частини України.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Багочисельні наукові дослідження свідчать, що протозоози мають широке розповсюдження в господарствах серед молодняка тварин раннього віку, у різних територіально - кліматичних зонах. Особлива увага надається етіологічним факторам. За статистичними даними, важливе значення набувають метеорологічні умови, які сприяють поширенню збудників у зовнішньому середовищі. Починаючи з початку дев'яностих років науковцями розкриваються питання, щодо виявлення простіших роду *Cryptosporidium* у телят, в якості перебігу захворюваності в тяжкій формі, з ураженням органів травлення (Gnanasoorian S., 1998; Krasnova O.P., Laionov S.B., Rozovenko M.V., 2002). Основні симптоми криптоспоридіозу є явища діареї, з домішками крові та різке виснаження організму. Новонароджені телята значно сприйнятливі до кокцидій так, як доведено, що в молозиві не виявлені імуноглобуліни проти збудників роду *Cryptosporidium*. За результатами наукових робіт встановлено, що криптоспоридіоз реєструється в будь яку пору року. Максимальний прояв визначається на початку весняного періоду, у неонатальних телят розвивається імунодефіцит (Anusz K.Z., Mason P.H., Riggs M.W., Perryman L.E., 2002).

Широкий спектр діяльності лікарів ветеринарної медицини в господарствах Сумської та прилеглих територій Чернігівської області спрямований на досконале вивчення епізоотології криптоспоридіозу тварин. На теперішній час ведеться пошук нових ветеринарних препаратів, які при їх застосуванні мали б 100% ефективність при протозозах. Фермерські господарства по вирощуванню великої рогатої худоби Сумщини, яка розташована на Півночі України, щорічно мають збитки від загибелі молодняка раннього віку. Цей показник складає від 14,2 % до 21,7% від новонароджених.

Аналізуючи дану проблему стає необхідним повертатися до цього питання. Вияснити ступінь розповсюдженості криптоспоридіозу телят, етіологічні фактори, які спонукають до ураженості тварин. Розкрити патогенез і рівень терапії та профілактики цього захворювання в типових господарствах.

**Мета роботи** полягала у проведенні статистичного аналізу відносно до епізоотології протозоозів тварин, з урахуванням територіального розташування господарств. Вивчити основні питання клінічної картини, механізму розвитку захворювання. Проаналізувати патологоанатомічну картину загиблих тварин. На підставі досліджень взяти за основу: гематологічні, біохімічні методи для диференційної діагностики. Провести симптоматичну і патогенетичну терапію телят при криптоспоридіозі з використанням кокцидостатиків.

**Матеріали і методи досліджень.** Досліди проводили в умовах фермерських господарств СТОВ «Ранок», ТОВ «Беево», ПСП «Камишанське» Сумської та Чернігівської областей. Статистичний матеріал, відносно до епізоотології та етіології інфекційних хвороб був отриманий в протиепізоотичному відділі головного управління Держпродспоживслужби у межуючих областях. Окремі етапи досліджень

проводили у відділах імунологічному, бактеріологічному та патоморфологічному Сумської регіональної лабораторії Державної Служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів та ДНДІЛДВСЕ.

Вивчення епізоотології криптоспоридіоза телят проводили в господарствах з урахуванням природно-кліматичного зонування, технології утримання і породи тварин. При вивченні ареалу розповсюдження захворювання діагноз на криптоспоридіоз встановлювали комплексно, з урахуванням епізоотологічної ситуації в господарстві, клінічного прояву захворювання і результатів лабораторних досліджень, проведених у відповідності до «Методичних вказівок: «Криптоспоридіоз телят, екологія, епізоотологія, клініка, діагностика, лікування, профілактика», «Методичних рекомендацій по виділенню та ідентифікації умовно-патогенних збудників при кишечних захворюваннях молодняка сільськогосподарських тварин». Обстежили по 20-25 телят, підібраних у господарствах за принципом аналогів, які мали яскраву картину діареї.

Для бактеріологічного дослідження від вимушено забитих і загиблих телят відбирали відрізки товстого і тонкого кишковика, паренхіматозні органи, мезентеріальні лімфовузли, трубчасту кістку. Від живих телят фекалії брали індивідуально із прямої кишки, а від загиблих з тонкого відділу кишечника. Проби фекалії розташовували в стерильний посуд з притертими кришками. Їх пронумерували і доставляли в лабораторію. Інтенсивність інвазії тварин установлювали за встановленою шкалою (Клесова Д.М., 1996). В бактеріологічно-паразитологічному відділі кожну доставлену пробу фекалій досліджували за допомогою наступних методів: виготовлення нативного мазка за загальноприйнятою методикою; центрифугування проб фекалій в дистильованій воді; центрифугування в насиченому розчині хлориду натру (Бейер Т.В., 1987), модифікований метод сегментації матеріалу з поверхносно-активною речовиною (Dahno I.S., Berezovsky A.V., Galat V.F., 2001). Виготовляли нативний препарат. Для цього на обезжирене предметне скло наносили краплю проби фекалій. У співвідношенні 1:1 добавляли краплю суміші гліцерину з водою. Розмішуючи прикривали покривним скельцем. Готові мазки проглядали під імерсійною системою світлового мікроскопу МБІ-3 при збільшенні 90x10. При великій забрудненості препарату розчин гліцерину замінювали краплею метиленової сині.

В наші дослідження був включений метод центрифужно-флотаційний із застосуванням розчину у модифікації (Beyer T.V., Sidorenko N.V., Grigoriev M.V., 1995). Видовий склад криптоспоридій визначали за виділеними ооцистами за «Класифікатором паразитичних простіших» (Casemore D.P., 1998) та за методиками відповідно «Довідника виділення інтенсивності ооцист» (Anusz K.Z., Mason P.H., Riggs M.W., Perryman L.E., 2002). Чисельність виділення ооцист з розрахунку 1 г фекалій встановлювали ступінь інвазованості тварин у хрестах: «+» це слабка від 1 до 5 ооцист у полі зору що дорівнює від 5000 до 50000 ОД/г фекалій; «+++» середня від 6 до 10 ооцист це 55000-1000000 ОД/г фекалій; «++++» сильна, більше 10 ооцист має відповідність більше 1000000 ОД/г фекалій. Дані результати встановлюються при мікроскопії у збільшенні в 600 разів.

Дослідження патологічного матеріалу проводили у Сумській регіональній лабораторії Державної Служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту спо-

живачів на виключення вірусних, бактеріальних інфекцій: колібактеріозу, сальманельозу, рота-, парво- і аденовірусів. При встановленні терапевтичної ефективності застосованих препаратів відбирали зразки крові тварин для встановлення змін морфологічних показників. Гематологічні дослідження на криптоспоридіоз базувалися на наступних методиках: швидкість осадження еритроцитів за методом Панчинкова; визначені кількості гемоглобіну за Салі; підрахунок кількості еритроцитів і лейкоцитів та лейкоцитарного профілю. Наші дослідження, також, були направлені на біохімічні дослідження крові, за загально прийнятими методиками (Hall M.C., 2001).

Весь цифровий матеріал був опрацьований біометрично. Лікувальну ефективність кокцидіозних препаратів в свій час визначали Anusz K.Z., Mason P.H., Riggs M.W., Perryman L.E. (2002), Grebenev A.L., Myagkova L.P. (2006), результативність встановлена на наявність збудників асоційованої форми інфекційних хвороб телят.

#### Результати досліджень.

Аналізуючи матеріал відносно розповсюдженню захворювання поголів'я на паразитарну інвазію, встановлено, що природно-кліматичні умови впливають на розвиток збудників хвороб. Помірно тепле літо, атмосферні опади та відносно помірно м'яка зима сприяє циркуляції та інвазійному початку у зовнішньому середовищі. Особливістю Сум-

Показники ступеня інвазії у тварин в обстежених господарствах області відображені в таблиці 1.

щини є велике перетинання річок, заливних луків, які стають пасовищними угіддями для сільськогосподарських тварин та, також, для забезпечення кормовою базою господарств. Вологість і висока температура зовнішнього середовища є неодмінним фактором поширенню протозойних хвороб, особливо гострому їх перебігу (Vasilieva V.A., Nebaykina L.A., 1998; Beyer T.V., Antikova L.P., Gerbina G.I., 2010). Широке розповсюдження кишкових паразитів серед тварин і людини сприяють інтенсивному обміненню об'єктів навколишнього середовища інвазійним матеріалом, що в свою чергу утворюють умови для інтенсивного перезараження (Grebenev A.L., Myagkova L.P., 2006).

Епізоотологічним обстеженням господарств трьох районів області, протягом двох років, було виявлено захворюваність телят на криптоспоридіоз. При дослідженнях ми проаналізували статистику захворювання поголів'я у різну пору року і зональність розташування господарства. За результатами наших досліджень екстенсивність інвазії (EI) була різною. В господарстві ПСП «Комишанське» ураженість тварин в літньо-осінній період складала 72,6%, зимово-весняний до 81,9%. Поголів'я тварин в ТОВ «Бєєве» мало інвазованість від 12,4 до 19,6 % відповідно, а телята, які належали СТОВ «Ранок» були інфіковані на 38,7 – 39,3 %. Інтенсивність виділення ооцист с фекаліями телят встановлювалась від значної до середньої.

Таблиця 1.

#### Ураженість телят криптоспоридіями в господарствах Сумської області в зимово-весняну пору року

Назва господарства	Обстежено, гол	Інвазовано, гол	EI, %	Інтенсивність виділення ооцист, %		
				Зимово-весняна пора року		
				Мін.	Серед.	Макс.
ПСП «Комишанське»	127	104	81,9	5/2,7	87/46,5	95/50,8
ТОВ «Бєєве»	46	9	19,6	2/1,3	38/21,7	41/32,1
СТОВ «Ранок»	70	27	39,3	4/2,2	43/35,6	65/41,9
Загальний показник	243	140	46,77	11/2,1	168/34,6	201/41,6

Як видно з представленої таблиці більш висока екстенсивність інвазії та інтенсивність, за виділенням ооцист, визначали в зимово-весняний період. Цей показник мав від-

хилення на 5,21 % відповідно до літньо-осінньої пори року (табл.2).

Таблиця 2.

#### Ураженість телят криптоспоридіями в господарствах Сумської області в літньо-осінню пору року

Назва господарства	Обстежено, гол	Інвазовано, гол	EI, %	Інтенсивність виділення ооцист, %		
				Літньо-осіння пора року		
				Мін.	Серед.	Макс.
ПСП «Комишанське»	98	71	72,6	4/2,3	73/42,1	87/42,8
ТОВ «Бєєве»	17	2	12,4	2/1,1	33/19,6	38/29,6
СТОВ «Ранок»	64	25	38,7	3/1,9	41/34,2	57/39,7
Загальний показник	179	98	41,23	9/1,77	147/31,96	182/39,17

Клінічна картина при криптоспоридіозі телят була різною, в залежності від форми перебігу хвороби. Перші клінічні ознаки за нашими спостереженнями встановлювали вже з 3-4 дня від народження з максимальним проявом до 5-6 дня. Хворі телята мали різний ступінь пригніченості, шерстний покрив скуйовджений, забрудненість задньої частини тіла фекаліями, відсутність апетиту, виражена перистальтика кишечника. Спостерігали зміни рухової функції, залежання. Випорожнення тварин мали неприсмний, гнилісний запах. Хворі тварини були виснаженими, жива вага різко знижувалась за рахунок дегідратації. При затяжному перебігу хвороби на п'яту добу реєстрували загибель тварин. При

розтині 12 загиблених тварин, з скребоків слизової оболонки клубової кишки виготовляли мікропрепарати, які досліджували мікроскопією в лабораторних умовах. Максимальний ступінь інвазії та різну стадію розвитку ооцист ми визначали із матеріалу отриманого від дев'яти голів загиблених телят. При патологоанатомічному розтині спостерігали яскраву, типову картину в шлунково-кишковому тракту. При огляді шлунково-кишкового тракту загиблених телят спостерігали катаральне запалення від сичуга, до прямої кишки. Вміст кишечника значно рідкий, запінений. Продовж кишечника слизова оболонка мала виражену гіперемію, набряк і велике нашарування слизу. Слизова оболонка клубового відділу

кишковика вкрита багаточисельними крововиливами, в деяких ділянках з виразками. Мезентеріальні лімфовузли збільшені, насичені вологою, інтенсивно червоного кольору. Селезінка була без особливих змін. Печінкова капсула значно напружена. Відмічалася пряма залежність між яскравими патологоанатомічними змінами і ступенем ураженості кишковика криптоспоридіями. Значний набряк слизової оболонки тонкого відділу і клубової кишки був обумовлений інфільтрацією кров'яних тілець. Для підтвердження діагнозу патологічний матеріал направляли в лабораторію. Відібрана кров від хворих тварин досліджувалась в імунологічному відділі Сумської регіональної лабораторії Державної Служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів. В патоморфологічному відділі з матеріалу достовірно виявляли зміни слизової оболонки за рахунок накопичення криптоспоридій в ендогенній стадії розвитку. Пейєрові бляшки гіперплазовані, просвіти крипт мали розширення з скупченістю розруйнованих клітин. Криптоспоридії, в ендогенній стадії розвитку ооцист, виявляли у ворсинках кишечника.

Аналізуючи показники гематологічних досліджень з матеріалу уражених телят криптоспоридіями реєстрували достовірне сповільнення швидкості осадження еритроцитів вже з 5 до 15 доби розвитку хвороби. Цей показник складав  $0,3 \pm 0,1$  мм/год. Лейкоцитарний профіль змінювався вже на першій добі розвитку збудника в організмі телят. На 15 добу реєструвалося зниження лейкоцитів від  $5,5 \pm 0,61$  до  $4,4 \pm 0,42 \times 10^9$ /л. Вже з п'ятої доби визначається достовірне зниження гемоглобіну  $93,0 \pm 136$  г/л. Чисельність еритроцитів починає збільшуватися на десяту добу після захворювання до  $6,5 \pm 0,96 \times 10^{12}$ /л. Починаючи з першого до 10 дня захворювання у лейкоцитарній формулі ми реєстрували базофіли, що свідчить про запальні процеси в організмі тварин. За біохімічними показниками сироватки крові хворих на криптоспоридіоз телят вже з першого дня захворювання визначали достовірне зменшення білка до найменших показників це  $4,73 \pm 0,96$  г.

Терапевтичні та профілактичні заходи були спрямовані на застосуванні комплексу ефективних препаратів при криптоспоридіозі. Тварин відбирали в три групи, по вісім голів у кожній. Вікова категорія тварин з чотирьох до семи-денного віку спонтанно захворілих. Враховувалась інтенсивність криптоспоридіозної інвазії. Телятам першої групи задавали Бровасептол в дозі 0,6 мл/10 кг маси тіла поєднуючи з фуракриліном відповідно до настанови щодо застосування. Бровасептол це однорідний порошок, світло-жовтого кольору з слабим специфічним запахом. Даний препарат вміщує сульфадиметоксин натрієву сіль, як діючу речовину та триметоприм. Препарат додатково комплекту-

ється флаконами с розчином (хлорид натрію 0,9%). Механізм дії сульфаніламідів і триметоприма базується на впливі до бактеріальної клітини, через фермантетивну її систему. Це порушує її ріст, розмноження та призводить до повної руйнації. Сполучення двох речовин направлено на антимікробну дію, а саме, на грампозитивні та грамнегативні бактерії, також, на ряд простіших Coccidia.

Тваринам другої групи ураженим ооцистами криптоспоридій задавали Бравітакоксид в дозі 1,5 г/10 кг маси тіла протягом десяти діб, з одночасним введенням вітаміну В<sub>1</sub> внутрішньом'язево в дозі 1 мл на тварину один раз в день протягом п'яти діб. Бравітакоксид відноситься до водорозчинних препаратів, жовтуватого кольору. Виробником запропоновано, у дозі застосування, діючою речовиною є гідрохлорид ампроліума, який має специфічну спрямованість на криптоспоридії виду *S. parvus* та *S. muris*. Окрім того, допоміжні речовини підвищують функціональну властивість епітелію кишковика та стійкість слизової до крововиливів, такими визначені Вітамін А і Вікасол. Вітаміни групи В, перш за все В<sub>1</sub> (тіамін) відноситься до нейротропним та використовується з лікувальною метою захворювань периферичної та центральної нервової системи. Дефіцит цих вітамінів в організмі може стати причиною розвитку нейропатій, тому рання діагностика і корекція не достатку вітамінів вказаної групи необхідна для запобігання незворотних неврологічних порушень.

Третя група телят слугувала як контрольна. Тваринам цієї групи вводили внутрішньом'язево по 2 мл 4 % розчину Гентаміцину та по 100 мл 5 % розчину глюкози. В зв'язку з тим, що криптоспоридіоз при середньо-важкому перебігу і важкому перебігу супроводжується функціональними порушеннями, ми застосували комплексно препарати, в яких вище перелічені препарати поєднувалися з стабілізуючими порушення обміну речовин. Окрім того, в склад комплексних препаратів були включені мікроелементи, комплекс вітамінів А, Є в профілактичних дозах, які компенсують потребу в організмі телят в цих речовинах. Дані препарати використовували двічі в день. Курс лікування складав десять діб. Це надає можливість проаналізувати продовжену дію кокцидіостатиків та сповільнення ендогенної стадії розвитку збудника.

Інтенсивність інвазії, після застосування препаратів за такою схемою лікування, знижувалась в двічі. Результативність терапевтичних заходів визначали за ефективністю та збереженістю поголів'я при криптоспоридіозі. Встановлювали екстенсефективність за основними показниками: подовженості прояву клінічних ознак хвороби, гематогенному дослідженні, латентному періоду збудника (табл.3).

Таблиця 3.

Показники дії препаратів при криптоспоридіозі телят

групи	препарати	Термін по подовженості, діб				ЕЕ,%
		Клінічні симптоми		Латентний період збудника		
		Кількість діб	Середній показник	Кількість діб	Середній показник	
1	Бровасептол в дозі 0,6 мл/10 кг маси тіла + фуракрилін	1-6	3,4	5-12	7,2	51
2	Бравітакоксид в дозі 1,5 г/10 кг маси тіла + вітамін В <sub>1</sub>	1-3	1,6	3-5	4,3	84
3	Гентаміцин 4% 2 мл +100 мл 5% розчину глюкози	2-7	4,5	6-14	12,1	32

З представленої таблиці видно, що найбільше високу ефективність при криптоспоридіозі телят за більшістю показниками було при використанні в комплексі бравітакоксиду в дозі 1,5 г/10 кг маси тіла у сполученні з вітаміном групи В<sub>1</sub>.

Основний, клінічний синдром такий, як діарея припинявся вже на третю добу. Екстенсефективність цього препарату складала 84 %. Мінімальну екстенсефективність показав бровасептол в дозі 0,6 мл/10 кг маси тіла в комплексі з

фуракриліном до 51 %. Аналізуючи показники по групі контролю, де застосовували 4 % розчин гентаміцину в дозі 2 мл та 5 % розчину глюкози цей показник складав 32 % при критоспоридіозі телят. Гематологічним дослідженням було встановлено, що після курсу лікування у тварин першої групи гематокритна величина знижувалася до  $43,7 \pm 0,57$  %, утримання еритроцитів до  $7,1 \pm 0,19 \times 10^{12}/л$ , гемоглобіну до  $10,39 \pm 0,23$  г/л в крові. Порівнюючи гематокритний показник у хворих тварин контрольної групи він складав  $54,19 \pm 0,85$  %. Загальна кількість лейкоцитів в крові тварин, які підлягали лікуванню знаходилася на верхній межі фізіологічної норми  $12,01 \pm 0,32 \times 10^9/л$ . В лейкоцитарній формулі відсоток паличкочядерних нейтрофілів зменшувався до  $5,18 \pm 0,16$  %, але значно збільшилися сегментноядерні, цей показник відповідав  $27,14 \pm 1,37$  %. Одночасно збільшувалась кількість моноцитів до  $5,7 \pm 0,28$  %.

Дослідження крові хворих тварин другої групи, мали екстенсефективність застосованого препарату 84 % при криптоспоридіозі телят та показало позитивні зміни до видужання. Кров таких тварин мала більш високе утримання гемоглобіну до  $9,7 \pm 0,28$  г/л, еритроцитів  $5,89 \pm 0,21 \times 10^{12}/л$ , лейкоцитів до  $10,42 \pm 0,5 \times 10^9/л$ . Гематокритна величина знаходилася в межах до норми  $37,5 \pm 0,54$  %. Лейкограма цих тварин практично не відрізнялася від показників здорових тварин. Одним з показників затухання запального процесу в організмі встановлено зміни в кількості моноцитів, число яких уповільнено збільшувалося до  $6,23 \pm 0,27$  %. При обґрунтуванні даних досліджень крові здорових і хворих тварин, які підпадали лікуванню, вже через двадцять діб після терапевтичних дій виявлялися деякі зміни. В крові телят, які оброблялися препаратами зберігалися підвищені показники утримання гемоглобіну до  $9,6 \pm 0,21$  г/л, еритроцитів до  $5,8 \pm 0,20 \times 10^{12}/л$  по відношенню показників здорових тварин, показники гемоглобіну в порівнянні відповідали  $9,2 \pm 0,42$  г/л, еритроцитів до  $5,6 \pm 0,23 \times 10^{12}/л$ . Рівень лейкоцитів дорівнював показникам здорових тварин  $9,4 \pm 0,24 \times 10^9/л$ .

Таким чином, можемо констатувати, що комплексна терапія має позитивний вплив на зниження летальності, зменшення репродукції ооцист, скороченню термінів клінічного прояву захворювання і більшому розвитку репаративних процесів.

#### Висновки.

1. Криптоспоридіоз телят має широке розповсюдження в господарствах Сумської та Чернігівської областях.

Екстенсивність інвазії у різних районах коливається від 12,4 % до 81,4 % та в середньому складає 41,23 % від обстеженого поголів'я. В різних територіально кліматичних зонах розташування господарств при обстеженні був майже однаковий рівень ураженості телят від 39,3 % до 81,4 %.

2. При обстеженні хворих тварин був виявлений збудник *Cryptosporidium parvus*.

3. Термін ураженості та розвиток інвазії у новонароджених телят залежить прямо-пропорційно від їх утримання та сезонності. Починаючи вже з четвертої доби від народження реєструється виділення ооцист. Максимальна кількість спостерігається на сьому добу і показник складав  $50,8 \pm 0,47$  % в зимовий період та від  $29,6 \pm 0,25$  % до  $42,8 \pm 0,31$  % в літню пору року.

4. При зараженні криптоспоридіями у телят спостерігається два піка екстенсивності інвазії. Перший реєструється на п'ятий день з початку виділення збудника. На сьому добу встановлюється друга хвиля виділення ооцист. Тривалість виділення ооцист *Cryptosporidium* у телят складає до 21 доби від народження.

5. Ветеринарно-санітарні умови утримання тварин відіграють значну роль у розповсюдженні збудника криптоспоридіозу серед сприйнятливої поголів'я. Накопичення ооцист у зовнішньому середовищі, обумовлює постійна його циркуляція у тваринницьких приміщеннях по утриманню новонароджених телят.

6. При гематологічному дослідженні встановлена екстенс-ефективність препаратів кокцидіостатиків при комплексному застосуванні. При їх використанні в крові тварин, які підлягали лікуванню, збільшується кількість гемоглобіну, еритроцитів. Рівень лейкоцитів та показники лейкограми відповідають фізіологічній нормі в процесі видужання.

Дослідження з даного питання свідчить про доцільність діагностики криптоспориозу в практичних умовах. При лабораторній діагностиці використовувати метод сегментації в розчині поверхнево-активних речовин, в модифікації. В якості засобів, які гальмують розвиток збудника, використовувати комплексно препарат вітчизняного виробництва Бравітакоксид в дозі 1,5 г/10 кг маси тіла з вітаміном В<sub>1</sub> та поєднувати з препаратами, які стабілізують обмін речовин в організмі тварин. Сприяти підготовці приміщень з утримання новонароджених телят, з попереднім дослідженням в лабораторних умовах, змивів з стін, станків, предметів побуту, на забрудненість ооцистами збудника *C. Parvum* та інших представників інвазійних збудників.

#### References:

1. Bejer T.V., Antykova L.P., Herbyna H.Y. (2010). Obnaruzhenye kryptosporidyozu čeloveka v Lenynhrade. [Detection of human cryptosporidiosis in Leningrad.] *Medycynskaja parazytologija y parazytarnye bolezny*. [Medical parasitology and parasitic diseases]. Ufa: Logos. № 2.45-47 [in Russian].
2. Bejer T.V., Sydorenko N.V., Hryhor'ev M.V. (1995). Cryptosporidium parvum. Apicomplexa: Sporosoa, Coccidia, optymyzacija tehnypolučenyja bol'soj massy oocyst. [Cryptosporidium parvum. Apicomplexa: Sporosoa, Coccidia, optimization of the technique of obtaining a large mass of oocysts.]. *Parazytologija*. [Parasitology]. Ufa: Logos. № 3. 198-207 [in Russian].
3. Vasylyeva V.A., Nebajkyna L.A. (1995). Kryptosporidyoz žyvoťnych. [Cryptosporidiosis of animals]. *Veterynaryja*. [Veterinary]. Kishinev: SKP. № 10. 31-32 [in Russian].
4. Grebenev A.L., Myagkova L.P. (2006). Bolezny kyšečnyka. [Intestinal diseases.] *Covremennye dostyženija v dyahnostyke y terapiju*. [Modern advances in diagnosis and therapy]. M.: Medicine. 400 [in Russian].
5. Dahno I.S., Berezovsky A.V., Galat V.F. (2001). Atlas gel'mintiv tvarin. [Atlas of helminths of animals]. Kiiv: Vetinform. 34-59 [in Ukraine].
6. Zhurenko V.V. (2016). Vplyv zbudnyka kryptosporidyozu teljat na biohimični pokaznyky syrovatky krovi. [Influence of the causative agent of cryptosporidiosis of calves on serum biochemical parameters]. *Naukovyj visnyk L'vivs'koho nacional'noho*

universytetu veterynarnoi medycyny ta biotechnologii imeni S.Z.Gžyc'koho. [Scientific Bulletin of SZ Gzhysky Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology]. 18. 3 (70). 100-102 [in Ukrainian]. DOI: <http://dx.doi.org/10.31548/ujvs2019.01.051>.

7. Zhurenko V.V., Soroka N.M., Zhurenko O.V. (2016). Porušennja fermentatyvnoi aktyvnosti u teljat, chvorych na kryptosporidioz. [Loss of enzymatic activity in calves, cryptosporidiosis ailments]. *Problemy zoonženerii ta veterynarnoi medycyny*. [Problems of zooengineering and veterinary medicine]. No33. 135–137. [in Ukraine].

8. Zhurenko V.V. (2016). Porivnjaj'na efektyvnist' metodiv diahnozyky kryptosporidyozu teljat. [Corresponding effectiveness of methods for diagnostics of cryptosporidiosis in calves.] *Naukovo-tehničnyj bjuleten' Instytutu biolohii tvaryn i Deržavnoho naukovo-doslidnoho kontrol'noho instytutu veterynarnych preparativ i kormovyh dobavok*. [Scientific and technical bulletin of the Institute of Biology of Tvarin and the State Scientific and Preliminary Control Institute of Veterinary Drugs and Feed Additives], 17.No 2. 135-137 [in Ukraine].

9. Krasnova O.P., Laryonov C.B., Rozovenko M.V. (2002). Dynamyka epyzootyčeskoho processa pry kryptosporidyoze teljat. *Veterynaryja*. [Veterinary]. Kishinev: SKP. № 4. 32-33 [in Russian].

10. Osypenko R.V., Maksyna T.P. (2012). Novyj sposob očystky y vydelenyja oocyst kryptosporidyj y druhych vydov kokcydyj yz byolohyčeskyh substratov. [A new method for purification and isolation of oocysts of Cryptosporidium and other types of coccidia from biological substrates]. *Aktual'nye problemy veterynarnoj medycyny* [Actual problems of veterinary medicine], Ulyanovsk: Research Institute. № 2. 141-146 [in Russian].

11. Anusz K.Z., Mason P.H., Riggs M.W., Perryman L.E. (2002). Detection of Cryptosporidium parvum oocysts in bovine feces by monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Microbiol.* 28.Vol.12. 770-774.

12. Bhat, S.A., Dixit, M., Juyal, P.D., Singh, N.K. (2014). Porivnjannja vkladenoj PLR ta mikroskopii dlja vijavlennja kryptosporidiozu u teljat [Comparison of nested PCR and microscopy for the detection of cryptosporidiosis in bovine calves]. *J. Parasit. Dis.* 38(1), 101-105. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12639-012-0201-5>.

13. Casemore D.P. (1998). Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis. *Clin. Patol.* 44. № 6. 445-451.

14. Gnanasoorian S. (1998). Detection of Cryptosporidium oocysts in faecesi comparison of conventional and immunofluorescence methods. *Med. Lab. Sci.* 49. №3. 211-212.

15. Hall M.C. (2001). Some Laboratory Methods for Parasitological. *Investigations Araer.J. of Hyg.* Vol.8. 362-375.

**Lidiia Kovalenko**, Ph.D in Vet. Sciences, Sumy National Agrarian University, (Sumy, Ukraine)

**Alexander Kovalenko**, Ph.D in Vet. Sciences, Sumy Regional Laboratory of the State Service of Ukraine for Food Safety and Consumer Protection (Sumy, Ukraine)

#### **Pathomorphological changes in the body of calves in protozoosis, prevention measures**

The problem of establishing the prevalence of protozoa among animals is disclosed in this article. Cryptosporidiosis of calves is widespread in farms of Sumy and Chernihiv regions. The extent of infestation in different areas ranges from 12.4% to 81.4% and averages 41.23% of the surveyed livestock. In different territorial and climatic zones of the location of farms during the survey was almost the same level of involvement of calves from 39.3% to 81.4%. Examination of sick animals revealed the pathogen *Cryptosporidium parvum*. The duration of infestation and the development of infestation in newborn calves depends in direct proportion to their content and seasonality. From the fourth day of birth, the allocation of oocysts is registered. The maximum number is observed on the seventh day and the figure was  $50.8 \pm 0.47\%$  in winter and from  $29.6 \pm 0.25\%$  to  $42.8 \pm 0.31\%$  in summer. two peaks of invasion extent. The first is registered on the fifth day after the onset of pathogen isolation. On the seventh day, the second wave of oocyst secretion is established. The duration of secretion of *Cryptosporidium* oocysts in calves is up to 21 days from birth. Veterinary conditions of animals play a significant role in the spread of cryptosporidiosis among susceptible livestock. The accumulation of oocysts in the environment is caused by its constant circulation in livestock facilities for keeping newborn calves. At hematological research the extension efficiency of drugs of coccidiostats at complex application is established. When they are used in the blood of animals to be treated, the amount of hemoglobin, erythrocytes increases. The level of leukocytes and leukogram parameters correspond to the physiological norm in the process of recovery. In laboratory diagnosis, a modified method of segmentation in a solution of surfactants was used. As a means of inhibiting the development of the pathogen, used a complex drug of domestic production Bravitacoccid at a dose of 1.5 g / 10 kg of body weight with vitamin B1 and combined with drugs that stabilize metabolism in animals .. Particular attention was paid to the preparation of premises for maintenance newborn calves, with a preliminary study in the laboratory, washed from the walls, machines, household items, oocyte contamination of the pathogen *C. Parvum* and other representatives of invasive pathogens.

**Key words:** oocysts, biochemical analysis, hematological examinations, blood, feces, large intestine, mucous membrane, bravitacoccid, brovaseptol.

Дата надходження до редакції: 27.11.2020 р.



## ВПЛИВ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА МОЛОКА НА ЙОГО ЯКІСТЬ ТА БЕЗПЕЧНІСТЬ

Герун Інеса Володимирівна

аспірант

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0002-1674-3410

[gerun.inesa@gmail.com](mailto:gerun.inesa@gmail.com)

Скляр Олександр Іванович

доктор ветеринарних наук, професор

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0002-0111-1277

[sklyar1956@gmail.com](mailto:sklyar1956@gmail.com)

Мусієнко Олексій Володимирович

кандидат ветеринарних наук, доцент

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0002-4873-7023

[aleksey\\_musya@ukr.net](mailto:aleksey_musya@ukr.net)

В статті наведені дані санітарно-гігієнічного стану ферми при виробництві молока за традиційних та за новітньої технології. В даній роботі були проведені дослідження мікроклімату у приміщеннях для корів та його вплив на якість та безпечність молока. Нашими дослідженнями встановлено що якість та безпечність молока напряму залежить від технології його виробництва. За використання новітньої технології виробництва молока кількість соматичних клітин та загальне обмінення молока не перевищувало 221,1 тис/см<sup>3</sup> та 70,8 КУО тис/см<sup>3</sup> відповідно. Разом з тим з'ясовано що за використання новітньої технології виробництва молока в зимовий період часу температура в приміщенні може опуститися до -10°C, але це не приводить до збільшеності захворювання на мастит та органи дихання. Захворювання корів на мастит не перевищує 6,4 відсотка що є одним із кращих показників.

**Ключові слова:** мікроклімат, молоко, сірководень, аміак, відносна вологість, загальне бактеріальне обмінення, швидкість повітря, вуглекислий газ, корови, мастит.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.4.3>

**Вступ.** Забезпечення населення продуктами харчування є глобальною соціально-економічною проблемою, яку необхідно вирішувати об'єднавши зусилля на всіх рівнях. Харчування було і буде актуальним та найсуттєвішим чинником, який здійснює постійний вплив на життя та здоров'я людини Hulich, M.P. (2011), Smolar, V.I. (2013), Zamoyski K. (2014). За сучасних умов виробництва молока виникає необхідна потреба щодо вивчення комплексу профілактичних заходів. Які б дозволили повністю використовувати генетичний потенціал тварин і разом з тим зберегти здоров'я та отримати якісну і безпечну продукцію від них. На тепер з'являється велика кількість технологічних новин, які направлена на отримання найбільшої продуктивності з найменшими затратами. За використання промислових технологій часто не враховують природні потреби тварин, які науково обґрунтовані відповідають певній фізіологічній групі. Досить часто виробничники змінюють проекти на свій розсуд та залежно від регіону. На сьогодні на ринку послуг пропонуються різні технології виробництва молока незважаючи на природно-кліматичні умови та добробут тварин. Останнім часом стали більше впроваджувати автоматизовані та роботизовані системи доїння (Dorofeev, O.V. and Buncev, V.E. (2015), Kernasyuk, Y. (2015), Kostenko, V. (2013), Kostenko, V. (2015), Kyryliuk, I. (2016). Отже природно виникає питання які ж найкращі технології з погляду на збереження здоров'я тварин, продуктивності, якості та безпечності продукції. Основними алгоритмами при виборі технології виробництва молока є добробут тварин

який базується на умовах годівлі, напування та санітарно-гігієнічних нормах. Порушення цих постулатів неодмінно приведе до захворювання тварин, втрати продуктивності і як наслідок погіршення якості та безпечності молока.

Сучасні вимоги до молока сировини. Виробництво, якість та безпечність молока регламентуються Законом України «Про молоко та молочні продукти», за редакцією від 05.04.2015. та наказом Міністерства аграрної політики №118 «Про затвердження Вимог до безпечності та якості молока і молочних продуктів». Світова організація торгівлі (СОТ) встановлює нові вимоги до молока як сировини яка постачається на молокопереробні підприємства для виробництва молочної продукції. В зв'язку з цим у 2018 р. було розроблено та введено в дію новий національний стандарт ДСТУ 2662:2018 «Молоко-сировина коров'яче. Технічні умови», який містить характеристики та технічні умови для здійснення закупівлі та приймання молока коров'ячого з метою подальшого введення в обіг. Норми мікробіологічних показників були визначені ще в 1997 року і суттєво відрізнялися від таких у ЄС. Якщо раніше за стандартом 1997 молоко другого сорту приймалося на переробні підприємства то на тепер таке молоко вважається непридатним для виробництва молочних продуктів. Стандарт ДСТУ 2662:2018 направлений на підвищення вимог до якості та безпечності молока. Відповідно до чинних вимог виробники молока повинні впровадити належну виробничу практику. Молоко-сировина повинно відповідати ДСТУ 2662:2018 «Молоко-сировина коров'яче. Технічні умови». Кількість мезофільних аеробних

і факультативно- анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ за температури 30 °С), тис. КУО/м<sup>3</sup> повинно бути не більше для екстра гатунку ≤100 для вищого ≤300 для першого ≤500, вміст соматичних клітин тис./см<sup>3</sup> для гатунку екстра та вищій ≤400 для першого ≤500.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** На теперішній час виробництво найбільшої кількості продукції не зважаючи на якість нікому непотрібна. Отже наряду з кількістю продукції постала якість яку можна отримати лише від здорових тварин за умови відповідності санітарно-гігієнічних вимог при виробництві. Одним із основних санітарно-гігієнічних вимог у будівництві тваринницьких приміщень є мікроклімат. До мікроклімату приміщення відносять освітлення, вентиляцію, загазованість, мікробну забрудненість які дозволяють тварині відчувати себе в зручному середовищі. На здоров'я та поведінку тварин і як наслідок на продуктивність впливають як зовнішні так і внутрішні чинники. Згідно закону про добробут тварин власники повинні надавати їм належний добробут та задовільні умови існування. Немаловажною причиною порушення мікроклімату у приміщенні є скупченість тварин. Яка призводить до збільшення концентрації газів, вологості та бактеріального забруднення. Погіршення мікроклімату призводить до захворювання тварин та впливає на якість продукції (Andrievskiy, V. et al., 2013), (Arulraj, P et al., 2015), (Busato, A et al., 2000). Мікроорганізми які знаходяться у повітрі можуть потрапляти на шкіру та вим'я корів а звідти у молоко таким чином збільшуючи його бактеріальне обсіменіння. Крім того, підвищена вологість разом зі зниженням температури та протяги можуть привести до захворювання на мастит (Andrievskiy, V. et al., 2013), ( Shkromada, O. et al., 2019). Молоко відповідно до даних санітарно-епідеміологічної служби відноситься до продуктів першої категорії, які викликають харчові токсикоінфекції. В зв'язку з цим галузь тваринництва впроваджує міжнародні вимоги щодо якості та безпечності виробленої продукції. Саме для цього впроваджують принципи міжнародної системи НАССР. Основними принципами якої є контроль якості та безпечності не на кінцевому результаті а протягом всього ланцюга виробництва (Кугуліук, І., 2016), (Zamoyski, K. 2015). На сьогодні на теренах України значний відсоток молока виробляється за інтенсивною технологією але все ще більша частка дійних корів утримується хоча і в переоснащених але все ж таки приміщеннях які повністю не відповідають сучасним вимогам. Що не дозволяє отримати від них максимальну продуктивність безпечної та якісної продукції. Одним із чинників, який впливає на добробут тварин, є система утримання. В Україні діють нормативними актами щодо утримання дійних корів – ВНТП АПК-01.05 (скотарські підприємства). Сучасні умови утримання тварин в тому числі і корів вимагають використовувати безприв'язний метод. Але ще досить часто використовується прив'язне утримання. За безприв'язного утримання доїння тварин проходить у доїльних залах, санітарний стани яких дозволяє отримати молоко найвищого гатунку. За прив'язного утримання навіть за найбільш сприятливих умов значна частина молока все-одно отримується нижчим класом. Хоча здорові корови виробляють молоко і в тих і других умовах умовно стерильним. Отже на якість та безпечність молока впливають умови утримання тварин та безпосередньо умови його отримання. Значна частина господарств за прив'язного способу утримання у теплий період року вико-

ристовують літні табори. Тварини знаходяться на відкритому повітрі що дозволяє змінити мікроклімат, в достатній кількості отримати ультрафіолетове опромінення, оздоровитися. За приязного утримання для доїння використовуються доїльні установки АДУ -1. В переобладнаних приміщеннях використовується доїльна установка «Брацлав» Українського виробництва. Господарства які використовують новітню технологію для доїння використовується доїльна установка «ДеЛаваль» закордонного виробництва (Швеція).

**Метою нашої роботи** було вивчити санітарно-гігієнічні показники виробництві молка молока отриманого за різних способів утримання та доїння корів.

**Матеріали та методи дослідження.** Одним із важливих факторів у виробництві молока є мікроклімат приміщень, який впливає на здоров'я та продуктивність тварин. Значна частина дослідників вважає, що для ефективного ведення молочної галузі потрібно дотримуватись вимог щодо технологічного процесу. Одним з найважливіших факторів який впливає на організм тварин є зовнішнього середовища яке включає себе годівлю та мікроклімат. Від цього залежить як здоров'я так і продуктивність та якість продукції. В зв'язку з цим ми вирішили провести дослідження мікроклімату за різних технологій виробництва молока. Дослідження проводили у ТОВ АФ «За Мир» Сумського району за прив'язного способу утримання корів де використовується доїльна установка АДУ-1. Разом з тим дослідження проводили у ТОВ АФ «Лан» Сумського району Сумської області де використовуються заново збудовані приміщення для виробництва молока за новітньою технологією, також є переобладнані приміщення і в тих і других корівниках використовується доїльна установка «Брацлав» українського виробництва. За прив'язного способу утримання в теплий період року тварини знаходяться в літньому таборі, та в холодний – у приміщенні. У переобладнаних приміщеннях корови утримуються безприв'язно і мають вільний вихід у дворики які розташовані біля приміщення. Найпершим показником мікроклімату є температурний режим за якого тварина себе почуває комфортно. Дослідження температури у приміщенні проводили максимальним ртутним термометром. Та мінімальним спиртовим. Термометри розташовувалися горизонтально на відстані 1,5 метра від підлоги та вікон, а також по діагоналі приміщення. Дослідження концентрації СО<sub>2</sub> проводили за методом Суботіна-Нагорського. Слідуючим показником санітарно-гігієнічного стану приміщення є аміак (NH<sub>3</sub>). Аміак у приміщенні де утримуються тварини виділяється, в основному, із сечі за рахунок розпаду уреазотивних речовин. При тривалому впливі на організм навіть незначних концентрацій (0,15 %) аміаку погіршується загальний стан корів. Отже, концентрацію аміаку необхідно регулярно досліджувати та впливати на цей процес. Вміст аміаку досліджували за допомогою експрес-методу з 0,001 нормальним розчином сірчанної кислоти та індикатором Тоширо. Ще одним із показників умов утримання тварин є сірководень (H<sub>2</sub>S) який також може накопичуватись у приміщенні. Сірководень накопичується у корівниках із сірковмісних речовин органічного характеру. Разом з тим він може надходити із каналізаційної системи. Концентрацію сірководню визначали за допомогою газоаналізатора УГ – 2, мг/м<sup>3</sup>. Під час своєї роботи ми також визначали відносну вологість повітря у приміщенні. Як відомо з літературних джерел

вологість повітря у приміщенні завжди вища ніж в атмосфері. Відносна вологість тваринницького приміщення не повинна перевищувати 70 %. Але у деякі періоди у приміщенні відносна вологість може значно збільшуватися, що негативно відображається на здоров'ї тварин і може привести до захворювання. Для визначення відносної вологість повітря ми використовували статичний психрометр Августа. Визначаючи санітарно-гігієнічні параметри утримання корів ми також провели дослідження швидкості руху повітря у корівнику та дослідили бактеріальну забрудненість приміщення. Для визначення швидкості руху повітря у приміщенні використовували крильчатий анемометр АСО – 3. Дослідження загального бактеріального забруднення проводили за допомогою приладу Ю.А. Кротова по загально прийнятій методиці. Дослідження кількості соматичних клітин визначали мікроскопічним методом Прескотта-Бріда. Загальне обсіменіння молока досліджували за ДСТУ ISO 4833:2006.

**Результати досліджень.** Опрацьовуючи літературу ми виявили що та чи інша технологія виробництва молока свої переваги та свої недолік. До недавнього часу основною технологією виробництва молока була прив'язна система утримання корів. Перевагою цієї системи порівняно з безприв'язним є те що визначається певна група корів за нею закріплюється оператор машинного доїння. Який детально знає індивідуальні підходи до кожної тварини. Це дозволяло отримувати вищу продуктивність. Така система утримання дозволяє виявляти своєчасно фізіологічний стан кожної тварини. Разом з тим не достатком прив'язного утримання є гіподинамія. Що в свою чергу приводить до захворювання кічків та інших систем та органів. Разом з тим тварини не

отримують ультрафіолетове опромінювання, що також негативно відображається на організмі тварин. До недоліків також необхідно віднести збільшення ручної праці так як деякі процеси не можна механізувати. За прив'язного утримання на кожну тварини необхідно планувати більшу площу, також тварин необхідно періодично випускати на прогулянку що займає значну кількість часу. На теперішній час все більше господарств переходять на безприв'язну систему утримання корів. За такого способу протягом усього життя тварини знаходяться у приміщенні. Безприв'язний спосіб дозволяє зменшити витрати праці на одиницю об'єму виробленого молока. Разом з тим у даній системі важлива правильна організація праці. За безприв'язного утримання корів необхідно як можна більше механізувати роботу що дозволить зменшити собівартість молока. Разом з тим така технологія виробництва молока потребує відповідного обладнання як для транспортування так і первинної обробки. Корови розміщуються у секціях. Переваги цієї технології втім що до мінімуму зводиться ручна робота. Ефективне використання площі. Доїння тварин проводиться у доїльних залах де можна витримати санітарно-гігієнічні вимоги при доїнні. Недоліком є те що немає індивідуального підходу до корови. За такої технології виробництва молока суттєво зменшується продуктивний вік тварин. Разом з тим недоліком даної технології є те що у секціях тварини повинні бути одного віку. Неможна змішувати корів із інших секцій так як це приводить до конфліктів між тваринами. Отже на тепер існує ціла низка наукових і практичних підходів до технологій виробництва молока кожна з яких має як негативні так і позитивні відгуки.

Таблиця 1

**Мікроклімат приміщення та санітарно-гігієнічні показники молока за прив'язного способу утриманні корів, (M±m, n – 5)**

Показники	Норма	Пора року			
		Літо	Осінь	Зима	Весна
Температура повітря у приміщенні, °C	8 – 12	-	+11,1 ±2,1	+5,2 ±1,1*	+12,6 ±1,7
Відносна вологість, %	70	-	75,2 ±0,53	82,7 ±0,64*	62,4 ±1,5
Сірководень, мг/м <sup>3</sup>	10	-	13,9 ±1,02	15,4 ±0,88*	8,8 ±0,12
Вуглекислий газ, %	0,25	-	0,20 ±0,011	0,33 ±0,013*	0,15 ±0,022
Аміак, мг/м <sup>3</sup>	20,0	-	20,6 ±1,08	27,0 ±0,82*	16,3 ±0,66
Швидкість руху повітря, м/с	0,5 – 1,0	-	0,71 ±0,08	0,41 ±0,08	1,1 ±0,09
Бактеріальна забрудненість, тис. КУО/м <sup>3</sup>	70 – 120	-	127,6 ±5,82	164,2 ±3,49	114,2 ±4,7
КСК у збірному молоці, тис/см <sup>3</sup>	До 400	392,3 ±23,1	521,1 ±18,9	642,8 ±34,2*	516,4 ±18,9
Загальне бактеріальне обсіменіння, КУО тис/см <sup>3</sup>	до 100	98,3 ±2,7	221,4 ±1,7	356,8 ±2,9*	321,8 ±1,4

*Примітка.* \* p≤0,05 порівняно з нормою.

Приміщення майже не провітрюється, швидкість руху повітря незначна в зв'язку з цим чисте зовні не надходить що і приводить до збільшення бактеріального забруднення. В стійловий період збільшується захворюваність корів на мастит особливо прихованої форми. Показником захворюваності на мастит є вміст соматичних клітин у збірному

молоці. Так якщо порівняти вміст СК в літній час та зимовий то їх кількість збільшилась на 249 тис/см<sup>3</sup>. Отже за вмістом соматичних клітин молоко не може бути реалізованим гатунком екстра і навіть вищим. Така сама тенденція спостерігається і у загальному обсіменінні молока. Так загальне обсіменіння молока підвищилось на 258,5 КУО тис/см<sup>3</sup>

**Мікроклімат корівника та санітарно-гігієнічні показники молока корів за безприв'язного утримання у переобладнаних приміщеннях (M±m, n – 5)**

Показники	Норма	Пора року			
		Літо	Осінь	Зима	Весна
Температура повітря у приміщенні, °C	8 – 12	13,7±2,1	+8,4±1,1	+6,2±1,2	+7,6±2,1
Відносна вологість, %	70	62,8±0,64	65,2±0,49	75,7±0,31	60,4±1,1
Сірководень, мг/м <sup>3</sup>	10	8,1±0,83	9,9±0,20	11,6±0,31	7,3±0,11
Вуглекислий газ, %	0,25	0,15±0,01	0,17±0,08	0,27±0,04	0,11±0,03
Аміак, мг/м <sup>3</sup>	20,0	0,10±0,09	12,4±1,1	22,0±0,71	11,3±0,60
Швидкість руху повітря, м/с	0,5 – 1,0	1,1±0,09	0,8±0,09	0,8±0,07	1,1±0,04
Бактеріальна забрудненість, тис. КУО/м <sup>3</sup>	70 – 120	68,7±2,11	71,8±2,80	131,3±2,49	118,2±3,7
КСК у збірному молоці, тис/см <sup>3</sup>	До 400	312,3±11,1	371,1±14,7	453,8±28,8*	411,3±14,9
Загальне бактеріальне обсіменіння молока, КУО тис/см <sup>3</sup>	до 100	78,4±1,7	85,6±1,4	307,8*±12,0	204,8±1,4

*Примітка.* \* p≤0,001 порівняно до літнього періоду

Наші дослідження показують, що мікроклімат приміщенні за безприв'язному способу утримання табл. 2 навіть у переобладнаних корівниках близький до вимог виробництва молока ґатунку екстра. Що правда в холодний період року нами було зафіксовано тенденцію до підвищення концентрації CO<sub>2</sub> сірководню та аміаку (р-невірогідне). Разом з тим необхідно відмітити що в зимовий період року суттєво збільшується вміст соматичних клітин та бактеріальне обсіменіння молока. Так кількість соматичних клітин порівняно до літнього періоду збільшилась на 141,5 тис/см<sup>3</sup>, а загальне бактеріальне обсіменіння підвищилось на 229,4 тис КУО/см<sup>3</sup> (p≤0,001). Отже аналізуючи результати дослідження мікроклімату приміщення та якості і безпечності молока можна констатувати що в усі періоди року крім зимового мікроклімат відповідає вимогам для тримання тварин та отримання якісного та безпечного молока. Санітарно-гігієнічні показники якості та безпечності молока в усі періоди року крім зимового відповідають вимогам ДСТУ 2662:2018 Таке молоко можна реалізовувати згідно вищого ґатунку і навіть екстра за показниками кількості соматичних клітин та загального бактеріального обсіменіння. Разом з тим ми провели санітарно-гігієнічну оцінку і визначили якість та безпечність молока корів чорно-строкатої породи за умов безприв'язного утримання у ТОВ АФ «Надія» Борзнянського району Чернігівської області. Дослідження проводилось у заново побудованому приміщенні на 2000 голів корів де виробництво молока проходить за новітньою промисловою технологією. За попередній 2019 рік продуктивність тварин склала 9834 кг. У дослідному приміщенні знаходяться лише дійні корови. Корівник через галерею з'єднується з

накопичувачем та молочним блоком. Годівля тварин одностипною кормовою сумішшю круглий рік. Кормову суміш роздають трактори-кормозмішувачі. Гній видаляють за допомогою дельта-скребка а потім до гноєховища де його сушать і повторно використовують як підстилку. Доїння проводиться протягом доби приблизно через 8 годин. Доїльна установка типу «Паралель» фірми ДеЛаваль. Після кожного доїння використовують консервацію дійок. Загальний об'єм приміщення в межах 70588 м<sup>3</sup>. Внутрішня висота приміщення в межах 8,5 м що суттєво впливає на загазованість. На одну корову припадає близько 35, 3 м<sup>3</sup>. Газообмін проходить через надбудови які розташовані по всій довжині конька. Дослідження проводилось за сезонами року. Результати дослідження наведені у нижче розташованій таблиці 3.

Результати наших досліджень показують що при цілодобовому круглорічному утриманні корів у приміщенні показники мікроклімату в різні пори року відрізняються. Та якщо розглянути температуру у приміщенні то вона варіює від + 21°C влітку до – 6,3 °C взимку (а в деякі періоди навіть до -10°C) що не відповідає норм (ВНТП-АПК-01.05). Тобто за температурою у приміщенні лише такі періоди як весна та осінь відповідають вимогам щодо утримання дійних корів. Необхідно відмітити що в холодний період року для напування вода підігрівається до 25-30°C. У жаркий період року використовують установку «Спрей», яка зволожує повітря що в свою чергу підвищує вологість приміщення. Разом з тим такі показники мікроклімату як сірководень, вуглекислий газ та аміак знаходяться нижче допустимих меж.

Таблиця 3

**Мікроклімат корівника та санітарно-гігієнічні показники молока корів отриманого за новітніх технологій (M±m, n – 5)**

Показники	Норма	Пора року			
		Літо	Осінь	Зима	Весна
Температура повітря у приміщенні, °C	8 – 12	21,6±3,2	+10,3±2,1	-6,3±2,1	+11,9±2,2
Відносна вологість, %	70	83,4±0,34	63,2±0,51	73,7±0,31	60,4±1,1
Сірководень, мг/м <sup>3</sup>	10	6,1±0,73	7,4±0,16	8,0±0,11	7,3±0,12
Вуглекислий газ, %	0,25	0,12±0,02	0,12±0,09	0,14±0,03	0,11±0,04
Аміак, мг/м <sup>3</sup>	20,0	0,9±0,08	12,4±1,1	15,0±0,53	13,4±0,32
Швидкість руху повітря, м/с	0,5 – 1,0	1,1±0,07	0,8±0,09	0,6±0,04	1,1±0,03
Бактеріальна забрудненість, тис. КУО/м <sup>3</sup>	70 – 120	58,4±1,11	64,7±1,34	84,3±1,09	72,3±1,7
КСК у збірному молоці, тис/см <sup>3</sup>	До 400	211,2±10,2*	214,8±11,3*	221,1±14,8*	213,7±14,9*
Загальне бактеріальне обсіменіння молока, КУО тис/см <sup>3</sup>	до 100	54,9±1,6	65,4*±1,3	70,8*±1,9	63,8*±1,5
Захворюваність на мастит, %	-	5,6	5,5	6,4	6,2

*Примітка.* \* P≤0,001 порівняно до літнього періоду

На наш погляд це пов'язано з тим що у перехідні періоди року підвищений рух повітря у приміщенні. Разом з

тим ми провели дослідження загального бактеріального обмінення молока, вмісту соматичних клітин та відсотку захворювання на мастит. Так з а нашими дослідженнями загальне бактеріальне обмінення молока в усі пори року не перевищувало межу КУО 100 тис/см<sup>3</sup> і знаходилось у межах 54,9±1,6 до 70,8±1,9 КУО тис/см<sup>3</sup> (P≤0,001). Кількість соматичних клітин була нижче від допустимої норми на 178,9 тис/см<sup>3</sup>. Отже санітарно-гігієнічні показники молока відповідають ґатунку екстра. Разом з тим за проведеним нами дослідженням захворювання корів на мастит відсоток хворих не перевищував 6,4 %. Наші дослідження підтверджуються тим що ТОВ АФ «Надія» все молоко на переробні підприємства здає ґатунком екстра. Отже якість та безпечність молока напряму залежить від технології його виробництва.

#### Висновки.

1. Нашими дослідженнями встановлено що якість та безпечність молока напряму залежить від технології його виробництва. За використання новітньої технології виробництва молока кількість соматичних клітин та загальне обмінення молока не перевищувало 221,1 тис/см<sup>3</sup> та 70,8 КУО тис/см<sup>3</sup>. Що відповідає ґатунку екстра.

2. За захворювання корів на мастит при виробництві молока за новітньою технологією у ТОВ АФ «Надія» не перевищує 6,4 відсотка.

3. За використання новітньої технології виробництва молока в зимовий період часу температура в приміщенні може опускатися до -10°C, але це не приводить до збільшення захворювання на мастит та органи дихання.

#### References

1. Andrievskiy, V.Y., Kostenko, O.I., Ostapiuk, M.P., Kasianchuk, V.V., Skliar, O.I., 2013. Quality management systems. Milk. Calculation of somatic cells. Part 1. Microscope method (control method) (ISO 13366-1: 2008 IDF 148-1:2008): DSTU ISO 13366-1: 2008. Kyiv: State Consumer Standard of Ukraine, 12.
2. Arulraj, P., Asarudheen, I., Jasmin, T., Mohammed, Sarfas, Sahnas, N.K., Vedha, Satheesh, Venkatanarayanan, R., 2015. Dairy bacteriology and microbial analysis of milk using syringe filter. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 2, 380-388.
3. Busato, A., Trachsel, P., Schallibaum, M., Blum, J.W., 2000. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine* 44, 205-220. [CrossRef]. DOI: [10.1016/s0167-5877\(00\)00104-5](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(00)00104-5)
4. Dorofeev, O. V. and Buncev, V. E. (2015), "The role of staff in ensuring competitive advantages of the agrarian enterprise", *Anthropologichni aspekty upravlinnia suhasnym pidpryemstvom : vseukrainska naukovo-praktyhna Internet-konferenzia [Anthropological aspects of management of a modern enterprise : Ukrainian scientific and practical Internet-conference]*, PDAA, Poltava, Ukraine.
5. Dufour, S., Frechette, A., Barkema, H.W., Mussell, A., Scholl, D.T., 2011. Invited review: effect of udder health management practices on herd somatic cell count. *Journal of Dairy Sciences* 94, 563-579. [CrossRef]. DOI: [10.3168/jds.2010-3715](https://doi.org/10.3168/jds.2010-3715)
6. Hulich, M.P. (2011), "Balanced diet and healthy lifestyle – key factors maintaining the health of the population", *Problemy starenia y dolholetyia*, vol. 2, pp. 128–132
7. Hussain, R., Javed, M.T., Khan, A., 2012. Changes in some biochemical parameters and somatic cell counts in the milk of buffalo and cattle suffering from mastitis. *Pakistan Veterinary Journal* 32, 418-421.
8. Joshi, S., Gokhale, S., 2006. Status of mastitis as an emerging disease in improved and periurban dairy farms in India. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1081, 74-83. [CrossRef]. DOI: [10.1196/annals.1373.007](https://doi.org/10.1196/annals.1373.007)
9. Kernasyuk, Y. (2015), "Robotized cow milking: recouplement of investments", Online, available at : <http://www.agro-business.com.ua/suchasne-tvarynnytstvo/3978.html> (Accessed 15 Oct 2017).
10. Kostenko, V. (2013), "Milking of cows, evaluation and selection of firstlings", [Online], available at: <http://www.agro-business.com.ua/suchasne-tvarynnytstvo/1530.html> (Accessed 15 Oct 2017)
11. Kostenko, V. (2015), "Economy of milk production", [Online], available at : <http://www.agro-business.com.ua/suchasne-tvarynnytstvo/3171.html> (Accessed 15 Oct 2017).
12. Kyryliuk, I. (2016), "Current approaches to guarantee the quality and safety of animal products in the EU", *Efektivna ekonomika*, vol. 12, available at: <http://www.economy.nayka.com.ua/?op=1&z=5330> (Accessed 03 Sep 2017)
13. Lelieveld, H.L.M., Holah, J., Gabric, D., 2016. *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*, (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition), 2nd Edition, Woodhead Publishing.
14. *Livestock Production Technology* (2005), "Milking of cows", [Online], available at : <http://buklib.net/books/34166/> (Accessed 15 Oct 2017).
15. Lucenko, M. and Zvoleyko, D. (2012), "Research of the process of milking cows in the specialized milking parlours", *Technika i tehnologiyi v APK*, , vol. 9(36), pp. 31–34.
16. Lucenko, M. and Zvoleyko, D. (2013), "Efficiency of using robotized milking systems", *Technika i tehnologiyi v APK*, , vol. 5(44), pp. 13–15.
17. Ma, Y., Ryan, C., Barbano, D.M., Galton, D.M., Rudan, M.A., Boor, K.J., 2000. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Sciences* 83, 264-274. [CrossRef]. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74873-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74873-9)
18. Shkromada, O., Palii, A., Palii, A., Skliar, O., Dudchenko, Y., & Necherya, T. (2019). Improvement of milk quality for micro-climate formation on cattle farms. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, (4 (47), 43-49. DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2019.4.7>
19. Mankiewicz, R., 2004. *The Story of Mathematics*. Princeton, NJ: Princeton University Press.
20. Marshall, R.T., 1992. *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 16th ed. American Public Health

Association, Washington, DC.

21. Murphy, S.C., Boor, K.J., 2000. Trouble-shooting sources and causes of high bacteria counts in raw milk. Dairy, Food and Environmental Sanitation 8, 606-611.

22. Otenko, V. I. (2014), "Competitive advantages of business activities", *Biznes inform*, , vol. 4 (435), pp. 290–295.

23. Smolar, V.I. (2013), "Formula nutrition", *Problemy kharchuvannia*, vol. 2, pp. 5–9.

24. Zamoyski, K. Zamoyski, C. Wilczynski, J. and Chorna, O. (2014), "Nutrition students", *Naukovi zapysky: Pedagogichni nauky*, vol. 132, pp. 319–323.

**I.W. Gerun**, postgraduate student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

**O.I. Sklyar**, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

**O.V. Musiienko**, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

**The influence of milk production technology on its quality and safety**

*In the article, the authors have studied a significant amount of literature related to milk production technology. Under modern conditions of milk production there is a necessary need to study a set of preventive measures. Which would allow to make full use of genetic potential of animals and at the same time to keep health and to receive qualitative and safe production from them. At present, there is a large amount of technological news, which is aimed at obtaining the highest productivity at the lowest cost. The use of industrial technologies often does not take into account the natural needs of animals, which are scientifically sound to meet a certain physiological group. The authors conducted a parallel study of three milk production technologies with different systems of keeping cows. The article presents data on the sanitary and hygienic condition of the farm in milk production using traditional and the latest technology. In this work, studies of the microclimate in the premises for cows and its impact on the quality and safety of milk were conducted. Our research has shown that the quality and safety of milk directly depends on the technology of its production. With the use of the latest milk production technology, the number of somatic cells and total milk contamination did not exceed 221.1 thousand / cm<sup>3</sup> and 70.8 CFU thousand / cm<sup>3</sup>, respectively. However, it was found that with the use of the latest technology of milk production in the winter time, the room temperature can drop to -10 °C, but this does not lead to an increase in mastitis and respiratory diseases. The incidence of mastitis in cows does not exceed 6.4 percent, which is one of the best indicators.*

**Key words:** microclimate, milk, hydrogen sulfide, ammonia, relative humidity, total bacterial contamination, air velocity, carbon dioxide, cows, mastitis.

Дата надходження до редакції: 29.11.2020 р.

## COMPREHENSIVE METHODS OF DIAGNOSIS AND PREVENTION OF POSTPARTUM COMPLICATIONS IN COWS

Abubakari Ibrahim Cawla

postgraduate student

Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

ORCID: 0000-0002-1654-4470

cawlatech@yahoo.com

*The experiments were conducted during 2018 - 2020 on cows of black-spotted breed in the conditions of LLC "Ryasnianske" of Krasnopil district of Sumy region.*

*Cows were aged 4 - 8 years with an average annual milk yield of 2.5 - 3.1 thousand kg of milk per lactation. Assessment of the postpartum period was performed according to the changes that occurred in the female reproductive system. This took into account not only the general condition of the animals, the nature of the exudate, the size and topography of the uterus, but also the condition of the ovaries, cervix and vagina in rectal and vaginal examinations. Diagnosis of various forms of endometritis was performed based on medical history, clinical and gynecological studies.*

*For the treatment of cows of the experimental group with postpartum endometritis, they were injected subcutaneously with 10 ml of the drug "Metrisan" in a mixture with 0.5% solution of novocaine at a rate of 1: 1. The interval between injections was 7-10 days. The frequency depended on the form of endometritis and was 3-5 injections. For the treatment of cows of the control group with postpartum endometritis they used a 10% solution of ichthyol intrauterinely Injection of 7% solution of ichthyol into pararectal tissue*

*In 2018, 2 cows (1.6%) dropped out for this reason, in 2019 - 4 heads (3.1%), in 2020 -4 cows (2.8%). Due to age-related infertility, 1 cow was culled in 2018 (0.8%), 2 cows were culled in 2019 (1.3%), and 2 heads were culled in 2020 (1.4%). Due to injuries in 2018, 1 cow was discarded (0.8%), in 2019 1 cow was culled (0.8%), in 2020 1 cow was culled (0.7%). In 2018, the most common pathology of the postpartum period was vulvo vaginitis 8%, endometritis - 6.5%, artificially acquired infertility - 0.8%. In 2019, 9.8% of cows had endometritis; vaginitis, vulvitis, cervicitis - 8.3%, artificially acquired infertility was 0.8%. In 2020, endometritis was 17%, vaginitis, vulvitis, cervicitis - 9.2%, artificially acquired infertility was 0.8. According to the results of the research, the therapeutic efficacy was higher in the experimental group, where the therapy of cows with acute purulent-catarrhal endometritis using the drug sepranol and amoxicillin-150 was used.*

*The total number of days of infertility in the control group was 125 days, in the experimental - 60 days. In terms of 1 head it is: in the control group - 25 days, in the experimental -12 days. The duration of the period from birth to fertilization in the control group is 55 days, in the experimental group - 42 days.*

**Key words:** cows, causes of infertility, postpartum endometritis, drug "Metrisan"

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.4.4>

**Introduction.** In the profitability of the dairy industry, an important role belongs to the technology of reproduction, which is considered to be the main biological factor that limiting livestock growth. At the present stage of development of animal husbandry there is no tendency to reducing the frequency of inflammatory processes in the genital system, which complicates the course of postpartum endometritis in animals, and therefore therapy and prevention of obstetric and gynecological diseases is especially relevant for modern obstetrics (Evans, Alexander & Zeng, Shenming, 2017; Kuzminova, E.V. & Semenenko, Marina & Koshchaev, A.G. & Chernyh, O.Y. & Turchenko, A.N., 2019; Roman Rudakov, Liliya Khamitova, Anastasiya Metlyakova & Vyacheslav Milaev, 2020; Pascal, N., OlivierBasole, K., Claired'Andre, H., & BocklineOmedo, B., 2021; Nyabinwa, P., Kashongwe, O. B., Hirwa, C. D., & Bebe, B. O. 2020). Numerous data from the literature (Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N. and Dobson, H., 2002; Potter et al., 2010 T.J. Potter, J. Guitian, J. Fishwick, P.J. Gordon, I.M. Sheldon, 2010) indicate that obstetric and gynecological diseases affect from 10% to 90% of cows of the dairy group of farms in different areas of Ukraine.

Among gynecological diseases that lead to infertility, a large role belongs to chronic endometritis (Santos, T. M., Gilbert, R. O., & Bicalho, R. C., 2011).

Endometritis and sub involution of the uterus cause long-term infertility, decreased meat and dairy productivity, fatness, deterioration of sanitary and technological qualities of milk, lack of a significant number of calves and premature

culling of animals (Ghanem, M. E., Tezuka, E., Devkota, B., Izaiki, Y., & Osawa, T., 2015). Culling and slaughter of infertile animals due to endometritis and ineffective treatment reach 24 - 80% of the number affected by this pathology (Nyabinwa, P., Kashongwe, O. B., Hirwa, C. D., & Bebe, B. O., 2020).

Prevention of postpartum diseases in uterine cattle and reducing the incidence and death of newborn calves is one of the main problems of veterinary science and practice in the field of non-infectious pathology (Gilbert R. O., 2016).

One of the urgent problems that need to be solved in veterinary obstetrics is the prevention and treatment of such postpartum diseases in cows as sub involution of the uterus, endometritis, cervical and ovarian diseases (Pascal, N., Olivier Basole, K., Claired' Andre, H., & Bockline Omedo, B., 2021).

The practice of veterinary medicine in recent years has registered a trend towards the spread of obstetric and gynecological diseases in domestic animals (Potter et al., 2010). For the treatment of females with obstetric and gynecological pathology, more than 50 thousand different compounds are used, of which more than eight thousand are antibacterial in nature (Roman Rudakov, Liliya Khamitova, Anastasiya Metlyakova & Vyacheslav Milaev, 2020).

Rational complex therapy requires the use of drugs that act on different parts of the pathological process, the basis of which is intrauterine administration rational complex therapy requires the use of drugs that act on various parts of the pathological process, the basis of which is the intrauterine administration of broad-spectrum antibacterial drugs. The use of

antibiotics in veterinary medicine is a rational and appropriate method that increases the effectiveness of chemotherapy for bacterial complications, especially when using their combinations (Bogado Pascottini, Osvaldo & Van Schyndel, Sabrina & Sprício, José & Romulo Carvalho, Murilo & Mion, Bruna & Ribeiro, Eduardo & LeBlanc, Stephen 2020).

#### Literature Review

Postpartum endometritis (acute endometritis) inflammation of the uterine mucosa with an acute course, which is accompanied by significant changes in the endometrium and increased activity of healthy or regenerated uterine glands, according to the pathological process and the nature of the secretion of mucus is diagnosed:

- Endometritis catarrhalis characterized by the release of catarrhal exudate;

- Endometritis Catarrhalis et Purulenta, in which the discharge from the genitals are mucous - purulent nature

- Endometritis purulenta - secretion of purulent exudate (Le Blanc S. J., 2014);

According to some authors, the leading role in the pathogenesis of endometritis belongs to the development of autonomic neuroses in the uterus (Dahl-Pedersen, K., Herskin, M. S., Houe, H., & Thomsen, P. T., 2018). It is established that regardless of the etiology of the inflammatory process (aseptic or infectious), it is accompanied by constant irritation of the nerve endings of sympathetic nerves, which eventually leads to the development of degenerative processes with subsequent accumulation in tissues of deoxidized products and increased activity of hyaluronidase (Gilbert R. O., 2016). At the same time in the places of inflammation there is a violation of blood circulation, this is, the physiological distribution of blood flowing in the tissue of the organ is inhibited due to the so-called microcirculation through arterioles-capillaries-venules (Al-Bagdadi, F., Eilts, B., & Richardson, G., 2004). The mechanism of impaired blood microcirculation in the area of inflammation depends on the nature of the primary pathogen and can occur due to vasospasm, thrombosis, as well as - as a consequence of paresis of the venules, the subsequent development of venous stasis. In all cases, regardless of the mechanism of microcirculation, simultaneously with the spasm of small vessels comes the expansion of arterio-venous anastomoses, through which arterial blood, passing the capillary network, enters the venous system. Thus, hypoxia always develops in the area of the inflammatory process, which further complicates the course of the inflammatory reaction (Mohammed, Z. A., Mann, G. E., & Robinson, R. S., 2019).

Inflammatory processes are usually associated with the penetration of infection, although endometritis is always an infectious process (but not contagious, non-infectious) (de Cássia Bicudo Luana, Oba Eunice, Bicudo Sony Dimas, da Silva Leite Domingos, Siqueira Amanda Keller, de Souza Monobe Marina Mitie, Nogueira Meghi, de Figueire do Pantoja José Carlos, Listoni Fernando José Paganini, Ribeiro Márcio Garcia, 2019). Endometritis occurs due to infection of the genitals of healthy cows with microorganisms that enter the uterine cavity in the postpartum period. The possibility of microbes from the source of infection in the liver, lungs and kidneys is not excluded.

The occurrence of the disease is facilitated by the use of sperm contaminated with opportunistic or pathogenic microorganisms (Yang, H., Zhang, J., Xue, Z. et al., 2020), the

wrong choice of insemination time, accompanied by infertility and increases the likelihood of genital infection. Lack of vitamins A, E, D, B, minerals, especially trace elements Co, Zn, Cu complicates the course of endometritis. Reducing the body's resistance, keeping cows in warm, stuffy rooms, lack of exercise, leads to the development of inflammatory processes in the uterus (Hasan, W. I., & Mustafa, K. N. S., 2020).

Specific diseases, as well as unqualified unsystematic treatment of inflammatory processes with glucocorticoid hormones and other immunosuppressant's poses a real threat to the transition of inflammation into chronic and latent forms (Schlegl, Roland & Drillich, Marc & Ballas, Panagiotis & Reinländer, Ulrike & Iwersen, Michael & Baumgartner, Walter & Ehling-Schulz, Monika & Wagener, Karen, 2020). According to the authors (Santos, T. M., Gilbert, R. O., & Bicalho, R. C. 2011), subacute and chronic endometritis occurs 14 days after calving, although according to other authors, 2-3 weeks after birth, acute endometritis is registered. In the presence of favorable conditions, the inflammatory process can occur even under the influence of low-pathogenic microbes that have entered the uterus. Sometimes it develops due to the activation of the micro flora that takes place in the uterine cavity (autoinfection) (Yang, H., Zhang, J., Xue, Z. et al, 2020).

Some authors see a significant role in the pathogenesis of postpartum infection of immune disorders, which leads to a decrease in anti-infective resistance of the organism, even to opportunistic pathogens and auto flora (Mohammed, Z. A., Mann, G. E., & Robinson, R. S. 2019).

In the acute course of the disease, the general condition does not differ significantly from the norm, but for several days periodically or constantly from the genitals secreted mucopurulent exudate. There is a development of persistent changes in the mucous membrane, muscular and serous layers of the uterus, and these changes are often irreversible (Dahl-Pedersen, K., Herskin, M. S., Houe, H., & Thomsen, P. T., 2018). The cervical canal is slightly open. There is cyanosis and redness of the mucous membrane of the vaginal part of the cervix. At rectal research increase in a uterus, lack of its contractile function, pain and thickening of separate sites of walls, horns and a body of body are noted. Damaged endometrium does not produce prostaglandins, which causes the persistence of corpora lutea with the cessation of cyclic activity (Al-Bagdadi, F., Eilts, B., & Richardson, G., 2004). Changes in the mucous membrane in the form of thickening, loosening, erosions and ulcers. From the uterine glands are formed cysts with chicken egg, some groups with hyperplasia (Mohammed, Z. A., Mann, G. E., & Robinson, R. S., 2019). Prolonged course of chronic endometritis causes desquamation of the integumentary epithelium and the disappearance of caruncles. At alteration the uterus reminds a thin-walled bag which hangs down in an abdominal cavity. The appearance of signs characteristic of chronic endometritis is possible after the next insemination, which is a stimulus to the transition of the inflammatory process from the subclinical phase to the clinical manifestation. After incomplete treatment, the disease seems to subside, and after 3 - 4 weeks runs in the form of acute and then chronic inflammatory processes of this organ (Bogado Pascottini, Osvaldo & Van Schyndel, Sabrina & Sprício, José & Romulo Carvalho, Murilo & Mion, Bruna & Ribeiro, Eduardo & LeBlanc, Stephen, 2020).

#### 2.3. Diagnosis.



The transition from acute to chronic inflammation is very difficult to diagnose in time by clinical signs and even by immunological analysis. The effectiveness of the diagnosis of chronic inflammation is insufficient, because it is carried out without taking into account the pathogenesis of the disease (Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J., 2010). The diagnosis is made comprehensively on the basis of anamnestic data, clinical and obstetric examination of the animal and laboratory tests. At clearly expressed clinical signs of endometritis diagnosis is not difficult. In the absence of clinical signs, an endometrial biopsy is performed, followed by histological examination of samples (Mohammed, Z. A., Mann, G. E., & Robinson, R. S., 2019). Many different methods have been proposed for the diagnosis of latent endometritis and various data on their effectiveness have been obtained.

In practice, the diagnosis is made visually, that is evaluate the mucus taken from the cow during heat for the presence of small flakes of manure, discoloration, but this condition is not found in all sick animals. Laboratory methods allow the most objective judgment of pathological changes that occur in the female reproductive system, but they are expensive, time-consuming and economically unprofitable for practical use (Brewer, Amy & Cormican, Paul & Lim, Joseph & Chapwanya, Aspinas & O'Farrelly, Cliona & Meade, Kieran, 2020).

The bacteriological method is not always reliable, because the uterine cavity may be free of microbes. The most accurate and easily accessible method is a bioassay. The condition of the endometrium can be judged by examination of the smear - imprint on the cytological picture (Al-Bagdadi, F., Eilts, B., & Richardson, G., 2004).

In subclinical endometritis, histamine can be detected in the urine of patients using a slap test (Brewer, Amy & Cormican, Paul & Lim, Joseph & Chapwanya, Aspinas & O'Farrelly, Cliona & Meade, Kieran, 2020).

A fairly accurate method of diagnosing subclinical endometritis is the Fol's method, which allows you to detect sulfur-containing amino acids in the leaky mucus (Barański, W., Podhalecz-Dzięgielewska, M., Zduńczyk, S., & Janowski, T., 2012).

## 2.5. Treatment

Based on the above, most modern authors (Evans, Alexander & Zeng, Shenming., 2017; Roman Rudakov, Liliya Khamitova, Anastasiya Metlyakova & Vyacheslav Milaev, 2020) Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N. and Dobson, H., 2002; Gilbert R. O., 2016; Mohammed, Z. A., Mann, G. E., & Robinson, R. S. 2019; Hasan, W. I., & Mustafa, K. N. S., 2020) in the treatment of cows with postpartum endometritis recognize the most optimal tactics of a veterinarian, which includes the following main positions:

1. Increasing the body's defenses.
2. Restoration of contractile ability of a myometrium.
3. Removal of exudate containing microbes, toxins, tissue breakdown products and suppression of the vital micro flora in the uterine cavity.
4. Stimulation of regenerative processes in the endometrium.

To achieve these goals, non-specific, pathogenetic and symptomatic therapies are recommended, aimed at both the pathogenic focus and the normalization of body function as a

whole.

It is well known that the use of even the most effective therapeutic agents against the background of low resistance does not give a positive result. Therefore, to increase the body's resistance to cows in gynecological diseases, modern clinicians recommend various methods among which the leading place belongs to the works on tissue therapy (Hasan, W. I., & Mustafa, K. N. S. 2020; Masoumi, Reza & Badiei, A & Mousakhani, F & Dirandeh, Essa & Zhandi, Mahdi & Stear, Michael, 2018).

Currently, oil-based intrauterine devices are widely used, and some authors point to the use of bacterial drugs (Doderlein bacillus culture, spore bacteria, lactobacilli), which are antagonists of pathogenic uterine micro flora (Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N. and Dobson, H. 2002).

For the treatment of cows with chronic endometritis, offer drugs that have long-term antimicrobial action (Elsayed, Doaa H., El-Azzazi, Fakhri E., Mahmoud, Yasmina K., Dessouki, Sherif M., & Ahmed, Eman A., 2020). Using antibacterial drugs, we warn of generalization (spread to surrounding tissues) of inflammation, which is currently the prevention of sepsis (Le Blanc S. J., 2014). Drugs injected into the uterine cavity should be indifferent to the internal environment of the uterus, replacing it with properties. It is especially important that they do not destroy or shrink the mucin of the uterus (Al-Bagdadi, F., Eilts, B., & Richardson, G., 2004).

Thus, according to many authors (Le Blanc S. J. 2014), antimicrobial therapy is not always effective enough due to the rapid habituation of microorganisms to drugs, stimulating the action of some of them on the development of pathogenic fungi, as well as their suppression of natural mechanisms of local and general antimicrobial protection. Although, as noted by other authors (Yang, H., Zhang, J., Xue, Z. et al. 2020), Antibiotics in comparison with other means give a better effect in many common animal diseases, The use of antibiotics promotes the development of resistance of microorganisms - this fact is indisputable, although there is a so-called "threshold" of antibiotic use, below which the selection of antibiotic-resistant bacteria does not occur, depending on the number of antibiotics, their dose and duration (Ghanem, M. E., Tezuka, E., Devkota, B., Izaïke, Y., & Osawa, T., 2015). The exclusion of antibiotics from use does not always help reduce the number of resistant and return sensitive strains, oscillating microbes pass protection to other families (Le Blanc S. J., 2014). Absence in some cases of a positive result can be observed at late use of these means [13]. In the formation of stable associations of pathogens to combat them, it is necessary to use complex antibiotics (Yang, H., Zhang, J., Xue, Z. et al. 2020).

Some authors (Mohammed, Z. A., Mann, G. E., & Robinson, R. S., 2019) claim that the use of antibiotics in gynecological diseases completely eliminates the use of milk for food purposes, and even after pasteurization, it is suitable only for animal feed. Other authors believe (Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J., 2010) that the uterine wall has poor permeability to macromolecular structures, which include antibiotics. Thus, after intrauterine infusion of 3 g of tetracycline, the final amount in milk after 84 hours was less than 100 µg / kg. The lowest level of neurotoxicity that does not cause a visible effect of toxicological action is 100 µg / kg of animal weight per day, and this permissible daily use provides the necessary effectiveness of treatment (de Cássia Bicudo

Luana, Oba Eunice, Bicudo Sony Dimas, da Silva Leite Domingos, Siqueira Amanda Keller, de Souza Monobe Marina Mitie, Nogueira Meghi, de Figueire do Pantoja José Carlos, Listoni Fernando José Paganini, Ribeiro Márcio Garcia 2019). Therefore, the accumulation of pharmazone and tetracycline in the tissues and organs of animals treated, as well as their excretion in milk is relatively small.

**Aims.**

The main purpose of the research is to study the effectiveness of complex schemes of therapy of cows in acute postpartum purulent-catarrhal endometritis, in particular with the use of immunomodulatory drugs with simultaneous intrauterine administration of gel-based antibiotics.

To achieve this goal, the following tasks were set:

- ✓ to study the reasons for the spread of obstetric pathology of cows in farms of Luhansk region, in particular the spread of chronic endometritis;

- ✓ to conduct a comparative evaluation of the therapeutic efficacy of intrauterine use of gel-based antibiotics tetracycline and tilane and iodine bismuth sulphonamide emulsion in chronic endometritis in cows and to study the residual amount of antibiotics in milk after a course of antibiotic therapy.

- ✓ determine the cost-effectiveness of the proposed methods of treatment of cows with postpartum endometritis

**Materials and Methods**

The experiments were conducted during 2018 - 2020 on cows of black-spotted breed in the conditions of LLC "Ryasnianske" of Krasnopil district of Totaly region.

Cows were aged 4 - 8 years with an average annual milk yield of 2.5 - 3.1 thousand kg of milk per lactation.

Feeding rations of control and experimental groups of

animals were not balanced or on individual indicators in accordance with feeding norms. Assessment of the postpartum period was performed according to the changes that occurred in the female reproductive system. This took into account not only the general condition of the animals, the nature of the exudate, the size and topography of the uterus, but also the condition of the ovaries, cervix and vagina in rectal and vaginal examinations.

At rectal research paid attention also to the general reaction of an animal.

Diagnosis of various forms of endometritis was performed based on medical history, clinical and gynecological studies.

For the treatment of cows of the experimental group with postpartum endometritis, they were injected subcutaneously with 10 ml of the drug "Metrisan" in a mixture with 0.5% solution of novocaine at a rate of 1: 1. The interval between injections was 7-10 days. The frequency depended on the form of endometritis and was 3-5 injections (Tab. 1).

For the treatment of cows of the control group with postpartum endometritis they used a 10% solution of ichthyol intrauterine ly Injection of 7% solution of ichthyol into pararectal tissue

The effectiveness of treatment was determined by the timing of clinical recovery of animals.

The gynecological examination consisted of external and internal examination. In the study by examination and palpation determined the condition of the abdominal wall, udder, the configuration of the root of the tail, the condition of the pelvic ligaments, vulva, withered crusts, the presence of exudate, its quantity, consistency and color.

Table 1

**Scheme of treatment of cows with postpartum endometritis**

A group of animals	Scheme
Experimental (n = 10)	Candles with rivanol intrauterine Metrisan injections subcutaneously 10 ml
Control (n = 10)	10% solution of ichthyol intrauterine Injection of 7% solution of ichthyol into pararectal tissue

Vaginal and rectal examination was performed on pre-recorded animals in the stall. When conducting a vaginal examination, the animal was placed in the direction of the daylight source. A pre-boiled vaginal mirror was used for work. The vagina, vaginal part of the cervix and anterior vagina were examined, paying attention to the color change of the mucous membrane, violation of its integrity: swelling of the cervical mucosa, overlays, scars, adhesions, cervical gaps, exudate from the uterus.

The cervix, body, uterine horns, ovaries, pelvic bones, and uterine mesentery were palpated rectally through the rectum. Examining the cervix, they paid attention to its location, size, consistency, mobility, pain, curvature. Palpation of the uterus determined the location, contractility, size, consistency and configuration of the horns, pain, presence, nature and number of discharges. Ovaries investigated, determining their shape, size, consistency, surface nature, mobility and soreness.

At rectal research paid attention also to the general

reaction of an animal.

Biochemical studies to determine the content in serum of total protein, seromucoids, glucose and triglycerides, sodium, potassium, calcium and phosphorus and alkaline phosphatase activity were performed in the laboratory of the Department of Surgery of SNAU.

**Results**

The reason for rejection was the loss of milk productivity. For this reason, 4 cows (2.8%) were culled in 2018, 3 cows (2.3%) in 2019, and 4 cows (2.8%) in 2020.

According to the number of culls of cows there is symptomatic infertility. In 2018, 2 cows (1.6%) dropped out for this reason, in 2019 - 4 heads (3.1%), in 2020 -4 cows (2.8%). Due to age-related infertility, 1 cow was culled in 2018 (0.8%), 2 cows were culled in 2019 (1.3%), and 2 heads were culled in 2020 (1.4%). Due to injuries in 2018, 1 cow was discarded (0.8%), in 2019 1 cow was culled (0.8%), in 2020 1 cow was culled (0.7%) (Tab.2).

Table 2.

### The reasons for culling cows on the farm

Indicator	2018		2019		2020	
	heads	%	heads	%	heads	%
All cows left	6	4,8	9	6,8	8	5,4
Hypogalactia and breast disease	4	3,2	3	2,3	4	2,8
Age rejection	1	0,8	2	1,3	2	1,4
Injuries	1	0,8	1	0,8	1	0,7
Symptomatic infertility	2	1,6	4	3,1	4	2,8

On average, 23 animals (5.4%) dropped out in 3 years, of which 11 heads (2.8%), symptomatic infertility - 11 heads (2.8%), age-related infertility - 5 cows (due to loss of milk productivity). 1.3%), injuries - 3 heads (0.8%).

Prevalence of pathological births and diseases of the postpartum period

During this period from 2018 to 2020 the number of births per herd was 277, including in 2018 - 89, in 2019 - 92, in 2020 - 96. The number of normal physiological births in this period was 313 (82.7%), the number of pathological births - 59

cases (15.4%).

The causes of pathological birth in 2018 in this farm were: weakness of contractions and attempts - 15 cases (12%), the wrong relationship between the fetus and the birth canal - 2 cases (1.6%), delayed litter - 13 cases (10.5% of total number of births)

In 2019, the weakness of contractions and attempts - 13 cases (9.8%), the wrong relationship between the fetus and the birth canal - 1 case (0.8%), manure delay - 8 cases (6%) (Tab. 3).

Table 3.

### The main causes of pathological birth in the economy

Years	Total cows	Weak contractions and attempts		Incorrect relationship between the fetus and the birth canal		Manure delay	
		Total	%	Total	%	Total	%
2018	124	15	12	2	1,6	13	10,5
2019	133	13	9,8	1	0,8	8	6
2020	141	10	7	1	0,7	4	2,8
Total	398	38	9,5	4	1	25	6,3

In 2020, the number of cases of weakness of contractions and attempts - 10 cases (7%), the wrong relationship between the fetus and the birth canal - 1 case (0.7%), delayed litter - 4 cases (2.8%).

In the first place for the last 3 years among the causes of pathological birth is registered weakness of contractions and attempts - 38 cases, 9.5%; then there is a delay of manure - 25 cases, 6.3% of the total number of births for 3 years and the wrong relationship between the fetus and birth canal - 4 cases, 1%. The most important among the pathologies of the postpartum period are endometritis, vaginitis, vulvitis, cervicitis and other gynecological diseases.

Study of indicators of postpartum pathology of cows,

Analyzing this statistical report and the above material, we can conclude that the most common cause of culling was the pathology of the postpartum period, which once again indicated the relevance of our chosen topic and the feasibility of research in this area.

The following conclusions can be drawn from the table. In 2018, the most common pathology of the postpartum period was vulvo vaginitis 8%, endometritis - 6.5%, artificially acquired infertility - 0.8%. In 2019, 9.8% of cows had endometritis; vaginitis, vulvitis, cervicitis - 8.3%, artificially acquired infertility was 0.8%. In 2020, endometritis was 17%, vaginitis, vulvitis, cervicitis - 9.2%, artificially acquired infertility was 0.8 (Tab. 4.)

Table 4.

### Dynamics of postpartum pathology of cows

Types of pathology	year 2018		year 2019		year 2020		Total	
	Total of cows	%	Total of cows	%	Total of cows	%	Total of cows	%
Normal course	105	84,6	109	81,9	110	78,1	324	93
Pathological course	19	15,3	24	18,1	31	21,9	74	22,8
Postpartum endometritis	8	6,5	13	9,8	17	12	38	9,5
Vaginitis, vulvitis, Cervicitis	10	8	11	8,3	13	9,2	34	8,5
Artificially acquired barrenness	1	0,8	1	0,8	1	0,8	3	0,8

The study was performed on two groups of animals - control and experimental 5 heads in each.

Animals of the first group (control group) used uterine lavage with an Esmarch mug 0.1% aqueous solution of potassium permanganate - for 1, 2, 3, 4, 5 days for 2.5 liters. Furazolidone stick - from 1 to 5 days for 6 pieces, oxytocin - for 1, 3, 5, 7, 9, day 40 Units. Furazolidone rods have an antiseptic effect. Oxytocin activates the contraction of uterine smooth muscle and helps remove exudate. Tetravit - for 1 and 10 days for 15 ml. Tetravit compensates for the lack of vitamins in animals. Vitamin A, D3, E. Flushing the uterus with an Esmarch

mug 0.1% aqueous solution of potassium permanganate - for 1, 2, 3, 4, 5 days for 2.5 liters. Potassium permanganate is an antiseptic. Amoxicillin twice a day at a dose of 40 ml, this is an antibiotic. The drug completely blocks the growth and development of bacteria.

Animals of the second group (experimental) were treated with the drug sepranol - intrauterine 2 tablets for 5 days, amoxicillin 150 - intramuscularly 50 ml. once. Sepranol has a broad antibacterial spectrum of action against most gram-positive and gram-negative bacteria, protozoa and fungi, as well as provides anti-inflammatory action, improves proliferative

processes in the genitals; propranolol hydrochloride - stimulates the activity of the uterus and is a beta-blocker adrenoceptor biometrics. Amoxicillin is a semi-synthetic antibiotic and has a broad spectrum of antimicrobial activity. The mechanism of

action of amoxicillin is to disrupt the synthesis of mucopeptide, which is part of the cell wall of microorganisms, by inhibiting the enzymes transpeptidase and carboxypeptidase, which leads to osmotic imbalance and destruction of the bacterial cell.

Table 5.

#### Scheme of the experiment

Group	Number of heads	Therapeutic drugs	Number of days of the experiment
Control	15	Potassium permagnate 2.5 liters, invaginally for the first 5 days. Furazolidone sticks 6 pcs. Internally - uterine, the first 5 days. Oxytocin 40 U, intramuscularly, 1,3,5,7,9. Tetravit 15 ml., Intramuscularly, 1-10. Bicillin 3, intramuscularly 4.5 million IU. On the 1st day.	10
Experimental	15	Sepranol intrauterine, 2 tablets. The first 5 days. Amoxicillin 150 intramuscularly, in a dose of 50 ml, on the first day.	5

The results of the study conducted in the farm "Dubrava" located in the village of Ochkinе Seredino-Bud district of Totaly

region, it was found that the proposed therapy was effective in both the experimental and control groups (Tab.6).

Table 6

#### The effectiveness of methods of treatment of cows with acute postpartum purulent-catarrhal endometritis

A group of animals	Number of animals	Duration of treatment, days	Recovered	Fertilized after birth	Number of days of infertility		Duration from birth to fertilization
					in the group	for 1 head	
Control	15	10	4	4	125	25	55
Experimental	15	5	5	5	60	12	42

However, according to the results of the studies, the therapeutic efficacy was higher in the experimental group, where the therapy of cows with acute purulent-catarrhal endometritis using the drug sepranol and amoxicillin 150 was used.

The total number of days of infertility in the control group was 125 days, in the experimental - 60 days. In terms of 1 head it is: in the control group - 25 days, in the experimental - 12 days.

The duration of the period from birth to fertilization in the control group is 55 days, in the experimental group - 42 days.

#### Discussion of the results of research

Acute postpartum purulent-catarrhal endometritis is one of the most common and dangerous diseases of cows, which brings huge economic losses to the economy. Diseases of the uterus not only negatively affect fertility, but also reduce all types of animal productivity. The disease begins to develop on the 5th - 6th day after birth in the form of altered lochia from the uterus.

The pathological process in endometritis is localized in the mucous membrane and connective tissue. Once in the uterus, microbes irritate the tissues with the products of their vital activity. As a result of the action of microbes and their toxins, inflammation occurs, the spread of which depends on the virulence of microbes, the resistance of uterine tissues and its response to pathogenic factors.

The inflammatory process begins to develop with redness and swelling of the tissues. The vessels of the uterus dilate and overflow with blood, increased transudation leads to the development of edema. In the stage of hyperemia, the activity of oxidative processes in the tissues of the uterus increases sharply.

The disease occurs as a result of injury and infection of the uterus during birth, retention of manure, abortion, etc. Favorable factors are important: poor feeding, the predominance of acidic foods, mineral and vitamin deficiency of cows.

In the pathology of development for, prophylactic and therapeutic purposes use antibacterial and anti-inflammatory

drugs. In the process of laboratory, clinical and industrial studies, the drugs have proven to be low-toxic and highly effective in diseases of acute postpartum purulent-catarrhal endometritis.

As a result of research, it was found that the use of the drug sepranol and amoxicillin-150 better treats and prevents the development of furazolidone sticks, tetravit.

#### Discussions

The transition from acute to chronic inflammation is very difficult to diagnose in time by clinical signs and even by immunological analysis (Hasan, W. I., & Mustafa, K. N. S. (2020). Many authors (Barański, W., Podhalicz-Dzięgielewska, M., Zduńczyk, S., & Janowski, T. (2012) note that sub acute and chronic endometritis occurs in 14 days after calving, although according to other authors (Masoumi, Reza & Badiie, A & Mousakhani, F & Dirandeh, Essa & Zhandi, Mahdi & Stear, Michael. (2018), acute endometritis is registered 2-3 weeks after calving. Timely veterinary care for a sick cow helps to reduce the service period, accelerate the fertilization of cows, reduces the duration of treatment and funds for therapeutic agents (Hasan, W. I., & Mustafa, K. N. S. (2020)).

Unbalanced diet in all respects, low quality of prepared feed, lack of mineral and vitamin supplements in the diet cause a decrease in blood levels of vital substances in all respects, especially carotene, which helps to suppress non-specific indicators of immunobiological protection and activation of micro flora uterus. The main etiological factor in the occurrence of chronic endometritis in cows are pathogenic and opportunistic microorganisms, which, acting on the body together, enhance their virulence properties and cause a pathological process (Dahl-Pedersen, K., Herskin, M. S., Houe, H., & Thomsen, P. T. (2018)).

Given the participation of blood in physiological reactions that cause changes in cellular and humoral immune factors, depending on environmental conditions and pathology (chronic endometritis) (Elsayed, Doaa H., El-Azzazi, Fakhri E., Mahmoud, Yasmina K., Dessouki, Sherif M., & Ahmed, Eman A.), the morpho-biochemical and immunological parameters of

clinically healthy and endometritis cows were determined. . Studies of morphological composition included counting the number of erythrocytes, leukocytes, leukogram output, and biochemical analysis of blood - determining the amount of hemoglobin, total protein and its fractions.

In sick cows there is a significant decrease in the content of erythrocytes and leukocytes. The appearance in the blood of animals with endometritis, basophils and young neutrophils, as well as an increase in the number of rod and segmental neutrophils indicates neutrophilia with a simple regenerative shift of the nucleus to the left, indicating the presence of purulent inflammation in the body (Ghanem, M. E., Tezuka, E., Sasaki, K., Takahashi, M., Yamagishi, N., Izaïke, Y., & Osawa, T. (2016)). This is due to the fact that the main function of neutrophils is their participation in protecting the body from infectious and toxic effects (Stojkov, Yanne&Keyserlingk, Marina&Duffield, T. &Fraser, D.. (2020)). Neutrophils - the first protective barrier against the penetration of microorganisms into the internal environment of the body; they are able to function in inflammation not only as phagocytes, but also as a "secretory gland", maintaining homeostasis under conditions of infection by agents of various natures (Barański, W., Podhalicz-Dzięgielewska, M., Zduńczyk, S., &Janowski, T. (2012)).

Among the biochemical parameters we noted some differences. The amount of total protein, albumin and hemoglobin in the blood of sick cows was significantly reduced compared to clinically healthy animals. Hypoalbuminemia leads to metabolic disorders between the blood and the interstitial space, as well as to the disruption of the transport of hormones, vitamins and minerals (Ghanem, M. E., Tezuka, E., Sasaki, K., Takahashi, M., Yamagishi, N., Izaïke, Y., & Osawa, T. (2016)). The increase in all fractions of globulins, in particular -globulins in chronic inflammation, is due to their participation in the defense mechanisms of the sick animal, and the increase in -

globulins - due to the presence of lipoproteins in this fraction. Almost the same content of -globulins, which are mainly immunoglobulins, in our opinion, is characterized by the fact that the intensification of immunological processes was observed in the acute phase of inflammation, which is not typical in the transition of this process to chronic. All this led to a significant decrease in the protein ratio, that is, to dysproteinemia.

That is, analyzing the obtained data of clinically healthy and patients with chronic purulent-catarrhal endometritis, we conclude that in the body of patients there is a complex of immunological and morphobiochemical changes that cause the chronic course. These processes are associated with the development of a secondary immunodeficiency condition relative to the suppressor variant, caused by both the immunogenicity of microorganisms and their toxins, and morphological changes in tissue in the area of inflammation (Semenov, V & Baimukanov, D & Tyurin, V & Kuznetsov, A & Tsarevsky, I & Nikitin, D & Efimova, I. (2020)).

### Conclusions

1. The fertilization rate of cows over the past three years has tended to decrease due to a decrease in the percentage of animals that gave birth to twins and an increase in such indicators as stillbirth and abortion of non-infectious origin; on average, this figure for the last three years is 91.73%.

2. The infertility of cows on the farm over the past four years has a tendency to increase and averages 22.9%, and its main causes are infertility (74%), obesity and depletion of 13%.

3. Cow shortage occurs mainly due to injuries of general origin 0.68% and infertility 47.62%, age - 9.18% and due to low productivity - 38.44%.

4. The best effect in the treatment of animals with delayed manure was found when using candles with rivanol intrauterine and injections of "Metrisan" subcutaneously 10 ml.

### Reference

1. Al-Bagdadi, F., Eilts, B., & Richardson, G. (2004). Scanning Electron Microscopy of the Endometrium of Mares Infused with Gentamicin. *Microscopy and Microanalysis*, 10(2), 280-285. <https://doi.org/doi:10.1017/S1431927604040115>
2. Barański, W., Podhalicz-Dzięgielewska, M., Zduńczyk, S., &Janowski, T. (2012). The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. *Theriogenology*, 78(9), 1939-1947. <https://doi.org/10.1016/j.theri.2012.07.015>
3. Bogado Pascottini, Osvaldo & Van Schyndel, Sabrina &Sprícigo, José & Romulo Carvalho, Murilo & Mion, Bruna & Ribeiro, Eduardo & LeBlanc, Stephen. (2020). Effect of anti-inflammatory treatment on systemic inflammation, immune function, and endometrial health in postpartum dairy cows. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62103-x>.
4. Brewer, Amy & Cormican, Paul & Lim, Joseph & Chapwanya, Aspinas & O'Farrelly, Cliona & Meade, Kieran. (2020). Qualitative and quantitative differences in endometrial inflammatory gene expression precede the development of bovine uterine disease. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75104-7>.
5. Dahl-Pedersen, K., Herskin, M. S., Houe, H., & Thomsen, P. T. (2018). Risk Factors for Deterioration of the Clinical Condition of Cull Dairy Cows During Transport to Slaughter. *Frontiers in veterinary science*, 5, 297. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00297>
6. de Cássia Bicudo Luana, Oba Eunice, Bicudo Sony Dimas, da Silva Leite Domingos, Siqueira Amanda Keller, de Souza Monobe Marina Mitie, Nogueira Meghi, de Figueire do Pantoja José Carlos, Listoni Fernando José Paganini, Ribeiro Márcio Garcia (2019) Virulence factors and phylogenetic group profile of uterine *Escherichia coli* in early postpartum of high-producing dairy cows. *Animal Production Science* 59, 1898-1905. <https://doi.org/10.1071/AN17729>
7. Dubuc, J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Walton, J. S., & LeBlanc, S. J. (2010). Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(11), 5225-5233. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3428>
8. Elsayed, Doaa H., El-Azzazi, Fakhri E., Mahmoud, Yasmina K., Dessouki, Sherif M., &Ahmed, Eman A.. (2020). Subclinical endometritis and postpartum ovarianre Total option in respectto TNF- $\alpha$ , IL-8 and CRP in Egyptian buffaloes. *Animal Reproduction*, 17(1), e20190027. Epub February 07, 2020. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-ar2019-0027>
9. Evans, Alexander & Zeng, Shenming. (2017). Causes, prevention and management of infertility in dairy cows.

<https://doi.org/10.19103/AS.2016.0006.20>.

10. Ghanem, M. E., Tezuka, E., Devkota, B., Izaike, Y., & Osawa, T. (2015). Persistence of uterine bacterial infection, and its association with endometritis and ovarian function in postpartum dairy cows. *The Journal of reproduction and development*, 61(1), 54–60. <https://doi.org/10.1262/jrd.2014-051>

11. Ghanem, M. E., Tezuka, E., Sasaki, K., Takahashi, M., Yamagishi, N., Izaike, Y., & Osawa, T. (2016). Correlation of blood metabolites on concentrations and body conditions scores with persistent postpartum uterine bacterial infection in dairy cows. *The Journal of reproduction and development*, 62(5), 457–463. <https://doi.org/10.1262/jrd.2015-103>

12. Gilbert R. O. (2016). Management of Reproductive Disease in Dairy Cows. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 32(2), 387–410. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.01.009>

13. Hasan, W. I., & Mustafa, K. N. S. (2020). Effect of vitamin E and selenium injection on some physiological characteristics and biochemical parameters in local ram lamb. *Journal of Duhok University*, 23(2), 34-43. Retrieved from <https://journal.uod.ac/index.php/uodjournal/article/view/854>

14. Kuzminova, E.V. & Semenenko, Marina & Koshchayev, A.G. & Chernyh, O.Y. & Turchenko, A.N..(2019). Pharmacological prevention of obstetric and gynecological diseases in cows. *Dusunen Adam*. 10. 608-612.

15. Le Blanc S. J. (2014). Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 8 Suppl 1, 54–63. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000524>

16. Masoumi, Reza & Badiei, A & Mousakhani, F & Dirandeh, Essa & Zhandi, Mahdi & Stear, Michael. (2018). Quantification of the uterine involution and dimensions, hormonal response and reproductive performance of pyometric and healthy dairy cows treated with Dinoprost. *South African Journal of Animal Science*. 48. <https://doi.org/10.4314/sajas.v48i2.3>.

17. Mohammed, Z. A., Mann, G. E., & Robinson, R. S. (2019). Impact of endometritis on postpartum ovarian cyclicity in dairy cows. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 248, 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.03.008>

18. Nyabinwa, P., Kashongwe, O. B., Hirwa, C. D., & Bebe, B. O. (2020). Perception of farmers about endometritis prevention and control measures for zero-grazed dairy cows on small holder farms in Rwanda. *BMC veterinary research*, 16(1), 175. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02368-6>

19. Pascal, N., Olivier Basole, K., Claired'Andre, H., & Bockline Omedo, B. (2021). Risk factors associated with endometritis in zero grazed dairy cows on small holder farms in Rwanda. *Preventive veterinary medicine*, 188, 105252. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105252>

20. Potter et al., 2010 T.J. Potter, J. Guitian, J. Fishwick, P.J. Gordon, I.M. Sheldon Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle *Theriogenology*, 74 (2010), pp. 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.01.02320207407>

21. Santos, T. M., Gilbert, R. O., & Bicalho, R. C. (2011). Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cows. *Journal of dairy science*, 94(1), 291–302. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3668>

22. Schlegl, Roland & Drillich, Marc & Ballas, Panagiotis & Reinländer, Ulrike & Iwersen, Michael & Baumgartner, Walter & Ehling-Schulz, Monika & Wagener, Karen. (2020). Field trial on the post-insemination intrauterine treatment of dairy cows with mild endometritis with cephalirin. *Theriogenology*. 156. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.06.024>.

23. Semenov, V & Baimukanov, D & Tyurin, V & Kuznetsov, A & Tsarevsky, I & Nikitin, D & Efimova, I. (2020). Features of adaptation and meat qualities of Aberdeen-Angus bulls on the background of immunostimulation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/433/1/012024>.

24. Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N. and Dobson, H. (2002), Effect of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *Veterinary Record*, 151: 531-534. <https://doi.org/10.1136/vr.151.18.531>

25. Stojkov, Yanne & Keyserlingk, Marina & Duffield, T. & Fraser, D.. (2020). Management of cull dairy cows: Culling decisions, duration of transport, and effect on cow condition. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17435>.

26. System of prevention of gynaecological diseases in high-productive cows under in a farm in the Udmurt Republic Roman Rudakov, Liliya Khamitova, Anastasiya Metlyakova and Vyacheslav Milaev *BIO WebConf.*, 27 (2020) 00094 DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202700094>

27. Yang, H., Zhang, J., Xue, Z. et al. Potential Pathogenic Bacteria in Seminal Microbiota of Patients with Different Types of Dysspermatism. *Sci Rep* 10, 6876 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63787-x>

**Абубакарі Ібрагім Каєла**, аспірант, Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

Комплексні методи діагностики та профілактики послідових ускладнень у корів

Досліди проводили протягом 2018 - 2020 рр. на коровах чорної-рябої породи в умовах ТОВ «Ряснянське» Краснопільського району Сумської області.

Корови були віком 4 - 8 років з середньорічною молочною продуктивністю 2,5 - 3,1 тис.кг молока за лактацію. Оцінку перебігу післяродового періоду проводили згідно із змінами, які відбувалися в статевому апараті самки. При цьому враховували не тільки загальний стан тварин, характер ексудату, розмір та топографію матки, але й стан яєчників, шийки матки і піхви при ректальному та вагінальному дослідженні. Діагностику різних форм ендометриту проводили з урахуванням даних анамнезу, клінічного і гінекологічного досліджень.

Для лікування корів дослідної групи з післяродовим ендометритом їм підшкірно ін'єктували 10 мл препарату "Метрісан" в суміші з 0,5 %-ним розчином новокаїну з розрахунку 1:1. Інтервал між ін'єкціями складав 7-10 днів. Кратність залежала від форми ендометриту і складала 3-5 ін'єкцій. Для лікування корів контрольної групи з післяродовим ендометритом їм застосовували 10%-ний розчин іхтіолу внутриматочно. Ін'єкції 7%-ного розчину іхтіолу в параректальну клітковину

В 2018 році в цієї причини вибула 2-корова (1,6 %), у 2019 році - 4 голови (3,1 %), у 2020 році -4 корови (2,8 %). За причинами вікової неплідності в 2018 році вибракували 1 корову (0,8 %), 2019 році вибракували 2-корови(1,3%), 2020 році вибракувано 2 голови (1,4 %). За причинами травматизму в 2018 році вибракували 1 корову (0,8 %), в 2019 році вибракували 1-корова(0,8%),2020 році вибракували 1-корова голова (0,7 %). У 2018 році найпоширенішою патологією післяродового періоду був вульво вагініт 8%, ендометрит – 6,5 %, штучно набута неплідність – 0,8 %. У 2019 році ендометритом хворіло 9,8 % корів; вагінітом, вульвітом, цервіцитом – 8,3 %,штучно набута неплідність складала 0,8%. У 2020 році ендометрит складав 17 %, вагініт, вульвіт, цервіцит – 9,2 %, штучно набута неплідність складала-0,8. За результатами досліджень терапевтична ефективність була вищою в дослідній групі, де застосовувалась терапія корів з гострим гнійно-катаральним ендометритом з використанням препарату сепранол та амоксицилін-150.

Загальна кількість днів неплідності в контрольній групі склала 125 днів, в дослідній - 60 днів. В перерахунку на 1 голову це становить: в контрольній групі - 25 днів, в дослідній -12 днів. Тривалість періоду від родів до запліднення в контрольній групі- 55 днів, в дослідній - 42 дні.

**Ключові слова:** корови, причини неплідності, післяродовий ендометрит, препарат «Метрисан»

Дата надходження до редакції: 20.11.2020 р.

## ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЗІНФІКУЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРЕПАРАТУ «КОНТАВІР»

Недзеря Тетяна Іванівна

аспірант кафедри акушерства та хірургії  
Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)  
ORCID: 0000-0002-4972-7935  
[tatyanaledzheria@ukr.net](mailto:tatyanaledzheria@ukr.net)

Однією з невирішених проблем для санітарії та гігієни у ветеринарній медицині є виникнення резистентності у мікроорганізмів до певних груп дезінфектантів, які постійно використовуються. Тому виникає необхідність створення нових комплексних дезінфікуючих засобів. Метою роботи було проведення доклінічних досліджень дезінфікуючих властивостей засобу «Контавір». Дослідження проводили в умовах навчально-наукової лабораторії «Ветеринарна фармація» Сумського національного аграрного університету.

Проводили визначення бактерицидного розведення та фенольного коефіцієнта дезінфектанту «Контавір». Експеримент починали з приготування розчину дезінфектанту «Контавір» та культур мікроорганізмів *E. coli* та *S. aureus*. Встановлено, що бактерицидна дія засобу «Контавір» сильніша за бактерицидну дію карболової кислоти в 131,5 рази. В присутності високомолекулярного білка бактерицидна дія засобу «Контавір» знижується в 1,61 рази.

Визначали ефективність дії дезінфектанту «Контавір» на тест-об'єктах: бетон, пластик, кахель та метал. Визначення якості проведеної дезінфекції проводили через 10, 40 та 60 хвилин. Доведено, що дезінфектант «Контавір» проявляє бактерицидні властивості через 10 хвилин експозиції у концентрації 0,25 % на поверхні металу, пластику та кахелю. На неоднорідній поверхні бетону дезінфектант знищує колонії *E. coli* через 60 хвилин експозиції.

Також проводили дослідження бактерицидної активності дезінфікуючого засобу «Контавір» суспензійним методом щодо ентеробактерій, грампозитивних коків, грамнегативних паличок та баціл суспензійним методом. Засіб дезінфікуючий «Контавір» у концентрації 0,1 % проявляє бактерицидну активність стосовно *S. aureus* 209-P, *Salmonella Choleraesuis*, *Streptococcus faecium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella spp.*, при експозиції 60 хвилин, а із *Enretobacter spp.* при 30 хвилинах контактування. Антимікробні властивості дезінфектант проявляє в концентрації 0,25 та 0,5 % стосовно *S. aureus* 209-P, *Salmonella Choleraesuis*, *Streptococcus faecium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella spp.*, *Enretobacter spp.* при експозиції 30 хвилин.

Дослідження віруліцидної дії засобу «Контавір» суспензійним методом проводили відносно ДНК- та РНК-містких вірусів. Встановлено, що «Контавір» у концентрації 0,25 % при експозиції 30 хвилин проявляє віруліцидну дію стосовно збуднику трансмісивного гастроентериту свиней; при експозиції 60 хвилин – до збудників хвороби Ауєскі; паразиту-3 великої рогатої худоби та вірусної діареї великої рогатої худоби. Дезінфікуючий засіб «Контавір» у концентрації 0,25 % при експозиції 60 хвилин проявляє віруліцидну дію стосовно збуднику хвороби Тешена; при експозиції 30 хвилин в концентрації 0,5 % відносно хвороби Ньюкасла; хвороби Гамборо та хвороби Марєка.

**Ключові слова:** фенольний коефіцієнт, білковий індекс, бактерицидна активність, тест-об'єкти, віруліцидна активність.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.4.5>

**Вступ.** Існує безліч засобів для чищення та дезінфікуючих засобів, доступних для використання в тваринницьких приміщеннях. Вибір ефективного дезінфектанту для використання на вашій фермі вимагає ретельного вивчення історії недавніх захворювань і ряду інших специфічних факторів ферми, включаючи жорсткість і рН води, типи підлог і інших поверхонь, потенційні проблеми для навколишнього середовища, досвід персоналу і вартість.

Дезінфекція у приміщеннях для утримання тварин відіграє важливу роль для недопущення виникнення та розповсюдження інфекції. Кожен дезінфікуючий засіб має певні хімічні властивості. Важливо визначитись з необхідною ефективною концентрацією робочого розчину засобу при проведенні дезінфекції. Створення кожного дезінфектанту починають в лабораторних умовах. Засіб, який виявився ефективним у *in vitro*, може бути рекомендований для подальшого дослідження у виробничих умовах.

**Аналіз основних досліджень і публікацій.** Довгі дебати ведуться навколо питання про те, чи корисно чергувати дезінфікуючі засоби, що використовуються в тваринництві, щоб запобігти селекцію стійких штамів патогенних організмів. Ротація дезінфікуючих засобів часто застосову-

ється в лікарнях і на підприємствах з виробництва ліків (Tenzin et al., 2019) проте в системах тваринництва це практикується рідше.

За минулі роки ветеринарні лікарі стикнулися з безліччю інформації про те, які дезінфікуючі засоби використовувати на взуття, черевках, шинах або іншому обладнанні, щоб вбити вірус ящуру або грипу. Перш ніж вибрати дезінфікуючий засіб для повсякденного використання на фермі, слід врахувати кілька важливих моментів щодо дезінфекції. По-перше, більшість дезінфікуючих засобів не подіють, якщо дезінфіцируемая поверхня не чиста (через наявність органічних речовин, таких як бруд або гній) перед нанесенням дезінфікуючого засобу (Fablet et al., 2012).

Парові апарати і апарати високого тиску можуть бути дуже корисні для очищення пористих поверхонь. Органічні матеріали, такі як ґрунт, рослинні залишки (наприклад, солома), молоко, кров, гній і гній, часто інактивують деякі дезінфікуючі засоби або захищають мікроби від активних інгредієнтів дезінфікуючого засобу. Цій проблемі особливо схильні до дезінфікуючі засоби на основі хлору. Хлор, активний інгредієнт відбілювача, відносно швидко інактивується органічними залишками, такими як гній і навіть молоко, в концен-



траціях, зазвичай використовуваних на чистих поверхнях (Chang et al., 2013).

Крім того, навіть «жорстка» вода може знизити або знищити дію деяких дезінфікуючих засобів. Точно так же деякі дезінфікуючі розчини активні тільки протягом декількох днів після змішування або приготування. Нездатність приготувати свіжий розчин дезінфікуючого засобу після того, як він був приготовлений довше, ніж кілька днів, або після того, як він став помітно забруднений органічними речовинами, такими як гній, може привести до використання продукту, який дійсно не працює. Гірше того, це може дати помилкове відчуття безпеки. Вірно, що достатня концентрація і час контакту можуть подолати деякі з цих проблем з певними класами дезінфікуючих засобів, але часто збільшення концентрації або часу контакту робить використання продукту непрактичним, дорогим або їдким (Shkromada & Nedzheria, 2020).

Дезінфікуючі засоби також значно різняться за своєю активністю проти різних мікробів - бактерій, вірусів, грибів і найпростіших. Наприклад, простий оцет (4-відсоткова оцтова кислота) легко вбиває вірус ящура, але не має значного впливу на *Mycobacterium paratuberculosis*. Найбільш часто вживані дезінфікуючі засоби не активні проти бактеріальних спор, екологічно стійкої форми життя, яку приймають мікроби, що викликають правець, ботулізм і сибірку (Ogunniyi et al., 2019). Так, формальдегід ефективний проти більшості мікроорганізмів, але насправді він не є практичним дезінфікуючим засобом і тепер вважається потенційно небезпечною сполукою, що викликає онкологічні захворювання у людей.

Важливо вибрати дезінфікуючий засіб, яке буде діяти щодо широкого спектра мікробів в умовах, в яких він зазвичай використовується. Ці умови включають жорстку воду, забруднення органічними речовинами і потенційну токсичність або пошкодження огорожувальних конструкцій, шкіри та одягу (Díaz et al., 2018). Також важливо, щоб розчини були чистими і тільки що виготовленими відповідно до вказівок виробника.

Нарешті, дезінфікуючі засоби повинні мати достатній час контакту з поверхнями, на які вони наносяться, щоб дозволити їм знищити мікроорганізми.

Більш старі засоби на основі сполук четвертинного амонію (Roccal D™) підходять для деяких ситуацій і відносно чистих поверхонь та дезінфекції. Нажаль вони не будуть особливо ефективні проти ящура або *M. paratuberculosis*, і мають помітно знижену активність в присутності органічних речовин. Деякі з нових засобів четвертинного амонію мають підвищену активність, проте вони зазвичай швидко інактивуються при контакт з милом або залишками мила (Chen et al., 2015).

Сполуки на основі фенолу є похідними кам'яновугільної смоли і часто мають сильний запах соснової смоли. Зазвичай вони стають молочними при додаванні в воду і мають гарну активність в жорсткій воді і в присутності деяких органічних речовин. Вони вважаються активними проти багатьох бактерій, вірусів і грибів, включаючи бактерії, що викликають туберкульоз. Вони не особливо активні проти вірусів, проте вони є гарним універсальними дезінфікуючими засобами для використання на фермах (Shkromada et al., 2019). Деякі приклади дезінфікуючих засобів цього класу включають One Stroke Environ®, Osyl® і Amphyl®.

Сполуки хлору є хорошими дезінфікуючими засобами для чистих поверхонь і мають широкий спектр дії. Зазвичай вони більш активні в теплій воді. Вони можуть викликати корозію металів і шкодити одяг, гумові вироби. Їх активність сильно знижується через наявність органічних речовин. Багато хлорних сполук нестабільні і вимагають частотої заміни (Dennler-Church et al., 2020).

Регулярно вводяться нові дезінфікуючі засоби (Wohlgemuth et al., 2020). Для підвищення ефективності дезінфектанту створюються нові багатокомпонентні засоби. За використання декількох сполук, які синергетично пов'язані між собою, не виникає проблема із виникненням резистентності у мікроорганізмів до певних хімічних комплексів. Також збільшується спектр протимікробної дії у комплексного дезінфікуючого засобу.

**Мета.** Метою роботи було проведення доклінічних досліджень дезінфікуючих властивостей засобу «Контавір».

**Матеріали і методи.** Дослідження проводили в умовах навчально-наукової лабораторії «Ветеринарна фармація» та на кафедрі ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва Сумського національного аграрного університету. визначення бактерицидного розведення та фенольного коефіцієнта дезінфектанту «Контавір». Експеримент починали з приготування розчину дезінфектанту «Контавір» та культур мікроорганізмів *E. coli* та *S. aureus*. До кожного розведення дезінфектанту «Контавір» додавали 0,2 см<sup>3</sup> двохмільярдної суспензії добової культури мікроорганізмів. Також через 30 хв., отримували проби і виконували повторний посів на МПБ. Пробірки з МПБ витримували в термостаті при температурі 37 °С протягом 24 годин.

Визначали ефективність дії дезінфектанту «Контавір» на тест-об'єктах: бетон, пластик, кахель та метал. Визначення якості проведеної дезінфекції проводили через 10, 40 та 60 хвилин.

Проводили визначення віруліцидної активності дезінфектанту «Контавір» відносно ДНК- містких вірусів: хвороба Ауескі; Трансмісивний гастроентерит; парагрип великої рогатої худоби; вірусна діарея великої рогатої худоби та РНК- містких вірусів: збудник хвороби Ньюкасла; Гамборо; Марека; хвороба Тешена.

Також проводили дослідження бактерицидної активності дезінфікуючого засобу «Контавір» суспензійним методом що до ентеробактерій, грампозитивних коків, грамнегативних паличок та баціл суспензійним методом. Для визначення бактерицидної дії дезінфектанту «Контавір» використовували штами *S. aureus* 209-P, *Salmonella Choleraesuis*, *Streptococcus faecium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, у концентрації 2 млрд./см<sup>3</sup> та розчин «Контавір» 0,1; 0,25; 0,5 % при експозиції 30 та 60 хвилин. Також проводили розведення дезінфектанту «Контавір» у відповідних концентраціях. Тест культури вносили у пробірки з дезінфектантом. Контроль росту мікроорганізмів здійснювали візуально та шляхом мікроскопії мазків. Наявність чи відсутність росту обраних для експерименту мікроорганізмів дає уявлення про активність дезінфектанту. У випадку появи росту мікроорганізмів, слід збільшити концентрацію, температуру і витрати дезінфектанту «Контавір» на 1 см<sup>2</sup> і провести повторну серію аналогічних досліджень (Golovko & Ushkalov, 2004; Methodical recommendations, 2007).

**Результати досліджень.**

Розробку рецептури препарату «Контавір» ми проводили, виходячи з фізико-хімічних властивостей його складників. При цьому звертали увагу на розчинність усіх компонентів у воді при різних температурах, наявність осаду чи пластівців на поверхні розчину, наявність мутності, стороннього запаху; перевіряли відсутність хімічної взаємодії між діючими речовинами препарату при їх змішуванні.

Підбираючи складники для майбутнього дезінфектанту, ставили за мету досягти широкого спектру його дії, а також поєднання в одному препараті дезінфекційних та дезінвазійних властивостей. Намагалися створити препарат якомога менш токсичний для людей і тварин, порівняно дешевий, простий у використанні, без неприємного запаху, з відповідними мийними властивостями.

В склад дезінфекційного засобу були включені такі хімічні речовини у наступному співвідношенні компонентів, мас. (г/кг): глутаровий альдегід – 50; бензалконій хлорид

–70; додецилдиметиламонію хлорид – 10; етоксильований спирт – 25; амінооксид ПАР генамінокс – 110.

Таким чином, було створено новий препарат – «Контавір», в якому поєднані дві речовини з різними хімічними властивостями та дією (дезінфекційна та дезінвазійна). Використання цього препарату дозволяє провести дезінфекцію та дезінвазію обробку одночасно. Обробку «Контавір» можна проводити також різними способами: промиванням, змочуванням, зануренням, протиранням, обприскуванням.

Визначення бактеріцидного розведення та фенольного коефіцієнта дезінфектанту «Контавір». Експеримент починали з приготування розчину дезінфектанту «Контавір». Первинна концентрація розчину була 1:50 з поступовим зменшенням концентрації засобу при кожному розведенні. Крок розведення дорівнював 10. Також попередньо були проведені розведення культур мікроорганізмів *E. coli* та *S. aureus*. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Бактерицидне розведення «Контавір»

Розчини засобу «Контавір»	Бактерицидне розведення дезінфектанту експозиція, хв.	
	10	30
Фенол 1 : 50	1 : 98	1 : 192,9
«Контавір» 1 : 50	1 : 12024,2	1 : 18128,0
Білковий індекс	1 : 8016,0	1 : 10539,53

Фенольний коефіцієнт дає можливість порівнювати, наскільки бактерицидне розведення дезінфектанту відрізняється від бактерицидного розведення фенолу. Для отримання достовірних даних експеримент виконували у п'яти повторях вираховували середній показник бактерицидного розведення дезінфектанту та фенолу. Наступні розрахунки проводили таким чином. Бактерицидне розведення карболової кислоти при 10 хв. експозиції складає 1:98 та при 30 хв. – 1:192.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що бактерицидна дія засобу «Контавір» сильніша за бактерицидну дію карболової кислоти в 131,5 рази.

Визначення білкового індексу проводили для встановлення ефективності дезінфектанту «Контавір» у середовищі забрудненому органікою. Навіть після механічного очищення приміщення від гною, у холодильних камерах та

молочній тарі залишаються рештки мертвих органічних клітин, з якими контактує дезінфектант і втрачає свою активність.

В результаті проведеного експерименту було встановлено, що бактерицидна дія засобу «Контавір» в присутності високомолекулярного білка знижується в 1,61 рази.

Визначення ефективності дії дезінфектанту «Контавір» на тест-об'єктах.

У наших дослідженнях для визначення ефективності дії дезінфектанту «Контавір» використовували бактерії *E. coli* при різних температурних режимах і способах кратності нанесення на тест-об'єкти до того часу, доки не була визначена мінімальна бактерицидна концентрація й експозиція деззасобу для зазначених мікроорганізмів. Результати досліджень наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Ефективність знезараження поверхні тест-об'єктів дезінфектантом «Контавір», контамінованих *E. coli*

Тест-об'єкти	Розчин дезінфектанту, %	Експозиція, хв		
		10	40	60
Бетон	0,1	+	+	+
	0,25	+	+	-
	0,5	-	-	-
Пластик	0,1	+	+	+
	0,25	-	-	-
	0,5	-	-	-
Кахель	0,1	+	+	+
	0,25	-	-	-
	0,5	-	-	-
Метал	0,1	+	+	+
	0,25	-	-	-
	0,5	-	-	-

Примітка: "+" – наявність росту, "-" – відсутність росту

За результатами проведених досліджень встановлено, що дезінфектант «Контавір» проявляє бактерицидні властивості через 10 хвилин експозиції у концентрації 0,25

% на поверхні металу, пластику та кахелю. На неоднорідній поверхні бетону дезінфектант знищує колонії *E. coli* через 60 хвилин експозиції. Проведене дослідження вказує на те, що

не різних матеріалах дезінфектант може проявляти бактерицидні властивості по-різному.

Також проводили дослідження бактерицидної активності дезінфікуючого засобу «Контавір» суспензійним методом що до ентеробактерій, грампозитивних коків, грамнегативних паличок та бацил суспензійним методом. Для визначення бактерицидної дії дезінфектанту «Контавір» викорис-

товували штами *S. aureus* 209-P, *Salmonella Cholerasuis*, *Streptococcus faecium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella spp.*, *Enretobacter spp.*, у концентрації 2 млрд./см<sup>3</sup> та розчин «Контавір» 0,1; 0,25; 0,5 % при експозиції 30 та 60 хвилин. Також проводили розведення дезінфектанту «Контавір» у відповідних концентраціях. Результати досліджень наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Оцінка бактерицидної активності дезінфікуючого засобу «Контавір» суспензійним методом

№	Культури мікроорганізмів	КУО в 1 см <sup>3</sup>	Тривалість експозиції, хв.	Концентрація дезінфектанту,%	Результати досліджень
1	<i>S. aureus</i>	2×10 <sup>9</sup>	30	0,1	+
			60		-
			30	0,25	-
			60		-
			30	0,5	-
			60		-
2	<i>Salmonela Cholerasuis</i>	2×10 <sup>9</sup>	30	0,1	+
			60		-
			30	0,25	-
			60		-
			30	0,5	-
			60		-
3	<i>Streptococcus faecium</i>	2×10 <sup>9</sup>	30	0,1	+
			60		-
			30	0,25	-
			60		-
			30	0,5	-
			60		-
4	<i>Clostridium perfringens</i>	2×10 <sup>9</sup>	30	0,1	+
			60		-
			30	0,25	-
			60		-
			30	0,5	-
			60		-
5	<i>Klebsiella spp</i>	2×10 <sup>9</sup>	30	0,1	+
			60		-
			30	0,25	-
			60		-
			30	0,5	-
			60		-
6	<i>Enretobacter spp.</i>	2×10 <sup>9</sup>	30	0,1	-
			60		-
			30	0,25	-
			60		-
			30	0,5	-
			60		-

Примітка: "+" – наявність росту, "-" – відсутність росту

Аналізуючи отримані результати в таблиці 3 можна вказати, що засіб дезінфікуючий «Контавір» у концентрації 0,1 % проявляє бактерицидну активність стосовно *S. aureus* 209-P, *Salmonela Cholerasuis*, *Streptococcus faecium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella spp.*, при експозиції 60 хвилин, а із *Enretobacter spp.* при 30 хвилинах контактування. Антимікробні властивості дезінфектант проявляє в концентрації 0,25 та 0,5 % стосовно *S. aureus* 209-P, *Salmonela Cholerasuis*, *Streptococcus faecium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella spp.*, *Enretobacter spp.* при експозиції 30 хвилин.

Дослідження віруліцидної дії засобу «Контавір» суспензійним методом. Проводили визначення віруліцидної активності дезінфектанту «Контавір» відносно ДНК- містких вірусів: хвороба Ауескі; Трансмисивний гастроентерит; парогрип великої рогатої худоби; вірусна діарея великої рогатої худоби та РНК- містких вірусів: збудник хвороби Ньюкасла; Гамборо; Марека; хвороба Тешена.

Про вірусну активність дезінфектанту судили по ная-

вності або відсутності цитопатогенної дії, що викликається вірусом, або по іншим проявам, які вказують на репродукцію вірусу.

Результати віруліцидної дії дезінфектанту «Контавір» наведені в таблицях 4-5.

Аналіз отриманих результатів вказує на те, що дезінфікуючий засіб «Контавір» у концентрації 0,25 % при експозиції 30 хвилин проявляє віруліцидну дію стосовно збуднику трансмісивного гастроентериту свиней. Віруліцидні властивості дезінфектант проявляє при експозиції 60 хвилин в концентрації 0,25 % до збудників хвороби Ауескі; парогрипу-3 великої рогатої худоби та вірусної діареї великої рогатої худоби.

Також проводили дослідження віруліцидних властивостей дезінфектанту «Контавір» відносно РНК- містких вірусів: збудник хвороби Ньюкасла; Гамборо; Марека; хвороба Тешена.

Таблиця 4

## Визначення віруліцидності активності дезінфектанту «Контавір» відносно ДНК- містких вірусів

№ з/п	Збудник вірусного захворювання	Титр вірусемічної рідини в 1 см <sup>3</sup>	Біологічна модель під час дослідження	Тривалість експозиції, хв.	Концентрація, «Контавір»%	Результати дослідження
1	хвороба Ауескі	10 <sup>7</sup> Ig	культура клітин РК-15	30	0,25	Має слабкий віруліцидний ефект
				60		Має віруліцидний ефект
				30	0,5	Має віруліцидний ефект
				30		Має віруліцидний ефект
2	трансмисивний гастроентерит	10 <sup>6</sup> Ig	первинна культура клітин нирки свині	30	0,25	Має віруліцидний ефект
				30	0,5	Має віруліцидний ефект
				30	1,0	Має віруліцидний ефект
3	парагрип-3 великої рогатої худоби	10 <sup>4</sup> Ig	культура клітин Vero	30	0,25	Має слабкий віруліцидний ефект
				60		Має віруліцидний ефект
				30	0,5	Має віруліцидний ефект
				30		1,0
4	вірусна діарея великої рогатої худоби	10 <sup>5</sup> Ig	культура клітин MDBK	30	0,25	Не має віруліцидного ефекту
				60		Має слабкий віруліцидний ефект
				30	0,5	Має слабкий віруліцидний ефект
				60		Має віруліцидний ефект
				30		1,0

Таблиця 5.

## Визначення віруліцидності активності дезінфектанту «Контавір» відносно РНК- містких вірусів

№ з/п	Збудник вірусного захворювання	Титр вірусемічної рідини в 1 см <sup>3</sup>	Біологічна модель під час дослідження	Тривалість експозиції, хв.	Концентрація, «Контавір»%	Результати дослідження
1	Хвороба Тешена	10 <sup>6</sup> Ig	культура клітин РК-15	30	0,25	Має слабкий віруліцидний ефект
				60		Має віруліцидний ефект
				30	0,5	Має віруліцидний ефект
				30		1,0
2	Хвороба Ньюкасла	10 <sup>9</sup> Ig	SPF культура клітин	30	0,25	Не має віруліцидного ефекту
				60		Має слабкий віруліцидний ефект
				30	0,5	Має віруліцидний ефект
				30		1,0
3	Хвороба Гамборо	10 <sup>6</sup> Ig	SPF культура клітин	30	0,25	Не має віруліцидного ефекту
				60		Має віруліцидний ефект
				30	0,5	Має віруліцидний ефект
				30		1,0
4	Хвороба Марека	10 <sup>5</sup> Ig	Первинна культура клітин фібробластів куриних ембріонів	30	0,25	Не має віруліцидного ефекту
				60		Має слабкий віруліцидний ефект
				30	0,5	Має віруліцидний ефект
				30		1,0

За результатами проведених досліджень встановлено, що дезінфікуючий засіб «Контавір» у концентрації 0,25 % при експозиції 60 хвилин проявляє віруліцидну дію стосовно збуднику хвороби Тешена. Дезінфектант проявляє інактивуючу активність при експозиції 30 хвилин в концентрації 0,5 % відносно хвороби Ньюкасла; хвороби Гамборо та хвороби Марека.

**Обговорення.**

У разі спалаху інфекційних хвороб тварин необхідно правильно вибрати тип дезінфікуючого засобу і заходи, які використовуються при очищенні заражених ферм. Для повсякденного використання в програмах біобезпеки на рівні ферми виробники повинні враховувати основні ризики, враховувати тип поверхні для дезінфекції і умови, в яких буде використовуватися дезінфікуючий засіб. Також важливою є інформація про активність дезінфектанту при наявності органічних залишків, необхідний час контакту, про те, які мікроби надійно знищуються (Szott & Friese, 2021).

В даній роботі був протестований у лабораторних умовах дезінфікуючий засіб «Контавір» з різними штамми

мікроорганізмів (Tishyn et al., 2016). За результатами експериментів встановлено, що засіб дезінфікуючий «Контавір» у концентрації 0,1 % проявляє бактерицидну активність стосовно *S. aureus* 209-P, *Salmonella Cholerasuis*, *Streptococcus faecium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella spp.*, при експозиції 60 хвилин, а із *Enretobacter spp.* при 30 хвилинах контактування. Антимікробні властивості дезінфектанту проявляє в концентрації 0,25 та 0,5 % стосовно *S. aureus* 209-P, *Salmonella Cholerasuis*, *Streptococcus faecium*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella spp.*, *Enretobacter spp.* при експозиції 30 хвилин. Бактерицидна дія засобу «Контавір» сильніша за бактерицидну дію карболової кислоти в 131,5 рази. В присутності високомолекулярного білка бактерицидна дія засобу «Контавір» знижується в 1,61 рази.

При визначенні бактерицидної ефективності дезінфектанту (Shkromada et al., 2019) на різних поверхнях (бетон, пластик, кахель та метал) було встановлено, що дезінфектант «Контавір» проявляє бактерицидні властивості через 10 хвилин експозиції у концентрації 0,25 % на поверхні металу, пластику та кахелю. На неоднорідній поверхні

бетону дезінфектант знищує колонії *E. coli* через 60 хвилин експозиції.

Дослідження віруліцидності дії засобу «Контавір» суспензійним методом проводили відносно ДНК- та РНК-містких вірусів. Встановлено, що «Контавір» у концентрації 0,25 % при експозиції 30 хвилин проявляє віруліцидну дію стосовно більшості ДНК-містких вірусів, В концентрації 0,5 % засіб «Контавір» діє відносно РНК-містких вірусів (Tishyn et al., 2016).

За результатами проведеного експерименту можна зробити висновок, що для профілактичної та вимушеної дезінфекції при бактеріальних інфекціях сільськогосподарських тварин рекомендується використовувати 0,25 -0,5 % розчин дезінфектанту «Контавір» з розрахунку 0,15-0,25 л робочого розчину на 1 м<sup>2</sup> площі при експозиції 30 хвилин.

*Перспектива подальшого дослідження:* проведення дезінфікуючої активності засобу «Контавір» у виробничих умовах.

#### Висновки:

1. За результатами експериментів встановлено, що засіб дезінфікуючий «Контавір» у концентрації 0,1 % проявляє бактерицидну активність стосовно *S. aureus* 209-Р,

*Salmonella Cholerasuis, Streptococcus faecium, Clostridium perfringens, Klebsiella spp.*, при експозиції 60 хвилин, а із *Enretobacter spp.* при 30 хвилинах контактування. Антимікробні властивості дезінфектант проявляє в концентрації 0,25 та 0,5 % стосовно *S. aureus* 209-Р, *Salmonella Cholerasuis, Streptococcus faecium, Clostridium perfringens, Klebsiella spp., Enretobacter spp.* при експозиції 30 хвилин.

2. Бактерицидна дія засобу «Контавір» сильніша за бактерицидну дію карболової кислоти в 131,5 рази. В присутності високомолекулярного білка бактерицидна дія засобу «Контавір» знижується в 1,61 рази.

3. Встановлено, що дезінфектант «Контавір» проявляє бактерицидні властивості через 10 хвилин експозиції у концентрації 0,25 % на поверхні металу, пластику та кахелю. На неоднорідній поверхні бетону дезінфектант знищує колонії *E. coli* через 60 хвилин експозиції.

4. За результатами проведених досліджень вивчено, що дезінфікуючий засіб «Контавір» у концентрації 0,25 % при експозиції 60 хвилин проявляє віруліцидну дію стосовно збуднику хвороби Тешената; при експозиції 30 хвилин в концентрації 0,5 % відносно хвороби Ньюкасла; хвороби Гамборо та хвороби Марека.

#### References

1. Tenzin, S., Ogunniyi, A. D., Khazandi, M., Ferro, S., Bartsch, J., Crabb, S., Abraham, S., Deo, P., & Trott, D. J. (2019). Decontamination of aerosolised bacteria from a pig farm environment using a pH neutral electrochemically activated solution (Ecas4 anolyte). *PloS one*, 14(9), e0222765. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222765>
2. Fablet, C., Dorenlor, V., Eono, F., Eveno, E., Jolly, J. P., Portier, F., Bidan, F., Madec, F., & Rose, N. (2012). Noninfectious factors associated with pneumonia and pleuritis in slaughtered pigs from 143 farrow-to-finish pig farms. *Preventive veterinary medicine*, 104(3-4), 271–280. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.11.012>
3. Chang, B., Nerandzic, M. M., Kundrapu, S., Sunkesula, V. C., Deshpande, A., & Donskey, C. J. (2013). Efficacy of dilute hypochlorite solutions and an electrochemically activated saline solution containing hypochlorous acid for disinfection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a pig skin model. *Infection control and hospital epidemiology*, 34(11), 1231–1233. <https://doi.org/10.1086/673448>
4. Shkromada, O., & Nedzheria, T. (2020). Intensity of infection and means of giardiasis prevention at the farms of Ukraine. *Technology Transfer: Innovative Solutions in Medicine*, 47-50. <https://doi.org/10.21303/2585-663.2020.001448>
5. Ogunniyi, A. D., Dandie, C. E., Ferro, S., Hall, B., Drigo, B., Brunetti, G., Venter, H., Myers, B., Deo, P., Donner, E., & Lombi, E. (2019). Comparative antibacterial activities of neutral electrolyzed oxidizing water and other chlorine-based sanitizers. *Scientific reports*, 9(1), 19955. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56248-7>
6. Díaz, P., Varcasia, A., Pipia, A. P., Tamponi, C., Sanna, G., Prieto, A., Ruii, A., Spissu, P., Díez-Baños, P., Morrondo, P., & Scala, A. (2018). Molecular characterisation and risk factor analysis of *Cryptosporidium* spp. in calves from Italy. *Parasitology research*, 117(10), 3081–3090. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6000-x>
7. Chen, Z., Wang, H., Ionita, C., Luo, F., & Jiang, X. (2015). Effects of chicken litter storage time and ammonia content on thermal resistance of desiccation-adapted *Salmonella* spp. *Appl Environ Microbiol*, 81, 6883-6889. <https://doi.org/10.1128/AEM.01876-15>
8. Shkromada, O., Pali, A., Pali, A., Skliar, O., Dudchenko, Y., & Necherya, T. (2019). Improvement of milk quality for micro-climate formation on cattle farms. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, (4 (47), 43-49. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2019.4.7>
9. Dennler-Church, T. E., Butz, J. C., McKinley, J. E., Keim, E. K., Hall, M. C., Meschke, J. S., Mulligan, J. M., Williams, J. F., & Robins, L. I. (2020). Modification of Major Contributors Responsible for Latrine Malodor on Exposure to Hypochlorous Acid: The Potential for Simultaneously Impacting Odor and Infection Hazards to Encourage Latrine Use. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 103(6), 2584–2590. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0553>
10. Wohlgemuth, F., Gomes, R. L., Singleton, I., Rawson, F. J., & Avery, S. V. (2020). Top-Down Characterization of an Antimicrobial Sanitizer, Leading From Quenchers of Efficacy to Mode of Action. *Frontiers in microbiology*, 11, 575157. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575157>
11. Golovko A. & Ushkalov V. (2004), Epidemiological monitoring. *Escherichia colitis (colibacteriosis) of animals [Epizootolohichniy monitorynh Esherykhiou (kolibakteriozu) tvaryn]*, *Veterinary Medicine of Ukraine*, No. 2, pp. 6-9.
12. Methodical recommendations (2007) Determination of bactericidal properties of disinfectants, disinfection and control of its quality in tuberculosis of farm animals / zatv. sci. method. Council of the State committee vet honey. Ukraine, December 20.
13. Szott, V., & Friese, A. (2021). Emission Sources of *Campylobacter* from Agricultural Farms, Impact on Environmental Contamination and Intervention Strategies. *Current topics in microbiology and immunology*, 431, 103–125.

[https://doi.org/10.1007/978-3-030-65481-8\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-65481-8_5)

14. Tishyn, O., Khomyak, R., Kopijchuk, G., Ponomariova, S., & Danko, M. (2016). Disinfectants with virucidal activity, including african swine fever on the market of Ukraine. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. 18, 4(72), 78–85. Retrieved from <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/989>

15. Shkromada, O., Dudchenko, Y., Necherya, T., & Abubakari Kavla, I. (2019). The research of disinfective properties of kontravir for disinfection of veterinary objects. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The Series: Veterinary Medicine*, (3 (46)), 29-34. <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2019.3.4>

16. Tishyn, O.L., Velychko V.O., & Khom"yak, R.V. (2016). Dezinfikuyuchi zasoby virulitsydneyi diyi na rynku Ukrayiny. *Naukovo-tekhnichnyy byuleten' Derzhavnoho naukovo-doslidnoho kontrol'noho instytutu veterynarykh preparativ ta kormovykh dobavok i instytutu biolohiyi tvaryn*. 17(2), 356–364.

**Tetiana Nedzheria**, PhD Student, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

#### **Preclinical studies of disinfective properties of «Kontavir»**

*One of the unsolved problems for sanitation and hygiene in veterinary medicine is the emergence of resistance in microorganisms to certain groups of disinfectants that are constantly used. Therefore, there is a need to create new comprehensive disinfectants. The aim of the work was to conduct preclinical studies of the disinfectant properties of «Kontavir». The research was conducted in the educational and scientific laboratory «Veterinary Pharmacy» of Sumy National Agrarian University.*

*Bactericidal dilution and phenolic coefficient of «Kontavir» disinfectant were determined. The experiment began with the preparation of a solution of «Kontavir» disinfectant and cultures of microorganisms E. coli and S. aureus. It was found that the bactericidal action of «Kontavir» is 131,5 times stronger than the bactericidal action of Carbolic Acid. In the presence of high molecular weight protein bactericidal action of «Kontavir» is reduced by 1,61 times.*

*The effectiveness of «Kontavir» disinfectant was determined on test objects: concrete, plastic, tile and metal. Determination of the quality of the disinfection was performed after 10, 40 and 60 minutes. It has been proven that the «Kontavir» disinfectant exhibits bactericidal properties after 10 minutes of exposure at a concentration of 0,25% on the surface of metal, plastic and tile. On an inhomogeneous concrete surface, the disinfectant destroys E. coli colonies after 60 minutes of exposure.*

*The bactericidal activity of «Kontavir» disinfectant was also studied by the suspension method against enterobacteria, gram-positive cocci, gram-negative rods and bacilli. The 0,1% concentration of «Kontavir» disinfectant exhibits bactericidal activity against S. aureus 209-P, Salmonella Cholerasuis, Streptococcus faecium, Clostridium perfringens, Klebsiella spp. at 60 minutes of exposure, and as regarding Enretobacter spp. at 30 minutes of exposure. In concentrations of 0,25 and 0,5% the disinfectant exhibits antimicrobial properties against S. aureus 209-P, Salmonella Cholerasuis, Streptococcus faecium, Clostridium perfringens, Klebsiella spp., Enretobacter spp. at 30 minutes of exposure.*

*Studies of the virucidal action of «Kontavir» by suspension method were performed against DNA and RNA-containing viruses. It was found that a 0,25% concentration of «Kontavir» at 30 minutes exposure has a virucidal effect on the causative agent of transmissible gastroenteritis of pigs; at 60 minutes exposure has a virucidal effect on Aujeszky's disease; parainfluenza-3 cattle and viral diarrhea of cattle. A 0,25% concentration of «Kontavir» at 60 minutes exposure has a virucidal effect on the pathogen of Teshen's disease; a 0,5% concentration at an exposure of 30 minutes has a virucidal effect on the pathogens of Newcastle's, Gamboro's and Marek's diseases.*

**Key words:** Phenol coefficient, Protein index, bactericidal activity, test objects, virucidal activity.

Дата надходження до редакції: 20.11.2020 р.

## СИРОВАТКА КОРДОВОЇ КРОВІ ПОЄДНАНО З АКТОВЕГІНОМ ЗА КОРЕКЦІЇ ВІДТВОРНОЇ ФУНКЦІЇ КОРІВ.

**Бондаренко Ірина Вікторівна**

кандидат ветеринарних наук, доцент

Сумський національний аграрний університет (м. Суми, Україна)

ORCID: 0000-0002-1019-3446

[iryna.bondarenko@snau.edu.ua](mailto:iryna.bondarenko@snau.edu.ua)

Дослідженнями доведена роль сироватки кордової крові та препарату «Актовегін» в процесах відновлення постморбідного ендометрія за рахунок вмісту репродуктивних гормонів, цитокінів, проферментів, ферментів, рецепторів, адаптогенів, факторів росту, імунорегуляторних агентів, транспортних білків та інших мультипотентних компонентів. Вищезгаданий ефект від застосування кріоконсервованої сироватки кордової крові досягається й при тривалому її зберіганні:  $-18-20^{\circ}\text{C}$ , оскільки низька температура забезпечує збереження біологічно-активних сполук в нативному стані й фізіологічних співвідношеннях.

Досліджено дію сироватки кордової крові та препарату «Актовегін» на процес ремоделювання морфо-функціональних властивостей ендометрію за постморбідного стану за рахунок нейротрофічного впливу, модуляції та корекції процесів неоангіогенезу й інгібуванні тканин ендометрію. Результати досліджень показали, що достовірно меншою на 14,4 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з показником групи тварин де препарати не вводились, була кількість днів від корекції відтворної функції до прояву стадії збудження при застосуванні 10 мл. сироватки КК з актовегіном ( $3,86 \pm 0,36$  та  $14,38 \pm 2,1$ , відповідно). Кількість корів що отелилися після застосуванні 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (93,75%) була більшою на 53.3% порівняно з тваринами де очікувався спонтанний прояв охоти.

Таким чином, застосування сироватки кордової крові та поєднане застосування сироватки КК і препарату «Актовегін» дозволяє відновити морфологічну структуру ендометрія та відновити баланс між факторами активаторами та інгібіторами ангіогенезу, що обумовлює оптимальні умови для формування материнської частини плаценти.

**Ключові слова:** корови, сироватка кордової крові, актовегін, корекція відтворної функції.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.4.6>

### Вступ.

Корекція репродуктивної функції великої рогатої худоби лишається проблемним питанням і має великий практичний і науковий інтерес. Маючи високий генетичний потенціал, відтворна здатність корів лишається низькою. Через це знижується рівень молочної продуктивності, скорочується термін господарського використання тварин, й погіршується рентабельність галузі в цілому. Науковці стверджують, що показники відтворної здатності обумовлені переважно факторами зовнішнього середовища й мають низький рівень успадкування, тому методи корекції та стимуляції базуються на ґрунтовному вивченні фізіологічних можливостей відтворної здатності корів. (Morotti F, 2014; Berry D.P. 2014)

На показники рентабельності молочного скотарства також впливають і строки використання тварин. Тривала експлуатація позитивно впливає на продуктивність та відшкодування затрат. Фахівці впевнені, що від корови необхідно отримувати продукцію протягом п'яти-шести лактацій, оскільки максимальні середньорічні надої фіксують саме протягом цього періоду (Forde N, 2011).

Чисельні дослідження свідчать, що відсоток неплідності лишається високим через порушення утримання, годівлі, недотримання правил техніки штучного осіменіння, хвороб статевих органів. Негативний вплив абіотичних факторів на відтворну здатність посилюється відсутністю моціону та порушенням режиму експлуатації тварин. Це в свою чергу, обумовлює розвиток патології вагітності, родів, та післяродового періоду, й значно погіршує індекс осіменіння (Forde N, Beltman ME, Lonergan P, Diskin M, Roche JF, Crowe MA. 2010, Mulligan FJ, O'Grady L, Rice DA, Doherty ML. 2006.)

Біологічна особливість організму, дає змогу утримати корів в будь-яку погоду не в капітальних приміщеннях, а під навісами полеглоного типу на глибокій підстилці. Доведено

що коровам потрібно лежати по дванадцять годин щодня. Лежання необхідне для жування жуйки, поліпшення секреції молока, зняття навантаження на кінцівки й організм корови в цілому (Mulligan FJ, 2006).

Для корів маточного поголів'я застосовують прив'язну й безприв'язну системи утримання. Прив'язне утримання характеризується тим, що корови відпочивають і харчуються у стійлах на прив'язі. Кожна тварина має індивідуальну годівницю й напувалку. Доять корів також у стійлах на прив'язі, або в доїльних залах. За прив'язного утримання є можливість ретельно нормувати годівлю, роздоювати корів, спостерігати за проявом охоти та станом здоров'я, доглядати конкретну тварину з урахуванням індивідуальних особливостей (Diskin MG, 2012).

До недоліків можна віднести (порівняно з безприв'язним) більші затрати праці на роздавання кормів, доїння, видалення гною та на надання моціону. При недосконалії вентиляції та каналізації, прив'язне утримання зумовлює підвищену вологість повітря, надлишок вуглекислоти та аміаку. Також технологія прив'язного утримання не відповідає природнім потребам корів щодо руху та спілкування з іншими тваринами в стаді. Недоотримують тварини й інсоляцію, необхідну для утворення в організмі вітаміну D. Все це може негативно впливати на показники запліднюваності. (Diskin MG, 2012).

Вищевказане, в комплексі з посиленням проявом лактаційної домінанти, обумовлює тривале безпліддя, оскільки відтворна здатність та молочна продуктивність кореляційно залежні (Opsomer G, 2000; Diskin MG, 2012).

Науковці наголошують, що подовження сервіс-періоду (оптимальний показник - 60 діб), негативно впливає на відтворення поголів'я, оскільки збільшує відсоток яловості. У високопродуктивних тварин з надоєм 6000 і більше кг

молока за лактацію, вагітність настає лише після 3-4 безрезультатних осіменів (Opsomer G, 2000; Leroy JLMR, 2008).

Окрім того, тривалий сервіс-період негативно впливає на кількісні та якісні показники молока. Наслідками збільшення сервіс-періоду (більше 40 діб), є зниження масової долі жиру та зменшення кількості молока за лактацію (LeBlanc S. 2010). Тривалий сервіс-період зумовлює подовження міжотельного, та провокує самозапук корів за 3-4 місяці до отелення (LeBlanc S. 2010; Garnsworhty PC, 2008).

Фізіологічні зміни структурних компонентів ендометрія протягом стадії збудження, є необхідною складовою запліднення, тоді як постморбідні патоморфологічні зміни, що виникають при розладах трофічних та метаболічних функцій ендометрія, унеможливають фізіологічний перебіг вагітності, через порушення структурної перебудови та неповноцінність секреторної трансформації складових компонентів СОМК (Diskin MG, 2012). Науковці стверджують, що сироватка КК є ефективним засобом для стимуляції й регуляції процесів проліферації, диференціювання та дозрівання епітеліальних клітин, нормалізації імунологічних реакцій організму. Окрім того сироватка КК стимулює репарацію, володіє протизапальною антиоксидантною, адаптогенною, антигіпоксичною, анаболічною та бактеріостатичною дією, пов'язаною з таким антибактеріальним фактором як IgG, лізоцимита комплемент (LeBlanc S. 2010). Сироватка кордової крові містить специфічні плацентарні білки, гормони, фактори росту, цитокіни, гемопоетичні фактори, інтерлейкіни, імунomodulatory опіодних пептидів та ферментів. Дослідники стверджують, що СКК прискорює згасання запального процесу та регенерацію слизової оболонки й повністю відновлює її морфо-функціональні властивості, на що вказує нормалізація активності лужної фосфатази периферійної крові (Garnsworhty PC, 2008). Проте дані, щодо використання препаратів кордової крові з метою стимуляції та корекції відтворної функції корів, відсутні. Тому пошук та апробація сучасних методів корекції та стимуляції відтворної функції є насущним питанням. Застосування «Актовегіну» та (СКК), повинно, на нашу думку, відновити фізіологічні процеси структурно-морфологічної перебудови постморбідного ендометрію.

Отже, безперечно актуальним завданням є дослідження і застосування сироватки КК порівняно та поєднано з актовегіном з вищевказаною метою.

#### **Аналіз основних досліджень і публікацій.**

Під час стадії збудження, структурно-морфологічна перебудова ендометрію чітко регулюється зовнішніми та внутрішніми сигналами-подразниками центральної нервової системи, саме тому тривалість сервіс-періоду підконтрольна утриманню, годівлі, молочній продуктивності, й стимулюючому впливу засобам органічного походження, до яких належить препарат «Актовегін» та сироватка кордової крові (Krohn CC, 1992; Garnsworhty PC, 2008).

Упродовж останніх років увага науковців прикута до сироватки кордової крові (СКК), оскільки вона належить до засобів органічного походження, легко і безпечно отримується, доступна для негайного використання навіть в криоконсервованому стані, має порівняно низьку вірогідність розвитку гострої або хронічної реакції «трансплантат проти хазяїна». Доведена ефективність сироватки КК при комплексному лікуванні тварин з хронічним ендометритом, в результаті якої відбувається реабілітація структурно-

функціонального стану слизової оболонки матки (Hernandez-Mendo O, 2007).

СКК та «Актовегін» володіють біостимулюючою дією, оскільки містять мікроелементи та біологічно активні компоненти, що впливають на каталітичний центр усіх відомих нейропептидів, які необхідні для синтезу клітинних пептидів. Під впливом «Актовегіну» клітини різного походження збільшують споживання глюкози та пришвидшують утилізацію кисню, що активує внутрішньоклітинні енергетичні процеси необхідні під час структурно-морфологічної перебудови постморбідного ендометрію. Також «Актовегін» впливає на відновлення капілярної сітки пошкодженої тканини, активує еритропоез та транспортну функцію еритроцитів (Andersson M, 1984).

Кордовою (плацентарною, пуповинною, фетальною) називають кров, яка лишається в судинах плаценти та пуповини відразу після виведення новонародженого з материнського організму. Фактично КК це складова частина крові плода. Лікарі іменують пуповинну кров рідким золотом, вчені – найбільшою історією успіху в сфері клітинних технологій (Willms WD, 2002).

КК – створює внутрішнє середовище плода що активно розвивається, забезпечуючи транспорт біологічно активних речовин плаценти та фетальних тканин, котрі в свою чергу обумовлюють ріст та диференціювання клітин зародка й регуляцію метаболізму. Завдяки можливості реалізовувати в організмі реципієнта всі притаманні їм властивості (проліферація та диференціювання), клітини КК використовують як тимчасовий і довготривалий (в залежності від ступеню сумісності) трансплантат. Мета використання тимчасових трансплантатів - корекція процесів гемопоезу та імунопоезу, стимуляція факторів неспецифічного імунітету, активація роботи органів і систем які забезпечують постійність гомеостазу. КК містить  $\alpha$ -фетопротин,  $\alpha 2$ -мікроглобулін фертильності, трофобластичний  $\beta 1$ -глікопротеїн, асоційований з вагітністю  $\alpha 2$ -глікопротеїн, уромодулін, хоріонічний гонадотропін, плацентарний лактоген, прогестерон та ін. (Willms WD, 2002; Andersson M, 1984).

Науковці стверджують, що КК має підвищений рівень речовин які беруть участь в роботі антиоксидантної системи: каротиноїдів, аскорбінової кислоти, токоферолів та ін. Саме це обумовлює підвищення резистентності плазми КК до  $\text{Cu}^{2+}$  та індукованого перекисного окислення ліпідів. КК містить підвищений склад мікроелементів, які беруть участь в різноманітних процесах клітинного метаболізму: калію, кальцію, магнію, фосфору, заліза.

Кількість нікелю, хлору, цинку в КК майже не відрізняється від кількості цих елементів в крові дорослого організму. Серед низькомолекулярних речовин були виявлені глюкоза, лактат, креатин, підвищений рівень бетаїну (Willms WD, 2002).

До теперішнього часу в науковій та клінічній практиці є достатньо інформації щодо впливу КК як на окремі органи, системи та клітинні культури, так і на організм в цілому. Розроблена велика кількість біогенних стимуляторів на основі КК, оскільки пуповинна кров має в своєму складі збалансований комплекс біологічно активних речовин, які беруть участь в індукції, репресії, зворотній інгібіції різних ферментів органів і тканин реципієнта, завдяки чому можливий вплив на метаболізм не тільки хворого організму, а й на організм без вираженої патології (Irina Bondarenko, Andrei



Lazorenko, ,2019).

Також КК різняться з кров'ю дорослого організму за реологічними та імунологічними характеристиками, показниками коагуляції, та переносу кисню, що дозволяє використовувати фетальні еритроцити за тяжких форм геморагічного шоку, який супроводжується вторинною тканинною гіпоксією (Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, ,2019 Burow E, 2011).

Еритроцити КК мають підвищені транспортні та імунні властивості й містять велику кількість фетального гемоглобіну збагаченого киснем. Саме через це, еритроцити КК спроможні довготривалий час функціонувати в кров'яному руслі після трансфузії (Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, ,2019; Keil NM, 2006).

Лімфоцити КК володіють специфічною імунореактивністю, бо на поверхні третини останніх, так званих «нульових лімфоцитів», відсутні маркери до будь-яких імунокомпетентних клітин, решта не мають рецепторів до інтерлейкіну-2 (Ostojić-Andrić D, 2011; Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, ,2019).

КК збагачена незрілими стовбуровими клітинами – попередниками, які не сприймаються донором як чужорідні й не потребують індивідуального підбору, порівняно із реакцією організму під час переливання крові (Keil NM, 2006; Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, ,2019).

Сироватка КК – унікальне біологічне середовище, що містить проферменти, ферменти, рецептори, адаптогени, фактори росту, імунорегуляторні агенти, транспортні білки та ін. Цитокини сироватки КК (інтерлейкіни, інтерферони, колоніюстимулюючий фактор, фактор некрозу пухлин, трансформуючий фактор росту), приймають участь в процесах імуноендокринної взаємодії матері і плода.

Сироватка КК містить і репродуктивні гормони: хоріонічний гонадотропін, плацентарний лактоген, пролактин, хоріонічний тіреотропний та адренкортикотропний гормони,  $\alpha$ -меланоцитостимулюючий гормон, та структурні аналоги нейропептидів головного мозку (ендорфіни та енкефаліни) (Oikonomopoulos A, 2015; Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, ,2019).

Науковці стверджують що концентрація вищевказаних гормонів сироватки КК значно більша за показники крові невагітного дорослого організму, оскільки забезпечує гнучку регуляцію життєво важливих процесів під час перинатального періоду. Вищевказане частково пояснює терапевтичний ефект від застосування препаратів на основі плацентарної крові, в тому числі кріоконсервованої сироватки КК, оскільки низька температура дозволяє зберегти біологічно-активні сполуки в нативному стані та фізіологічних співвідношеннях (Ostojić-Andrić D, 2011).

При вивченні процесів заморожування та зберігання сироватки КК, науковці з'ясували, що за низькотемпературного ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) консервування кількісні показники вмісту гормонів білкового походження незначно знижуються порівняно з базовими. Також досліджено віддалений вплив препаратів виготовлених з кріоконсервованої сироватки КК і на організм в цілому, й на ембріотичну та тератогенну дію. Встановлено, що вищевказані препарати не мають негативного впливу на відтворну функцію та перебіг вагітності, проте знижують перед - та постімплантаційну загальну ембріональну смертність.

На теперішній час науковці володіють позитивним досвідом застосування кріоконсервованої сироватки КК за

лікування хронічних запальних процесів (сальпінгітів, оофоритів, ендометритів, панкреатитів та ін.). Доведено стійкий анальгезуючий та протизапальний ефект, відновлення функцій імунної та ендокринної систем, покращення показників клітинного та гуморального імунітету. Застосування сироватки КК позитивно впливає на процеси репарації, знижує ризик виникнення ускладнень, обумовлених дією антибіотиків та цитостатиків, скорочує терміни лікування (Oikonomopoulos A, 2015; Ostojić-Andrić D, 2011).

Плазма КК також унікальна, оскільки збагачена великою кількістю вітамінів, мікроелементів, різноманітних білків, гормонів, нейропептидів та інших низькомолекулярних з'єднань, відсутніх в крові дорослого організму (Ostojić-Andrić D, 2011; Keil NM, 2006;).

Унікальним є й те, що плазма КК містить більш ніж 60 специфічних плацентарних білків, які виконують роль ферментів, гормонів, адаптогенів, рецепторів, факторів росту, імунорегуляторних агентів, і насичена великою кількістю пептидів - структурних аналогів нейропептидів головного мозку та опіїдних пептидів (ендорфінів та енкефалінів) (Stoltz JF, 2015).

Найпоширенішим, на даний час, є можливість використовувати КК як альтернативного джерела гемопоетичних стовбурових клітин-попередників, адже, не зважаючи на підвищений вміст багатьох біо-та імуностимуляторів, останні знаходяться в збалансованій концентрації й являють собою біологічно-активний комплекс, необхідний для розвитку організму та нормалізації обміну речовин в разі введення його в організм дорослої тварини. Внаслідок вищевказаних властивостей клітинного складу, КК та виготовлені з неї препарати все частіше застосовуються в клінічній практиці, причому використовується як цільна КК так і її складові (Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, ,2019; Stoltz JF, 2015).

Під час вибору джерела отримання стовбурових клітин, перевагу віддають саме КК, оскільки в цьому випадку відсутні будь-які морально-етичні проблеми її отримання. Привертає увагу й легкість процедури виділення мононуклеарів, та той факт, що вміст стовбурових та ранніх клітин-попередників не відрізняється від кількості останніх в кістковому мозку, тоді як проліферативний потенціал перевищує його. Стовбурові клітини застосовують у лікуванні близько сотні різноманітних захворювань, зокрема раку різної локалізації, генетично зумовлених хвороб, лейкозу, імунодефіцитів, серцево-судинних захворювань, інсульту, ішемії кінцівок, розсіяного склерозу, цукрового діабету, цирозу печінки, панкреонекрозу, м'язової дистрофії, вад зору, а також хронічних і аутоімунних захворювань. У пуповинній крові виявлені мезенхімальні стовбурові клітини, з яких будуються кістки, хрящі, зуби та особливий вид так званих плюрипотентних стовбурових клітин, яких немає більше в жодній тканині організму й які можна використовувати в тканинній інженерії для створення нових органів на зміну хворим. В останні роки з пуповинної крові виділяють ще й гемангіобласти (AC133+), які застосовують у тканинній інженерії клапанів серця та імплантів судин (Stoltz JF, 2015).

КК має унікальний субпопуляційний склад лімфоїдних клітин: реєструється кількісне переважавання неактивованих, незрілих та клітин-супресорів, що унеможлиблює виникнення стану - трансплантат проти господаря, навіть у випадку використання стовбурових клітин пуповинної крові з неповною HLA- сумісністю. КК широко застосовують при

лікуванні різних видів анемії. Доведено, що застосування стовбурових клітин КК не обмежується відновленням системи кровотворення, реакція організму непередбачувана: можливе усунення патології нервових клітин, відновлення паренхіми печінки та клітин підшлункової залози, нормалізація гомеостазу та ін. Мезенхімальні стовбурові клітини за умов культивування особливим способом, трансформуються в фібробласти, клітини кісткової, жирової та фібрознаї тканини. До переваг при застосуванні КК можна віднести зниження ризику передачі деяких латентних інфекцій, відсутність посттранфузійних реакцій та необмеженість довготривалого зберігання в замороженому стані (Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, ,2019; Oikonomopoulos A, 2015).

Науковці довели, що застосування сироватки КК за гінекологічних розладів відновлює гормональну рівновагу статевої системи, й на відміну від замісної гормональної терапії, не викликає пригнічення яєчникового стероїдогенезу.

Окрім сироватки КК, на нашу думку, заслуговує увагу лікарський засіб органічного походження препарат «Актовегін», розроблений австрійською фірмою «Nucomed». Молекулярна маса його компонентів не перевищує 5 кДа. Препарат «Актовегін» - є депротейнізованим гемодериватом крові телят, що містить лише фізіологічні речовини з молекулярною масою <5000 Да, такі як низькомолекулярні пептиди, амінокислоти, нуклеозиди, антиоксиданти, мікроелементи, аніони та катіони. «Актовегін» реалізує наступні ефекти: метаболічний, нейропротекторний та мікроциркуляторний шляхом стимуляції процесу утилізації та транспорту глюкози; процесу захвату та утилізації кисню. Депротейнізований гемодериват крові телят активує утворення аденозиндіфосфату, аденозінтрифосфату, креатинфосфату, амінокислот (включаючи глутамат, аспартат, гамма-аміномасляну кислоту). Також «Актовегін» підвищує клітинний енергетичний метаболізм, енергетичний обмін, стимулює та прискорює процеси загоєння (Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, ,2019; Swamynathan P, 2014).

Як свідчать науковці, (Swamynathan P, 2014) «Актовегін» сприяє нормалізації кровообігу статевих органів, що забезпечує активний ріст ендометрія протягом стадії збудження. Доведено регенеративну дію препарату на слизову оболонку матки при лікуванні ендометриту.

**Мета досліджень.** Задачею наших досліджень було визначити й проаналізувати вплив сироватки кордової крові та «Актовегіну» на відтворну функцію маточного поголів'я корів в порівняльному аспекті.

#### **Матеріал і методика дослідження.**

Дослідження проводились в наступних господарствах: ВАТ ПЗ «Михайлівка» Лебединського району Сумської області (корови швіцької породи); СФГ «Віталія» Буринського району Сумської області (корови симентальської породи). Утримання корів маточного поголів'я прив'язне; продуктивність <6000кг.

Предмет дослідження – етіологічні фактори, стан нейроендокринної регуляції відтворної функції корів.

Об'єкт досліджень – стан репродуктивної функції корів маточного поголів'я.

Клінічно здорових корів віком 3-10 років, що перехворіли на ендометрит або затримку посліду і знаходились в стані анафродизії, було поділено на групи по 16 голів в

кожній.

Діагноз встановлювали на підставі загально - клінічних досліджень та акушерсько - гінекологічної диспансеризації.

З метою корекції та стимуляції прояву стадії збудження ми застосовували сироватку кордової крові. Для отримання останньої, під час послідової стадії родів у корів, після виведення плода відбирали кров з вени пупкового канатика за допомогою одноразових шприців великого об'єму. Перед цим накладали гемостатичний пінцет на відстані 3-5 см від пупка теляти. У випадку розриву пупкового канатика на останній накладали гемостатичний пінцет на 2-3 сантиметри вище від місця розриву, після чого проводили його пункцію вени пупкового канатика. Після відстоювання утворену сироватку центрифугували та розливали по 5 мл у стерильні пластикові пробірки і піддавали криоконсервації у морозильній камері при 18-20°C, яку зберігали до 3-4 тижнів.

З метою порівняння дії сироватки КК за стимуляції відтворної функції корів, ми також застосовували препарат «Актовегін» - високоочищений гемодіалізат, отриманий методом ультрафільтрації з крові молочних телят. Дія «Актовегіну» спрямована на коректування біоенергетичних розладів, пригнічення запально-клітинних інфільтратів, відновлення мікроциркуляції в тканинах слизової оболонки матки.

Основною фармакологічною властивістю даного препарату є покращення транспорту глюкози та поглинання кисню в тканинах, що обумовлює активацію процесів аеробного окислення, який в свою чергу збільшує енергетичний потенціал клітини.

Тваринам першої дослідної групи вводили сироватку КК підшкірно, одноразово в ділянці шиї, у дозі 10 мл.

Коровам другої дослідної групи застосовували комплексне введення сироватки КК підшкірно, одноразово в ділянці шиї, у дозі 10 мл та актовегін у дозі 10мл (400 мг) внутрішньом'язово, одноразово в ділянці шиї.

Тваринам третьої дослідної групи вводили сироватку КК підшкірно, одноразово в ділянці шиї, у дозі 15мл.

Тваринам контрольної групи препарати не вводились.

Ефективність корекції та стимуляції визначали за морфофункціональним станом геніталій корів перед осіменінням, за часом прояву стадії збудження, настанням вагітності, та визначенням індексу осіменіння.

Індекс осіменіння (кількість осіменінь використаних для запліднення), вираховували за формулою,  $I_o = K_o : K_p$ ; де  $I_o$  - індекс осіменіння;  $K_o$  - кількість осіменінь, використаних для запліднення дослідної групи корів;  $K_p$  - кількість корів дослідної групи що завагітніли.

Методи дослідження - клінічні, біостатистичні. Отриманий цифровий матеріал оброблено методами варіаційної статистики із використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень можуть бути запропоновані як спосіб відновлення та корекції відтворної функції маточного поголів'я корів в господарствах з різною формою власності та за умов різного способу утримання тварин.

**Результати досліджень.** Отримані дані наведені в таблиці та продовженні таблиці 1.

**Вплив сироватки КК та актовегіну на відтворну функцію корів  
в порівняльному аспекті за прив'язного утримання**

Методика обробки у групах	Кількість днів від корекції відтворної функції до прояву стадії збудження	Проявили статевий цикл удруге після осіменіння, %	Отелилося (після двох осіменінь), %	Індекс осіменіння
10 мл сироватки КК п/ш, n=16	5,63±0,36	5/31.25	11/68.75	1,5
15 мл. сироватки КК п/ш, n=16	4,88±0,27	3/18.75	14/87.5	1,4
10 млси-ки КК п/ш, по-єднано з актовегіном 10мл (400 мг) в/м, n=16	3,86±0,36	1/6.25	15/93.75	1,2
препарати не вводились n=16	14,38±2,1	10/62.5	7/43.75	4,3
Біометричний аналіз впливу сироватки кордової крові та актовегіну на відтворну функцію корів в порівняльному аспекті				
P1<	P2<	P3<	P4<	P5<
н. д.	0,003	0,001	0,03	0,001

*Примітка:*

*P1 – 10 мл с-ки КК п/ш порівняно із 15 мл. с-ки КК п/ш;*

*P2 – 10 мл с-ки КК п/ш порівняно із 10 мл с-ки КК п/ш, з актовегіном 10мл (400 мг) в/м;*

*P3 – 10 мл с-ки КК п/ш порівняно із препарати не вводились;*

*P4 – 15 мл с-ки КК п/ш порівняно із 10 млс-ки КК п/ш, з актовегіном 10мл (400 мг) в/м;*

*P5 – 15 мл с-ки КК п/ш порівняно із препарати не вводились;*

*P6 – 10 мл с-ки КК п/ш, з актовегіном 10мл (400 мг) в/м порівняно із препарати не вводились.*

Отримані дані, що наведені в таблиці 1, свідчать: кількість днів від корекції відтворної функції до прояву стадії збудження при введенні 10 мл. с-ки КК п/ш істотно менша, майже на 14,37% ( $p < 0,003$ ) порівняно з показником групи тварин де препарати не вводились (5,63±0,36 та 14,38±2,1 відповідно). Однак кількість днів від корекції відтворної функції до прояву стадії збудження при застосуванні 10 мл сироватки КК п/ш вірогідно більша на 5,62% ( $P < 0,03$ ) порівняно із відповідним показником при застосуванні 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м.

Кількість днів від корекції відтворної функції до прояву стадії збудження при застосуванні 15 мл сироватки КК п/ш, вірогідно менша на 14,37% ( $P < 0,01$ ) відносно показника групи тварин де препарати не вводились.

Вірогідно менша на 4,87 % ( $P < 0,03$ ) кількість днів від корекції відтворної функції до прояву стадії збудження при застосуванні 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м порівняно із відповідним показником при застосуванні 15 мл. сироватки КК п/ш.

Істотно меншою майже на 14,37 % ( $p < 0,001$ ) відносно показника групи де препарати не вводились, була кількість днів від корекції відтворної функції до прояву стадії збудження при застосуванні 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (3,86±0,36 та 14,38±2,1 відповідно).

На нашу думку це пояснюється тим, що сироватка кордової крові містить специфічні білки, ферменти, проферменти, гормони, фактори росту, цитокіни, інтерлейкіни, опіодні пептиди, та інші речовини, що коректують та стимулюють відновлювальні процеси в тканинах. (Swamynathan P, 2014). До основних механізмів дії СКК належить відновлення гіпоталамо- гіпофізарно- яєчникових зв'язків, вплив на формування цитокинового профілю організму, що обумовлює корекцію й модуляцію неоангіогенезу та викликає інгібіцію патологічних процесів ендометрія (Díez JM., 2015).

Препарат «Актовегін», напевно, підсилює вплив СКК на організм, завдяки активації обміну речовин на клітинному рівні за рахунок прискорення транспорту та утилізації кисню в клітинах, а також покращуючи анаеробний метаболізм. Дана дія препарату особливо важлива під час відновлювальних процесів ендометрія. (Díez JM., 2015; Swamynathan P, 2014).

Також ми проаналізували показник повторного прояву стадії збудження після осіменіння. За прив'язного утримання результати були наступними: 31,25% проявили статевий цикл удруге після осіменіння при введенні 10 мл сироватки КК п/ш, що на 39% більше за показник групи де застосовували 15 мл сироватки КК п/ш (18.75%), та на 81% більше за показник групи де застосовували 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (6,25%), однак, цей же показник був на 51% меншим за показник групи де препарати не вводились (62,5%). 18,75% корів проявили статевий цикл удруге після осіменіння при введенні 15 мл сироватки КК п/ш, що на 39% більше за показник групи де застосовували 10 мл сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (6,25%), однак, цей же показник був на 70% меншим за показник групи де препарати не вводились (62,5%).

Істотно меншим, майже на 90% порівняно з показником групи тварин де препарати не вводились, був показник повторного прояву стадії збудження після осіменіння при застосуванні 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (6,25%). Кількість дослідних корів що отелилися після двох осіменінь була наступною: 68,75% при введенні 10 мл сироватки КК п/ш, що на 27,3% менше за показник групи де застосовували 15 мл сироватки КК п/ш (87,5%), та на 36,4% менше за показник групи де застосовували 10мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (93,75%), однак, цей же показник був на 57,14% більшим за показник групи де препарати не вводились (43,75%). 87,5% корів отелилися після двох осіменінь при введенні 15 мл сироватки КК п/ш, що на 7,14% менше за показник групи де застосовували 10мл сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (93,75 %), тоді як цей же показник був на 50% більшим за кількість корів де препарати не вводились (43,75%). Істотно більшим, майже на 53.3% порівняно з показником групи тварин де препарати не вводились, була кількість отелившихся корів при застосуванні 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (93,75%).

Проаналізувавши індекс осіменіння дослідних корів, ми з'ясували що: за прив'язного утримання при введенні 10 мл сироватки КК п/ш він дорівнював 1,5; це на 6,7% більше за показник групи де застосовували 15 мл сироватки КК п/ш (1,4), та на 20% більше за показник групи де застосовували 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м

(1,2), однак, цей же показник був на 65,1% меншим за показник групи де препарати не вводились (4,3). У дослідних корів при введенні 15 мл сироватки КК п/ш індекс осіменіння дорівнював 1,4, це на 14,28% більше за показник групи де застосовували 10 мл сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (1,2), однак, цей же показник був на 67,44% меншим за показник групи де препарати не вводились (4,3). Істотно меншим, майже на 72,1% порівняно з показником групи тварин де препарати не вводились, був індекс осіменіння у корів яким застосовували 10 мл. сироватки КК п/ш з актовегіном 10мл (400 мг) в/м (1,2).

Отримані нами показники відтворної функції дослідних тварин дозволяють пропонувати застосування СКК, та поєднане застосування СКК і препарату «Актовегін» з метою ремодуляції морфо-функціональних властивостей ендомет-

рію за постморбідного стану (Díez JM., 2015; Castrén E, 2015).

#### Перспективи досліджень з даного напрямку.

Перспективою подальших досліджень є опрацювання обраних методів корекції відтворної здатності корів.

#### Висновки.

1. Кількість днів від корекції до прояву стадії збудження, була достовірно меншою на 14,37% ( $p < 0,001$ ) при поєднаному застосуванні сироватки КК та препарату «Актовегін», порівняно з аналогічним показником де препарати не вводились ( $3,86 \pm 0,36$  та  $14,38 \pm 2,1$  відповідно).

2. Індекс осіменіння в групі корів де препарати не вводились, був достовірно більшим, на 72,1% ( $p < 0,001$ ) відносно групи, де застосували сироватку КК поєднано з препаратом «Актовегін» (1,2 та 4,3 відповідно).

#### References

1. Berry, DP, Wall, E, Pryce, JE. (2014). Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal*, 8(s1):105–121. doi: 10.1017/S1751731114000743.
2. Morotti, F, Sanches, BV PJHF, Basso, AC, Siqueira, ER, Lisboa, LA, Seneda, MM. (2014). Pregnancy rate and birth rate of calves from a large-scale IVF program using reverse-sorted semen in *Bos indicus*, *Bos indicus-taurus*, and *Bos taurus* cattle. *Theriogenology*, 81:696–701. doi: 10.1016/j.theriogenology.2013.12.002.
3. Forde, N, Beltman, ME, Lonergan, P, Diskin, M, Roche, JF, Crowe, MA. (2011). Oestrous cycles in *Bos Taurus* cattle. *Anim Reprod Sci.*, 124, 163–169. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.025.
4. Mulligan, FJ, O'Grady, L, Rice, DA, Doherty, ML. (2006). A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Anim Reprod Sci.*, 96, 331–353. doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.08.011.
5. Diskin, MG, Parr, MH, Morris, DG. (2012). Embryo death in cattle: an update. *Reprod Fert Develop.*, 24, 244–251. doi: 10.1071/RD11914.
6. Opsomer, G, Gröhn, YT, Hertl, J, Deluycker, H, Coryn, M, de Kruif, A. (2000). Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*, 53, 841–857. doi: 10.1016/S0093-691X(00)00234-X.
7. Leroy, JLMR, Opsomer, G, Van Soom, A, Goovaerts, IGF, Bols, PEJ. (2008). The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high yielding dairy cows. Part I – the importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reprod Domest Anim.*, 43, 612–622. doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.00960.x.
8. LeBlanc, S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J. Reprod Dev.*, 56, 29–35. doi: 10.1262/jrd.1056S29.
9. Garnsworthy, PC, Sinclair, KD, Webb, R. (2008). Integration of physiological mechanisms that influence fertility in dairy cows. *Animal*, 2, 1144–1152. doi: 10.1017/S1751731108002358.
10. Krohn, CC, Munksgaard, L, Jonassen, B. (1992). Behavior of dairy cows kept in intensive (loose housing pasture) or intensive (tie stall) environments. 1. Experimental procedure, facilities, time budgets - Diurnal and seasonal conditions. *Appl Anim Behav Sci.*, 34, 37–47. doi: 10.1016/S0168-1591(05)80055-3.
11. Hernandez-Mendo O, Von Keyserlingk MAG, Veira DM, Weary DM. (2007). Effects of pasture on lameness in dairy cows. *J Dairy Sci.*, 90, 1209–1214. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(07)71608-9.
13. Willms, WD, Kenzie, OR, McAllister, TA, Colwell, D, Veira, D, Wilmshurst JF, Entz T, Olson ME. (2002). Effects of water quality on cattle performance. *J Range Manage*, 2, 5:452–460. doi: 10.2307/4003222.
14. Irina Bondarenko, Andrei Lazorenko, Apollinariy Krajewsky (2019). Structural And Morphological Changes Of Endometrium Related To Ovary Cycle And Condition Of Genital Function Of Cows. *Visnyk Sumskoho NAU [Bulletin of Sumy NAU]*, 3 (46), 9-22.
15. Burow, E, Thomsen, PT, Sørensen, JT, Rousing, T. (2011). The effect of grazing on cow mortality in Danish dairy herds. *Prev Vet Med.*, 100, 237–241. doi: 10.1016/j.prevetmed.2011.04.001.
16. Keil, NM, Wiederkehr, TU, Friedli, K, Wechsler, B. (2006). Effects of frequency and duration of outdoor exercise on the prevalence of hock lesions in tied Swiss dairy cows. *Prev Vet Med.*, 74, 142–153. doi: 10.1016/j.prevetmed.2005.11.005.
17. Ostojčić-Andrić, D, Hristov, S, Novaković, Z, Pantelić, V, Petrović, MM, Zlatanović, Z, Nikšić, D. (2011). Dairy cows welfare quality in loose vs tie housing system. *Biotechnol Anim Husband.*, 27, 975–984. doi: 10.2298/BAH1103975O.
18. Oikonomopoulos, A, van Deen, WK, Manansala, AR, Lacey, PN, Tomakili, TA, Ziman, A, Hommes, DW. (2015). Optimization of human mesenchymal stem cell manufacturing: the effects of animal/xeno-free media. *Sci. Rep.* 5. doi: 10.1038/srep16570.
19. Stoltz, JF, de Isla, N, Li YP, Bensoussan, D, Zhang, L, Huselstein, C, Chen, Y, Decot, V, Magdalou, J, Li N, Reppel, L, He Y. (2015). Stem cells and regenerative medicine: myth or reality of the 21st century. *Stem Cells Int.* ID 734731. doi: 10.1155/2015/734731.

20. Swamynathan, P, Venugopal, P, Kannan, S, Thej, C, Kolkundar, U, Bhagwat, S, Ta M, Majumdar, AS, Balasubramanian, S. (2014). Are serum-free and xeno-free culture conditions ideal for large scale clinical grade expansion of Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells? A comparative study. *Stem Cell Res. Ther.*, 5(4), 88. doi: 10.1186/s13287-015-0016-2.
21. Díez, JM, Bauman, E, Gajardo, R, Jorquera, JI. (2015). Culture of human mesenchymal stem cells using a candidate pharmaceutical grade xeno-free cell culture supplement derived from industrial human plasma pools. *Stem Cell Res. Ther.*, 6. 28: doi: 10.1186/s13287-015-0016-2.
22. Castrén, E, Sillat, T, Oja, S, Noro, A, Laitinen, A, Kontinen, YT, Lehenkari, P, Hukkanen, M, Korhonen, M. (2015). Osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells in two-dimensional and three-dimensional cultures without animal serum. *Stem Cell Res. Ther.*, 6, 167. doi: 10.1186/s13287-015-0162-6.

*Irina Bondarenko, PhD, Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)*

**Cord blood serum combined with Actovegin by correction of the reproductive function of cows**

*Studies have proven the role of cord blood serum and Actovegin in the recovery of postmorbid endometrium due to the content of reproductive hormones, cytokines, proenzymes, enzymes, receptors, adaptogens, growth factors, immunoregulatory agents, transport proteins and other multipotent. The above-mentioned effect from the use of cryopreserved cord blood serum is achieved during its long-term storage: -18-20°C, as low temperature ensures the preservation of biologically active compounds in the native state and physiological ratios. The effect of cord blood serum and Actovegin on the process of remodulation of morpho-functional properties of the endometrium in the postmorbid state due to neurotrophic effects, modulation and correction of neoangiogenesis and inhibition of endometrial tissues was studied. Correction of the reproductive function of cattle will remain a problem and is of great practical and scientific interest. With high genetic potential, the reproductive capacity of cows will remain low. As a result, the level of dairy productivity decreases, the term of economic use of animals is reduced, and the profitability of the industry as a whole deteriorates. Scientists claim that reproductive performance is mainly due to environmental factors and has a low level of inheritance, so the methods of correction and stimulation are based on a thorough study of the physiological capabilities of the reproductive capacity of cows. For breeding cows, tethered and untied restraint systems are used. Leaning is characterized by the fact that cows rest and feed in stalls on a leash. Each animal has an individual feeder and drinker. Cows are also milked in stalls on a leash or in milking parlors. With tethered keeping, it is possible to carefully regulate feeding, milk cows, observe the manifestation of hunting and health, care for a particular animal, taking into account individual characteristics.*

*CCM and Actovegin have a biostimulating effect because they contain trace elements and biologically active components that affect the catalytic center of all known neuropeptides that are necessary for the synthesis of cellular peptides. Under the influence of Actovegin, cells of different origins increase glucose consumption and accelerate the utilization of oxygen, which activates the intracellular energy processes required during the structural and morphological rearrangement of the postmorbid endometrium. Also "Actovegin" affects the recovery of the capillary network of damaged tissue, activates erythropoiesis and erythrocyte transport function. It is proved that the use of CC stem cells is not limited to the restoration of the hematopoietic system, the body's response is unpredictable: it is possible to eliminate the pathology of nerve cells, restore the liver parenchyma and pancreatic cells, normalize homeostasis and others. Mesenchymal stem cells under the conditions of cultivation in a special way, are transformed into fibroblasts, cells of bone, adipose and fibrous tissue. The advantages of using QC include a reduced risk of transmission of some latent infections, no post-transfusion reactions and unlimited long-term storage in the frozen state. The results showed that the number of days from the correction of reproductive function to the manifestation of the stage of excitation at 10 ml was significantly lower by 14.4% ( $p < 0.001$ ) compared to the group of animals where the drugs were not administered. serum QC with actovegin ( $3.86 \pm 0.36$  and  $14.38 \pm 2.1$ , respectively). The number of calving cows after application of 10 ml. serum QC w / w with actovegin 10ml (400 mg) v / m (93.75%) was higher by 53.3% compared with animals where spontaneous hunting was expected. Prospects for research in this area.*

*The prospect of further research is to develop selected methods for correcting the reproductive capacity of cows.*

*Conclusions: The number of days from correction to the manifestation of the stage of excitation was significantly lower by 14.37% ( $p < 0.001$ ) with the combined use of serum QC and the drug "Actovegin", compared with the same indicator where the drugs were not administered ( $3.86 \pm 0,36$  and  $14.38 \pm 2.1$ , respectively).*

*The insemination index in the group of cows where the drugs were not administered was significantly higher, by 72.1% ( $p < 0.001$ ) relative to the group where the serum QC was used in combination with the drug "Actovegin" (1.2 and 4.3, respectively).*

*Thus, the use of cord blood serum and the combined use of CC serum and the drug "Actovegin" allows to restore the morphological structure of the endometrium and restore the balance between activator factors and inhibitors of angiogenesis, which determines the optimal conditions for the formation of the maternal placenta.*

**Key words:** cows, cord blood serum, actovegin, reproductive function correction.

Дата надходження до редакції: 20.11.2020 р.

## ПРОТИАНЕМІЧНА ДІЯ ПРЕПАРАТІВ ФЕРУМУ У ПОРОСЯТ

**Духницький Володимир Богданович**

доктор ветеринарних наук, професор  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
ORCID: 0000-0002-9670-1244

**Деркач Ірина Михайлівна**

кандидат ветеринарних наук, доцент  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
ORCID: 0000-0002-0149-7923  
[Irina1215@ukr.net](mailto:Irina1215@ukr.net)

**Деркач Сергій Степанович**

кандидат ветеринарних наук, доцент,  
Національний університет біоресурсів і природокористування України  
ORCID: 0000-0002-6174-1377

**Фрицький Ігор Олегович,**

доктор хімічних наук, професор,  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
ORCID: 0000-0002-1092-8035

**Плутенко Максим Олександрович**

кандидат хімічних наук, науковий співробітник  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
ORCID: 0000-0002-9369-0711

*У статті наведені результати досліджень протианемічної дії в організмі поросят Феруму у формі клатрохелату та у рідкісній нетрадиційній валентності IV. Дослідження проведено на поросятах-аналогах, яких розподілили у дві групи – контрольну та дослідну. Поросята дослідної групи були відібрані від свиноматок, яким у період вагітності двічі внутрішньом'язово вводили по 10 мл 10 % розчину клатрохелату Феруму(IV). Матеріалом для досліджень були маса тіла та сироватка крові поросят. Дослід тривав 60 днів.*

*Результати досліджень засвідчили відсутність загибелі та анемії серед поросят дослідної групи, високу інтенсивність їх росту, що вказує на профілактичний ефект клатрохелату Феруму(IV), застосованого порослим свиноматкам. Встановлено, що маса тіла поросят дослідної групи не відрізнялась від маси тіла поросят контрольної групи; була меншою на 5 добу їх життя та перевищувала в усі посліуючі періоди вирощування, аж до відлучення. Нижчий вміст Феруму у сироватці крові поросят дослідної групи, ніж у контролі до 12 добового віку пояснюється особливостями його фармакокінетики – впливом плацентарного бар'єру.*

**Ключові слова:** анемія, ферум, гексагідрозидний клатрохелат, поросята, свиноматки.

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.4.7>

**Вступ.** Анемія є однією з найбільш поширених незаразних хвороб новонароджених ссавців. В сучасних умовах ведення свинарства важливим завданням, яке не втрачає актуальності, є забезпечення потреби новонароджених поросят у Ферумі (Evans & Abraham, 1973; Walter et al., 1997; Killip & Bennett, 2008; Ganz, 2013; Kim et al., 2018). Проте, слід зазначити, що безпечний діапазон вмісту Феруму в організмі достатньо вузький і повинен суворо контролюватися, щоб уникнути як дефіциту Феруму, так і його надлишку.

Загальновідомо, що Ферум є необхідним елементом для забезпечення життєдіяльності усіх живих організмів. Він входить до складу функціональних груп білків, що транспортують Оксиген, та ензимів, що каталізують реакції утворення енергії та контролюють перебіг метаболічних процесів.

Основна кількість Феруму, необхідного живому організму, надходить з макрофагів за його рециркуляції із старіючих еритроцитів. Цей процес здійснюється за допомогою феропортину, гемової оксидази, дуоденального транс-

портера двохвалентних металів (DMT11), а регулюється декількома протеїнами, до числа яких належать білок спадкового гемохроматозу (HFE), ферумзв'язувальні елементи (IRE) та ферумзв'язувальний протеїн (IRP) (Roy & Enns, 2000).

Ступінь розвитку біологічних і медичних наук наразі дозволяє стверджувати, що гепсидин є основним регуляторним пептидом, що забезпечує гомеостаз Феруму в організмі. Наукові пошуки тривають, і очікується, що будуть встановлені нові субстанції, ключові знання особливостей обміну яких дозволить здійснювати профілактику порушень обміну Феруму у клінічній практиці (Ganz & Nemeth, 2006; Camaschella, 2013; Видиборець & Андріяка, 2017).

В організмі поросят у перші тижні життя внаслідок «фізіологічної» недостатності даного мікроелементу швидко розвивається ферумдефіцитна анемія. Відомо, що з молозивом матері поросля отримує близько 1 мг Феруму за добу, а добова потреба в ньому становить 7–10 мг (Карпуть &

Николадзе, 2001, 2003; Devillers et al., 2004; Svoboda & Drabek, 2005; Leyshon et al., 2016). Поросята віком 3 тижні потребують вже 114–200 мг Феруму, в той час як з молоком вони одержують лише 23–24 мг (Карелін, 1983).

Крім того, встановлено, що поросята, порівняно з тваринами інших видів, інтенсивно збільшують масу тіла – майже вдвічі щотижня, що значно випереджає формування кровотворних органів та досконалість їх функціональної діяльності (Framstad & Sjaastad, 1991; Zimmermann, 1995; Kegley et al., 2002; Левченко та ін., 2012).

Гіпопластична анемія (anaemia hypoplastica) – хвороба, що характеризується зменшенням кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну або одного з цих показників в одиниці об'єму крові внаслідок порушення кровотворення і кісткового гемоцитопоезу, змінами обміну речовин та затримкою росту. У поросят захворювання починає розвиватися з 5–7-добового віку і максимального розвитку досягає через три тижні після народження. Таким чином, дефіцит Феруму є поширеною патологією, а основою її профілактики є застосування відповідних препаратів (Батраков та ін., 2005).

Сучасна профілактика ферумдефіцитної анемії та фармакотерапія за цієї патології ґрунтуються, перш за все, на внутрішньом'язовому введенні поросяттам ферумдекстранових засобів: фероглюкін, феродекс, ферро-100, ферровет-7,5%, декстрофер-100, урзоферан 100, броваферан-100 тощо. Ці препарати застосовують на 2–5 добу після народження, а потім через 7–10 діб з розрахунку 100–150 мг Феруму на ін'єкцію (Данчук, 2002; Веред, 2003; Деркач, 2017; Левченко та ін., 2012).

Застосування препаратів Феруму свиноматкам для профілактики ферумдефіцитної анемії народжених від них поросят є дискусійним питанням. Описано різні схеми профілактики цієї патології, коли, наприклад, змащують вим'я свиноматок розчином Феруму сульфату у період годування поросят або застосовують феруммісні препарати поросним свиноматкам. Проте інші вчені спростовують ефективність таких схем.

**Мета роботи** – порівняти ефективність застосування клатрохелату Феруму(IV) поросним свиноматкам та ферумдекстранового препарату новонародженим поросяттам на основі аналізу маси тіла поросят, вмісту Феруму та Купруму у їх сироватках крові.

#### **Матеріал та методи дослідження**

Для виконання поставленої мети було сформовано 2 групи новонароджених поросят-аналогів (гібриди порід ландрас та велика біла) у період їх утримання зі свиноматками на підсосі – контрольна та дослідна, по 15 тварин у кожній.

Поросята дослідної групи були відібрані від 5-ти свиноматок (по 3 від кожної), яким в період вагітності двічі (за 14 та 7 діб до очікуваного опоросу) внутрішньом'язово вводили по 10 мл 10 % розчин клатрохелату Феруму(IV). Поросяттам контрольної групи за традиційною схемою профілактики ферумдефіцитної анемії на другу добу життя вводили ферумдекстрановий препарат у дозі 2 мл для тварини.

Діючою речовиною препарату, що застосовували свиноматкам, є Ферум у рідкісній валентності IV та у формі клатрохелату – це макробіциклічний комплекс, у якому іон металу «упакований» у нанокапсулу, яка перешкоджає взаємодії з переважною більшістю реагентів, зокрема, біолігандами, а також екранує метал від інших факторів навколишнього середовища. Вперше про синтез унікальних клатрохелатних сполук Феруму(IV) було повідомлено Tomup et al. (2017). Ми провели ряд доклінічних досліджень їх гострості та хронічної токсичності, кумулятивних властивостей та клінічних досліджень (Духницький із співавт., 2018, 2019, 2020).

Використаний нами розчинник реополіглюкін є плазмозамінним колоїдним розчином декстрану (полімеру глюкози).

Протягом 2 місяців за поросяттами вели спостереження, зважували на 1, 5, 9, 12, 30 та 60 доби після народження та визначали динаміку змін маси тіла поросят контрольної та дослідної груп; для досліджень вмісту Феруму та Купруму в сироватці крові поросят відбирали зразки крові на 1, 5, 9, 12, 30 та 60 доби життя.

**Результати досліджень.** Упродовж науково-виробничого дослідження, який тривав 2 місяці, особливу увагу було зосереджено на змінах в організмі поросят дослідної групи, у ймовірний період прояву ферумдефіцитної анемії, оскільки акцентувалося на вивченні нової схеми профілактики даної патології, впливу клатрохелату Феруму(IV), введеного у період вагітності поросним свиноматкам, на подальший розвиток молодняка свиней.

У результаті проведених досліджень не було відмічено народження мертвих поросят та не спостерігали будь-яких клінічних ознак анемії. Нами не відмічалася блідість слизових оболонок (з жовтуватим відтінком), скуйовдженість щетини, сухість чи зморщення шкіри поросят, прискорений пульс та пришвидшений ритм дихання у них, що характерно для прояву анемії. У всіх поросят за період дослідження не виявляли відставання у рості, розладів травлення, малорухливості.

Поросята активно ссали свиноматок, природньо займали соски з більшим рівнем лактації молочних пакетів, що відповідно впливало на збільшення їх маси тіла. Слід відзначити, що поросята дослідної групи були більш активними, ніж поросята контрольної групи, що підтверджує дані Приступи Т.І. із співавт. (2013), які доводять, що дефіцит Феруму в організмі поросят-сисунів призводить до зниження рухливості та тривалості ссання молока свиноматки.

Зміни маси тіла дослідних тварин, порівняно з контролем, є дуже вагомим показником, порушення якого свідчить про ступінь неблагополуччя в організмі. Зміни маси тіла особливо важливі для молодих підростаючих тварин; зі збільшенням віку приріст маси відбувається значно повільніше (Коцюмбас Я.І., 2007).

На першу добу життя різниці у масі тіла поросят контрольної та дослідної груп не було (табл. 1).

Таблиця 1.

**Маса тіла піддослідних поросят, г ( $M \pm m$ , n=15)**

Вік поросят, дів	Група поросят	
	I контрольна	II дослідна
1	1781,0 $\pm$ 26,79	1706,9 $\pm$ 31,09
5	2858,0 $\pm$ 62,63	2191,8 $\pm$ 82,12***
9	3145,9 $\pm$ 87,22	3263,3 $\pm$ 141,35*
12	3603,8 $\pm$ 61,41	4110,8 $\pm$ 175,77*
30	7583,3 $\pm$ 84,63	10262,2 $\pm$ 333,76***
60	20266,7 $\pm$ 270,75	25574,4 $\pm$ 957,20***

Примітка: ступінь вірогідності – \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ; порівняно з показником у поросят контрольної групи.

Маса тіла поросят віком 5 дів дослідної групи була в 1,3 раза вірогідно меншою, ніж маса тіла поросят контрольної групи. Слід зауважити, що на другу добу життя поросят контрольної групи було введено традиційний ферумдекстрановий препарат, що забезпечував вплив на обмін речовин та загальний стан організму тварин.

На 9, 12, 30 та 60 доби життя маса поросят дослідної групи зростала інтенсивніше, ніж маса тіла поросят контрольної групи і була більшою в 1,03, 1,14, 1,35 та 1,26 раза

відповідно, порівняно з контролем.

Відомо, що дослідження вмісту Феруму в сироватці крові важливе для скринінгу, діагностики ферумдефіцитних анемії, а також для оцінки ефективності лікування хворих на ферумдефіцитну анемію. Тому одним із завдань нашого дослідження було визначення вмісту Феруму у сироватці крові поросят за впливу різних ферумвмісних препаратів (табл. 2).

Таблиця 2.

**Уміст Феруму у сироватці крові поросят за впливу різних ферумвмісних препаратів, ммоль/л ( $M \pm m$ , n=15)**

Вік поросят, дів	Група поросят	
	I контрольна	II дослідна
1 доба	3,2 $\pm$ 0,43	3,8 $\pm$ 0,76
5 доба	8,5 $\pm$ 0,14	4,2 $\pm$ 0,46***
12 доба	22,6 $\pm$ 0,44	6,8 $\pm$ 0,52***
30 доба	14,7 $\pm$ 0,29	14,5 $\pm$ 1,17

Примітка: ступінь вірогідності – \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ; порівняно з показником у поросят контрольної групи.

У сироватці крові новонароджених (на 1 добу) поросят дослідної групи вміст Феруму був незначно вищим, оскільки всі вони були народжені від свиноматок, яким двохразово вводили препарат Феруму(IV) у період вагітності. На 5 добу життя даний показник був удвічі вищим у поросят контрольної групи порівняно з таким у сироватці крові поросят дослідної групи, що можна пояснити тим, що згідно традиційної схеми профілактики ферумдефіцитної анемії, поросят контрольної групи на 2 добу життя вводили ферумдекстрановий препарат. Слід зазначити, що жодних клінічних ознак анемії у поросят дослідної групи не спостерігалось. Такою ж була тенденція і на 12 добу життя поросят, проте на 30 добу, коли вже минув критичний період розвитку ферумдефіцитної анемії, вміст Феруму у сироватці крові поросят контрольної та дослідної груп не відрізнявся.

Важливе значення для організму тварин має вміст Купруму, оскільки цьому мікроелементу належить важлива біологічна роль у гемоцитопоезі: Купрум прискорює окиснювально-відновні реакції у клітинах, сприяє утворенню гемоглобіну, накопиченню Феруму «про запас». За нестачі Купруму у тварин розвивається анемія, у поросят, крім того, уражається центральна нервова система, розм'якшуються і демієлінізуються рухливі нервові волокна спинного мозку, що призводить до порушення координації руху, виникнення паралічу. Існує твердження, що за дефіциту Феруму в організмі збільшується вміст Купруму (Полковенко О.В., 2010).

Нами досліджено вплив Феруму у складі різних ферумвмісних препаратів на вміст Купруму у сироватці крові поросят (табл. 3).

Таблиця 3.

**Уміст Купруму у сироватці крові поросят за впливу різних ферумвмісних препаратів, ммоль/л ( $M \pm m$ , n=15)**

Вік поросят, дів	Група поросят	
	I контрольна	II дослідна
1	16,0 $\pm$ 0,17	16,5 $\pm$ 0,16
5	18,0 $\pm$ 0,26	17,1 $\pm$ 0,24**
12	20,8 $\pm$ 0,41	21,3 $\pm$ 0,57
30	14,5 $\pm$ 0,30	13,6 $\pm$ 0,54

Примітка: ступінь вірогідності – \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ; порівняно з показником у поросят контрольної групи.

Уміст Купруму у сироватці крові поросят дослідної (застосовували їх матерям клатрохелат Феруму(IV)) та контрольної (застосовували новонародженим поросят традиційний ферумдекстрановий препарат) груп був майже однаковим упродовж періоду дослідження та знаходився у межах фізіологічних коливань.

**Висновки.**

Метою науково-виробничого дослідження, який тривав 2 місяці, було вивчення нової схеми профілактики ферумдефіцитної анемії поросят, а саме впливу клатрохелату Феруму(IV), введеного поросним свиноматкам у період вагітності, на зміни в організмі народжених від них поросят у



ймовірний період прояву даної патології та на подальший розвиток молодняка свиней.

Відсутність загибелі, ознак анемії чи іншої патології серед поросят дослідної групи вказувала на профілактичний ефект клатрохелату Феруму (IV), застосованого поросним свиноматкам. Поросята активно ссали свиноматок, природньо займали соски з більшим рівнем лактації молочних пакетів, що відповідно впливало на збільшення їх маси тіла.

Маса тіла поросят, народжених від свиноматок, яким

у період вагітності застосовували клатрохелату Феруму (IV), не відрізнялась від маси тіла поросят контрольної групи; була меншою на 5 добу їх життя, та перевищувала в усі послідовні періоди вирощування, аж до відлучення.

Нижчий вміст Феруму у сироватці крові поросят дослідної групи, ніж у контролі до 12 добового віку, пояснюється особливостями його фармакокінетики – впливом плацентарного бар'єру.

## References

1. Batrakov, A., Travkin, O., & Jakovleva, E. (2005). Profilaktika alimentarnoj anemii u porosjat [Prevention of malignant anemia of piglets]. *Veterinarija [Veterinary medicine]*, 12, 44–45 [in Russian].
2. Camaschella C. (2013). Iron and hepcidin: a story of recycling and balance. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2013, 1–8. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2013.1.1>
3. Ganz, T., & Nemeth, E. (2006). Iron imports. IV. Heparin and regulation of body iron metabolism. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 290(2), 199–203. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00412.2005>
4. Danchuk, V. (2002). Profilaktyka anemii u novonarodzhnykh porosiat [Prevention of anemia in newborn piglets]. *Tvarynystvo Ukrainy [Livestock of Ukraine]*, 2, 23–25.
5. Derkach, I. (2017). Suchasni tendencii' na vitchyznjanomu rynku ferumvmsnyh preparativ dlja tvarny [Modern trends of the Ukrainian market of ironcontaining products for animals]. *Naukovyj visnyk Lvivskogo nacionalnogo universytetu veterynaroi medycyny ta biotekhnologij imeni S. Z. Gzhyckogo [Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences]*, 19(78), 23–25. doi.org/10.15421/nlvvet7805 [in Ukrainian].
6. Devillers N., Milgen van J., Prunier A. & Le J. Dividich (2004) Estimation of colostrum intake in the neonatal pig *Animal Science*, 78, 305–313.
7. Dukhnitsky, V. B., Derkach, I. M., Plutenko, M. O., Fritsky, I. O., & Derkach, S. S. (2018). Vyznachennja parametriv gostroi toksychnosti ferumu (IV) na bilyh myshah [[Determination of the accumulative toxicity parameters of iron \(IV\) on white mice](#)]. *Ukrainian Journal of Ecology*, 8 (2), 308–312. doi.org/10.15421/2018\_343 [in Ukrainian].
8. Dukhnitsky, V., Derkach, I., Derkach, S., Fritsky, I., & Plutenko, M. (2019). Khronichna toksychnist klatrochelatu Ferumu (IV) dlja bilykh shchuriv [Chronic toxicity of the Iron (IV) clathrochelat complexes for white rats]. *Naukovyj visnyk Lvivskogo nacionalnogo universytetu veterynaroi medycyny ta biotekhnologij imeni S. Z. Gzhyckogo [Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences]*, 21(95), 15–21. <https://doi.org/10.32718/nlvvet9503> [in Ukrainian].
9. Dukhnitsky, V. B., Derkach, I. M., Plutenko, M. O., Fritsky, I. O., & Derkach, S. S. (2019). Cumulative properties of Iron(IV) clathrochelat in rats [Kumuliatyvni vlastvosti klatrochelatu Ferumu (IV) dlja bilykh shchuriv]. *Visnyk PDAA [Messenger PDAA]*, 2, 238–246. doi: 10.31210/visnyk2019.02.32 [in Ukrainian].
10. Dukhnitsky, V., Derkach, I., Plutenko, M., Fritsky, I., & Derkach, S. (2019). Acute toxicity of the iron clathrochelat complexes. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(3), 276–279. <https://doi.org/10.15421/021942>
11. Dukhnitsky, V. B., Derkach, I. M., Derkach, S. S., Plutenko, M. O. & Fritsky, I. O. (2019). Influence of iron (IV) clathrochelat complex on quail blood parameters and weight characteristics. *Ukrainian Journal of Ecology*, 9 (3), 126–131. DOI: 10.15421/2019\_719
12. Dukhnitsky, V., Derkach, I., Derkach, S., Fritsky, I., & Plutenko, M. (2020). Doslidzhennia podrazniuvanoi dii ta alerhennykh vlastyvopei klatrochelatu Ferumu(IV) [Investigations of the irritant effect and allergenic properties of Ferum's clathrochelat (IV)]. *Naukovyj visnyk Lvivskogo nacionalnogo universytetu veterynaroi medycyny ta biotekhnologij imeni S. Z. Gzhyckogo [Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences]*, 22(97), 130–135. doi: 10.32718/nlvvet9721 [in Ukrainian].
13. Dukhnitsky, V., Derkach, I., Derkach, S., Fritsky, I., & Plutenko, M. (2020). Doslidzhennia protyanemichnoi dii klatrochelatu Ferumu(IV) na porosiatakh [Study of the antianemic effect of iron (IV) clathrochelat on piglets]. *Naukovyj visnyk Lvivskogo nacionalnogo universytetu veterynaroi medycyny ta biotekhnologij imeni S. Z. Gzhyckogo [Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences]*, 22(99), 107–115. doi: 10.32718/nlvvet9917 [in Ukrainian].
14. Dukhnitsky, V. B., Kalachniuk L.H., Derkach, I. M., Derkach, S. S., Plutenko, M. O. & Fritsky, I. O. (2020). [Iron\(IV\) hexahydrazide clathrochelat complexes: the chronic toxicity study](#) *Ukrainian Journal of Ecology*, 9 (3), 18–23. DOI: 10.15421/2020\_3
15. Derkach, I. (2017). Suchasni tendencii na vitchyznjanomu rynku ferumvmsnyh preparativ dlja tvarny [Modern trends of the Ukrainian market of ferumcontaining products for animals]. *Naukovyj visnyk Lvivskogo nacionalnogo universytetu veterynaroi medycyny ta biotekhnologij imeni S. Z. Gzhyckogo [Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences]*, 19 (78), 23–25. doi.org/10.15421/nlvvet7805 [in Ukrainian].
16. Evans, J. L., & Abraham, P. A. (1973). Anemia, Iron Storage and Ceruloplasmin in Copper Nutrition in the Growing Rat. *The Journal of Nutrition*. 103 (2, 1), 196–201. <https://doi.org/10.1093/jn/103.2.196>
17. Framstad, T. & Sjaastad, O. (1991). Iron supplementation in piglets. *Norsk Veterinaertidsskrift*, 103, 21–27.
18. Ganz, T. (2013). Systemic iron homeostasis. *Physiological Reviews*. 93 (4). 1721–1741. doi: 10.1152/physrev.00008
19. Karelyn A.Y. (1983) Anemija porosiat [Anemia of piglets]. Moskva. Rosselkhozizdat [in Russian].

20. Karput' I. M., & Nikoladze M. G. (2001). Diagnostika i profilaktika alimentarnoj anemii porosjat [Diagnosis and prevention of alimentary anemia of piglets]. *Veterinarija [Veterinary medicine]*, 4, 34–37 [in Russian].
21. Karput' I. M., & Nikoladze M. G. (2003). Obmen zheleza u zdorovyh i bol'nyh alimentarnoj anemiej porosjat [Iron metabolism in healthy and sick piglets with alimentary anemia]. *Bulletin of the Academy of Agrarian Sciences of the Republic of Belarus [Izvestiya Akademii Agrarian Sciences of the Republic of Belarus]*, 4, 34–37 [in Russian].
22. Kegley E.B., Speers J.W., Flowers W.L., & Schoenherr W.D. (2002). Iron methionine as a source of iron for the neonatal pig. *Nutrition research*, 22, 1209–1217.
23. Kim, J.C., Wilcock, P., & Bedford, M.R. (2018). Iron status of piglets and impact of phytase superdosing on iron physiology: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 235, 8–14.
24. Killip, S., & Bennett, M. Iron Deficiency Anemia (2008). *American Family Physician*, 15, 78 (8), 671–678.
25. Kocjumbas I. J. (2006) Doklinichni doslidzhennja veterynarnyh likars'kyh zasobiv [Preclinical studies of veterinary drugs]. L'viv. Triada pljus [in Ukrainian].
26. Leyshon, B. J., Radlowski, E. C., Mudd, A. T., Steelman, A. J., & Johnson, R. W. (2016). Postnatal Iron Deficiency Alters Brain Development in Piglets. *The Journal of nutrition*, 146(7), 1420–1427. <https://doi.org/10.3945/jn.115.223636>
27. Levchenko V. I., Kondrakhin I. P., & Vlizlo V.V. (2012). Vnutrishni khvoroby tvaryn. Chastyna 1 [Internal diseases of animals. Part 1]. Bila Tserkva.
28. Polkovenko O.V. (2010). Znachennia midi dlia zdorov'ia liudyny [The value of copper for human health]. *Kultura bezpeky ekolohii ta zdorov'ia [Culture of environmental safety and health]*, 3, 33–35.
29. Prystupa, T.I., Danchuk, V.V., Danchuk, O.V., & Kaplunenko V.H. (2013). Rukhova aktyvnist porosiat-sysuniv za vvedennia spoluk ferumu [Motor activity of suckling piglets with the introduction of iron compounds]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]*, 12(107), 60–63.
30. Roy, C. N., & Enns, C. A. (2000) Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood*, 96(13), 4020–4027.
31. Svoboda, M., & Drabek, J. (2005). Iron deficiency in suckling piglets: etiology, clinical aspects and diagnosis. *Folia Veterinaria.*, 49, 104–111.
32. Tomyň, S., Shylin, S. I., Bykov, D., Ksenofontov, V., Gumienna-Kontecka, E., Bon, V. & Fritsky, I.O. (2017) Indefinitely stable iron (IV) cage complexes formed in water by air oxidation. *Nature Communications*, 8, 1–8.
33. Vered, P. I. (2003). Vychennia dii proty anemichnykh preparativ vitchyznianoho vyrobnytstva na orhanizm porosiat [Study of action against anemic drugs of domestic production on the body of piglets]. *Zbirnyk materialiv III mizhvuzivskoi naukovo-praktychnoi konferentsii aspirantiv «Suchasna ahrama nauka: napriamy doslidzhen, stan i perspektyvy» [Proceedings of the III Interuniversity Scientific and Practical Conference of Postgraduate Students "Modern Agricultural Science: Areas of Research, Status and Prospects"]*. Vinnytsia, 222–223.
34. Vydyborets, S. V. & Andriiaka, A. O. (2017). Fiziolohichna rol hepsydynu yak tsentralnoho rehulatora metabolizmu zaliza (Ohliad literatury) [Physiological role of hepcidin as a central regulator of iron metabolism (Literature review)] *Semeinaia medytsyna [Family medicine]*, 1(69), 154–157.
35. Zimmermann, W. (1995). Auswirkungen diverser Anamieprophylaxeformen auf die Blutparameter der Saugferkel. *Dtsch. Tierarztl. Wsch.*, 102, 32–38.
36. Walter, T., Olivares, M., Pizarro, F. & Muñoz, C. (1997). Iron, Anemia, and Infection. *Nutrition Reviews*, 55 (4), 111–124. doi: 10.1111/j.1753-4887.1997.tb06462.x

**Volodymyr Dukhnitskyi**, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

**Iryna Derkach**, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

**Serhii Derkach**, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

**Igor Fritsky**, Taras Shevchenko National University of Kyiv (Kyiv, Ukraine)

**Maxym Plutenko**, Taras Shevchenko National University of Kyiv (Kyiv, Ukraine)

#### **Antianemic effect of preparations of iron in pigs**

*Anemia is one of the most common non-communicable diseases of newborn mammals. In modern conditions of pig breeding an important task, which does not lose relevance, is to provide the needs of newborn piglets in Iron. Modern prevention of iron deficiency anemia and pharmacotherapy for this pathology are based primarily on intramuscular administration of iron dextran drugs to piglets.*

*The article presents the results of studies of antianemic action in the body of piglets Iron in the form of clatrochelate and in rare unconventional valence IV. The study was performed on analogous piglets, which were divided into two groups – control and experimental. Piglets from the experimental group were selected from sows given 10 ml of 10% Iron(IV) clatrochelate solution twice intramuscularly during pregnancy. Piglets of the control group according to the traditional scheme of prevention of iron deficiency anemia on the second day of life were administered iron dextran drug in a dose of 2 ml for the animal. The material for the research was the body weight and blood serum of piglets. The experiment lasted 60 days.*

*The results of the studies showed the absence of death and anemia among the piglets of the experimental group, the high intensity of their growth, which indicates the prophylactic effect of Iron(IV) clatrochelate used in pregnant sows. It was found that the body weight of piglets in the experimental group did not differ from the body weight of piglets in the control group; was less than 5 days of their life and exceeded in all subsequent periods of cultivation, up to weaning.*

*It is known that the study of the content of iron in the serum is important for screening, diagnosis of iron deficiency anemia and to assess the effectiveness of treatment of patients with iron deficiency anemia. Therefore, one of the tasks of our study was to*

*determine the content of iron in the serum of piglets under the influence of various iron-containing drugs. The lower content of iron in the serum of piglets of the experimental group than in the control up to 12 days of age, due to the peculiarities of its pharmacokinetics – the effect of the placental barrier.*

*The content of copper in the serum of piglets of the experimental and control groups was almost the same during the experimental period and was within physiological values.*

**Key words:** anemia, iron, hexahydrate clatrocyclate, piglets, sows.

Дата надходження до редакції: 29.11.2020 р.

## DESIGN OF ANTIGEN SYNTHESIS AND PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF SPECIFIC AND EURYTOPIC ANTIBODIES AGAINST B-GROUP AFLATOXINS

**Yanan Wang**

postgraduate student

Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Institute of Science and Technology (Xinxiang, China)

ORCID: 0000-0001-9537-2947

[wyn564@126.com](mailto:wyn564@126.com)

**Hanna Fotina**

Doctor of Veterinary Sciences, Professor

Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

ORCID: 0000-0002-0761-3681

[hanna.fotina@snau.edu.ua](mailto:hanna.fotina@snau.edu.ua)

*The aim of this study was to prepare B-group aflatoxins (BGAFs) antibody with strong specificity and good eurytopicity. According to the molecular structure and active site of aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), the BGAFs artificial antigen AFB<sub>1</sub>-BSA was prepared by 6 methods such as oxime active ester (OAE), methylation of ammonia (MOA), mixed anhydride (MA), semi acetal (SA), epoxide (EP) and enol ether derivative (EED) and identified by UV and SDS-PAGE. Polyclonal antibodies against AFB<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub> pAb) were prepared by immunizing New Zealand rabbits with AFB<sub>1</sub>-BSA, and the titers of AFB<sub>1</sub> pAb was detected by indirect ELISA, the sensitivity of AFB<sub>1</sub> pAb was analyzed by indirect competitive ELISA (icELISA) and the specificity and eurytopicity of AFB<sub>1</sub> pAb was analyzed by cross-reactivity (CR) test. The results showed that AFB<sub>1</sub>-BSA was synthesized successfully and the best one was OAE method among 6 synthesis methods of BGAFs artificial antigen and its conjugation ratio of AFB<sub>1</sub> to BSA was about 8.46:1. The immune efficacy of OAE method was the best, its AFB<sub>1</sub> pAb had high titers of 1:1(28×10<sup>4</sup>) by indirect ELISA, a good sensitivity with the 50% inhibition concentration (IC<sub>50</sub>) of 10.32 µg/L to AFB<sub>1</sub> by icELISA and a high CR to AFB<sub>2</sub> of 75.21%, AFG<sub>1</sub> of 44.13%, AFG<sub>2</sub> of 14.72%, AFM<sub>1</sub> of 16.36% and AFM<sub>2</sub> of 1.44%, respectively. In this study, AFB<sub>1</sub> pAbs with high titer, sensitivity, specificity and eurytopicity were prepared, which laid a matter and technical foundation for the establishment of BGAFs immunoassay.*

**Key word** B-group aflatoxins, antigen synthesis design, polyclonal antibody, characteristics analysis

DOI: <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2020.4.8>

**Introduction.** Aflatoxins (AFs) are a group of toxic secondary metabolites containing similar molecular structures (difuran ring and oxyheteronaphthalidone). They are produced by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* through the polyketone pathway. At present, more than 20 members of the aflatoxin (AF) family have been found in food pollution. Among them, AF of group B (B group aflatoxins, BGAFs) have strong toxicity, wide pollution, and high content. Various toxic effects such as carcinogenicity, teratogenicity and immunosuppressiveness have become the main targets of food AF contamination detection (Sun D.D et al., 2015). BGAFs include AFB<sub>1</sub> and AFB<sub>2</sub>, both of which are closely related to food pollution, and both exist at the same time, mainly AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub> pollution is accompanied by AFB<sub>1</sub>, and has a toxic additive effect (Luo, X. et al., 2018). Therefore, there are two regulations for the maximum residue limits (MRLs) of BGAFs in foods. the current AFB<sub>1</sub> MRL standard of food and agricultural products in China is "GB 2761-2017 limit of fungal toxins in food" which One is that some countries including my country adopt AFB<sub>1</sub> MRLs, such as the current AFB<sub>1</sub> MRL standard of food and agricultural products in China is "GB 2761-2017 limit of fungal toxins in food" (CHINA. National Food Safety Standard Limit of mycotoxins in food. 2017), corn and its products ≤20 µg·kg<sup>-1</sup>, rice and its products ≤10 µg·kg<sup>-1</sup>, wheat and its products ≤5 µg·kg<sup>-1</sup>. Second, some countries use MRLs for the total amount of BGAFs (B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>), such as EU ≤4 µg·kg<sup>-1</sup>, Japan ≤10 µg·kg<sup>-1</sup>, and US FDA ≤15 µg·kg<sup>-1</sup>. There are many current analytical methods for food BGAFs contamination, mainly using instrumental analysis and

immunoassay. In particular, immunoassay has become a technology because of its strong specificity, high sensitivity, simple operation, large-scale screening and on-site detection. Indispensable technical means, the key to establishing a BGAFs immunoassay method is to obtain excellent antibodies, and hapten design and antigen synthesis are the prerequisites for preparing excellent antibodies (Gefen T. et al., 2015). There have been related reports on the research of BGAFs antigen synthesis methods at home and abroad (Mongkon, W. et al., 2017, Xiao L.W, et al., 2017), but there are no reports on the design of different hapten molecules, antigen synthesis and comparative analysis of antibody characteristics. In this study, AFB<sub>1</sub> was used as the starting material for the reaction. Polyclonal antibodies (pAbs) were prepared through different AFB<sub>1</sub> hapten molecular design and antigen synthesis methods, and their characteristics were analyzed to screen out the best hapten and antigen synthesis methods. It lays the foundation for the preparation of high-quality monoclonal antibodies of BGAFs with high sensitivity, broad recognition spectrum and strong specificity (Zhou, Y. et al., 2007).

**Aim** The aim of this study was to prepare B-group aflatoxins (BGAFs) antibody with strong specificity and good eurytopicity.

### Materials and Methods

Main reagents, solutions and experimental animals

AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub> standard products, Singapore Pribolab product; Cationized bovine serum albumin (cBSA), goat anti-rabbit enzyme-labeled secondary antibody (GaRlgG-

HRP), American Sigma product. The diluent used in the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is 0.01 mol·L<sup>-1</sup> pH7.4 phosphate buffer solution (PBS); the washing solution is PBS containing 0.5 g·L<sup>-1</sup> Tween<sup>-20</sup> (PBST); the blocking solution is PBST containing 50 g·L<sup>-1</sup> porcine serum; the coating solution is 0.1 mol·L<sup>-1</sup> carbonate buffer solution (CBS) with pH 9.6. The experimental animals were 18 male New Zealand white rabbits

at the age of 2 months and weighing 1±0.2 kg. They were provided by the Experimental Animal Center of Xinxiang Medical College. They were divided into 6 groups, each with 3 rabbits.

BGAFs artificial antigen synthesis design

According to the active sites on the molecular structure of AFB<sub>1</sub> (Figure 1), the following six methods are proposed to prepare artificial antigen AFB<sub>1</sub>-BSA (Table 1).

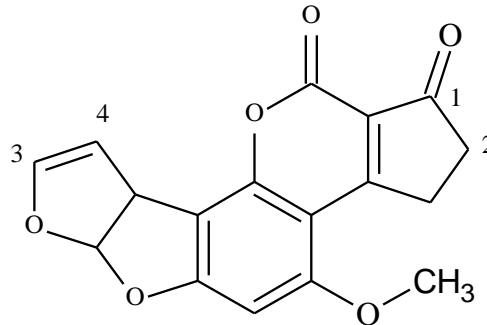


Fig.1 Molecular structure of AFB

Table1

The hapten design and antigens synthesis of AFB<sub>1</sub>

Antigen synthesis design					Antigen synthesis route		Reaction principle
Active site	Active group	Reaction method	Introduction group	Synthesis Method			
1	Carbonyl	Oximation	carboxyl	OAE	<p>The reaction scheme shows the conversion of AFB<sub>1</sub> to AFB<sub>1</sub>O using CMO and pyridine. AFB<sub>1</sub>O is then reacted with BSA-NH<sub>2</sub> using EDCI/DCC and NHE to form AFB<sub>1</sub>O-BSA.</p>	The oximation of the 1-position carbonyl group of the active site of AFB <sub>1</sub> to AFB <sub>1</sub> O, the introduction of the carboxyl active group, the active ester method under the action of the coupling agent dicyclohexylcarbodiimide (DCC), the synthesis of AFB <sub>1</sub> O and BSA in the form of a single amide bond AFB <sub>1</sub> -BSA [7,8].	
2	Active hydrogen	Mannich	Aminomethyl	MOA	<p>The reaction scheme shows the Mannich reaction of AFB<sub>1</sub> with HCHO and BSA-NH<sub>2</sub> to form AFB<sub>1</sub>-BSA.</p>	Using the 2-position α-active hydrogen of AFB <sub>1</sub> , through Mannich reaction, the α-active hydrogen and the amino group of BSA undergo an aminomethylation reaction, which is coupled in the form of Mannich base to synthesize AFB <sub>1</sub> -BSA [9,10].	

Antigen synthesis design					Antigen synthesis route	Reaction principle
Active site	Active group	Reaction method	Introduction group	Synthesis Method		
3	Hydroxyl	Acid anhydride reaction	carboxyl	MA		AFB1 is converted to AFB2a under the action of H2SO4. The 2-position hydroxyl of the active site is used to react with acid anhydride. The product is a half-ester compound AFB2a-HS. The carboxyl active group is introduced, and the coupling agent isobutyl chloroformate (IBC), AFB1O and BSA synthesize AFB1-BSA in the form of a single amide bond [11,12].
3	Aldehyde	Schiff	Aldehyde	SA		The condensation reaction of AFB1 under the action of H2SO4 produces AFB2a with active sites of aldehyde groups, whose aldehyde groups can form unstable Schiff bases with the amino groups of BSA. Through the reduction of NaBH4, the antigen AFB2a-BSA is synthesized [13,14].
3, 4	Bifuran ring	Oxidation	Hydroxyl	EP		Using dichloromethane as solvent, the double bond of AFB1 bifuran ring is oxidized to form AFB1 epoxide, which reacts with the primary amine of BSA to form secondary amine, introduces a hydroxyl group on the epoxide, and couples with BSA in the form of monoamide into AFB1-BSA [15,16].
3, 4	Bifuran ring	Glycolic acid	carboxyl	EED		The molecular structure of AFB1 contains an active site bifuran ring, which can react with glycolic acid to generate AFB1 enol ether derivative (AFB1-GA) with active carboxyl group, which is used to couple the carboxyl group with BSA to synthesize AFB1-BSA [17].

#### BGAFs artificial antigen identification

##### UV Scan

Dissolve AFB<sub>1</sub> with methanol, prepare 1 mg·mL<sup>-1</sup> AFB<sub>1</sub> solution; use volume ratio (v/v) 4:6 methanol PBS solution to dissolve BSA and AFB<sub>1</sub>-BSA, prepare 1 mg·mL<sup>-1</sup> BSA and

AFB<sub>1</sub>- BSA solution; UV scan at a wavelength of 200 ~ 500 nm, through the calculation formula  $A = \epsilon CL$  (where A is the absorbance value, read by the instrument;  $\epsilon$  is the molar extinction coefficient, which is a constant value; C is the solute concentration in the solution; L is Optical path, determined by the instru-

ment), calculate the molecular binding ratio of AFB<sub>1</sub> and BSA (Wang Y.N. et. al., 2014).

#### SDS-PAGE identification

The concentration of the concentrated gel and the separating gel are selected to be 5% and 12%, the voltage is 90 v and 60 v, the sample volume is 10 μL per well, and the protein content is 10 μg per well. The UV analyzer system software calculates AFB<sub>1</sub> and BSA the molecular binding ratio.

#### Preparation of AFB<sub>1</sub> pAb

The artificial antigens synthesized by 6 different methods were used to immunize New Zealand white rabbits. Each antigen was used to immunize 1 group, a total of 6 groups, 3 rabbits in each group. The immunization dose is calculated according to the amount of protein BSA in AFB<sub>1</sub>-BSA, each is 100 μg, the volume is 1 mL, the back is injected subcutaneously at 4 to 6 points, a total of 5 immunizations, each interval is 3 to 4 weeks, after the fifth immunization for 2 weeks, blood was collected from the ear vein, the polyantiserum was separated by centrifugation, and the polyantiserum was purified by the saturated ammonium sulfate salting-out method to prepare AFB<sub>1</sub> pAb (Ju RH et. al., 2015).

#### Characteristic analysis of AFB<sub>1</sub> pAb

##### Determination of potency

Indirect ELISA (Zhao HH et. al., 2015).

#### Sensitivity identification

Indirect competitive ELISA (icELISA) measures the half inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of AFB<sub>1</sub> pAb on AFB<sub>1</sub> to determine sensitivity (Chen T et. al., 2014).

#### Specific identification

With AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, and AFG<sub>2</sub> as inhibitors, the IC<sub>50</sub> of each inhibitor was determined by icELISA, and the percentage of the IC<sub>50</sub> of AFB<sub>1</sub> pAb to AFB<sub>1</sub> and the IC<sub>50</sub> of other inhibitors was used as the cross-reaction rate (CR%) (Zhang C et. al., 2016), the calculation method is CR% = IC<sub>50</sub> of AFB<sub>1</sub> pAb to AFB<sub>1</sub>/ IC<sub>50</sub>×100 of AFB<sub>1</sub> pAb to other inhibitors.

#### Results

##### GAFs artificial antigen identification results

##### UV identification

The results are shown in Figure 2. In the range of UV200-500 nm, the characteristic peak of BSA is at 278 nm, and the characteristic peak of AFB<sub>1</sub> is at 363 nm. The artificial antigen AFB<sub>1</sub>-BSA is synthesized by 6 methods including OAE, MOA, MA, SA, EP, EED. Both contain the characteristic peaks of BSA and AFB<sub>1</sub>, indicating that the above 6 methods can synthesize artificial antigen AFB<sub>1</sub>-BSA. The calculated results of the molecular binding ratio of BSA to AFB<sub>1</sub> (Liu, H.X. et. al., 2014) are shown in Table 2.

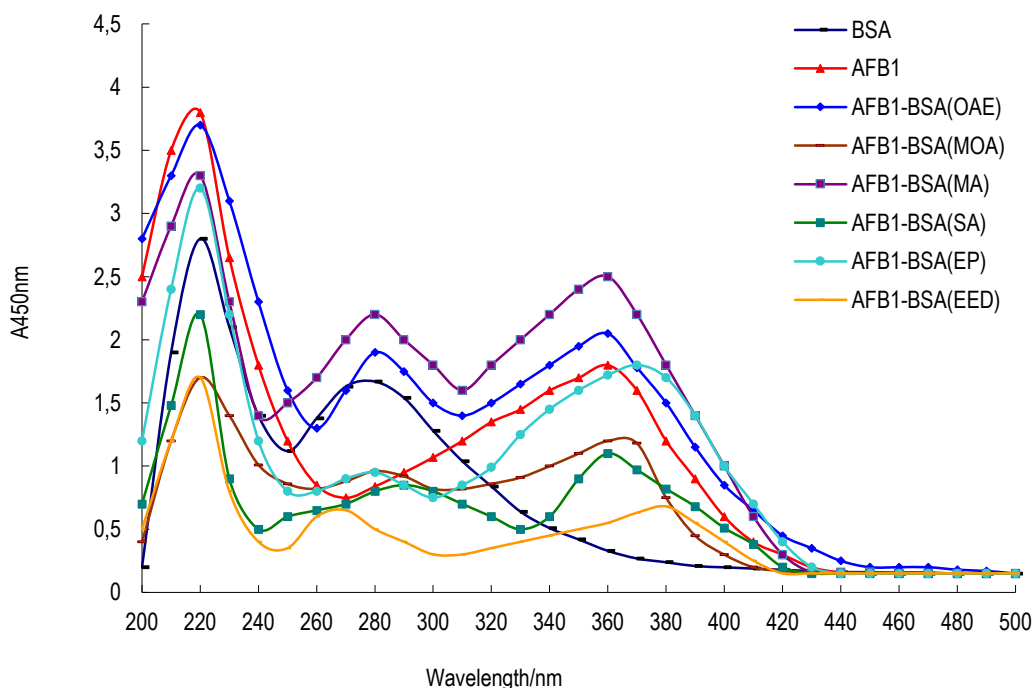


Fig.2 UV spectra of AFB<sub>1</sub>-BSA

Table2

Molecular binding ratio of AFB<sub>1</sub>-BSA prepared by six methods

Synthesis methods	Initial molar ratio of AFB <sub>1</sub> to BSA	Molecular binding ratio of AFB <sub>1</sub> -BSA	Usage ratio of AFB <sub>1</sub>
OAE	50:1	8.64:1	17.28
MOA	50:1	6.88:1	13.76
MA	50:1	10.78:1	21.56
SA	50:1	4.46:1	8.92
EP	50:1	6.38:1	12.76
EED	50:1	2.31:1	4.62

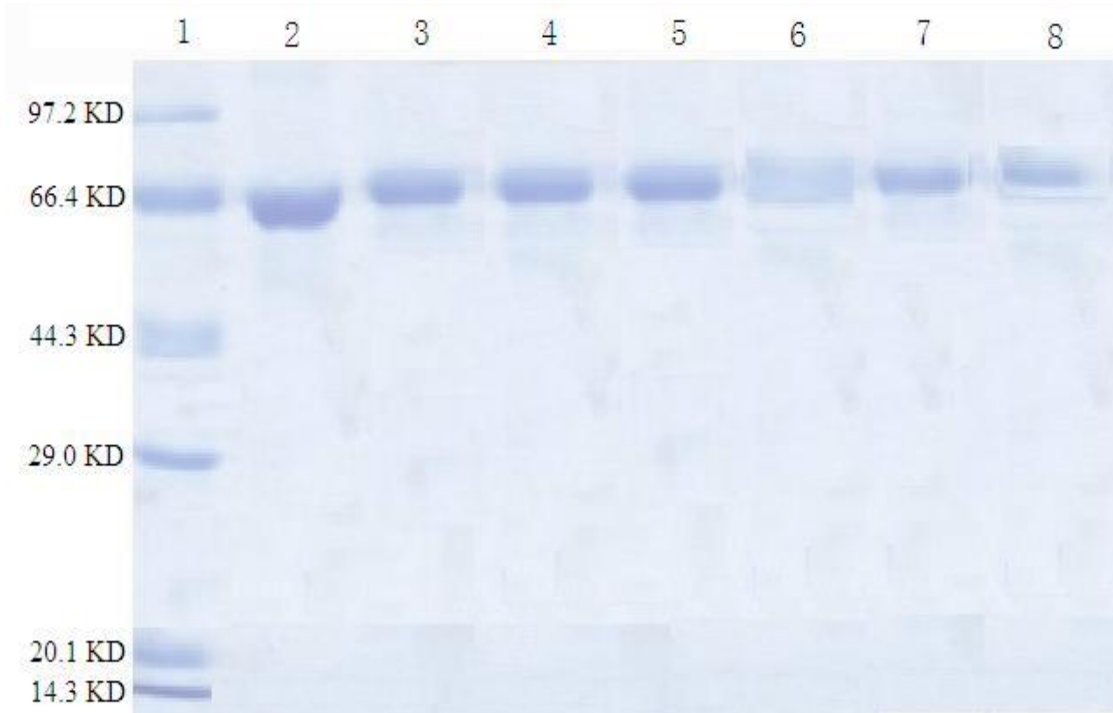
**Note:** Compared to the molecular weight of BSA and AFB<sub>1</sub>, BSA is 66.446, AFB<sub>1</sub> is 312, BSA is much larger than AFB<sub>1</sub>, so the utilization rate of BSA is 100% when the utilization

ratio is calculated.

#### SDS-PAGE identification

The results are shown in Figure 3. It can be seen that

the bands of the 6 artificial antigens AFB<sub>1</sub>-BSA lag behind the bands of BSA, indicating that the molecular weight of AFB<sub>1</sub>-BSA is greater than that of BSA, and it can be determined that the synthesis of AFB<sub>1</sub>-BSA is successful.



**Fig.3 The SDS-PAGE photo of AFB<sub>1</sub>-BSA**

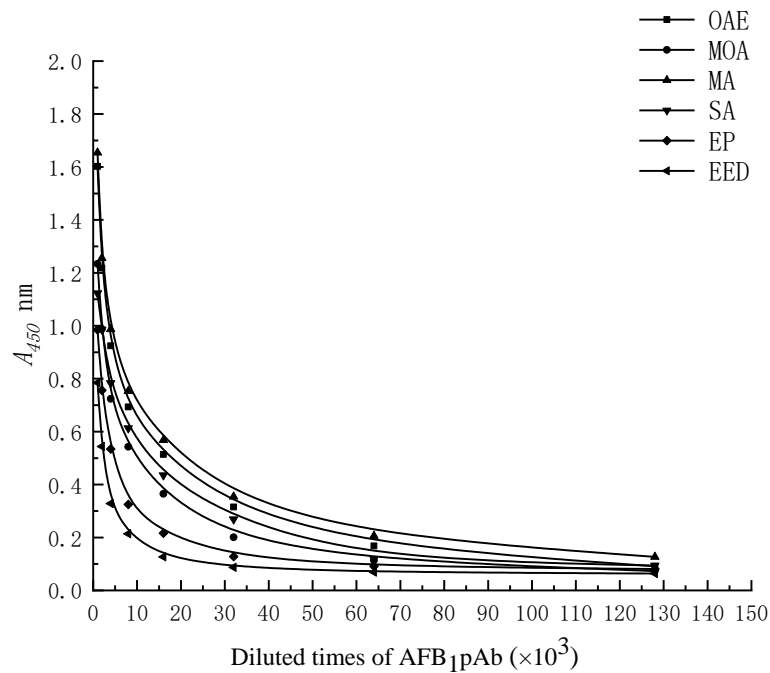
1. Maker; 2. BSA; 3. AFB<sub>1</sub>-BSA(OAE); 4. AFB<sub>1</sub>-BSA(MOA); 5. AFB<sub>1</sub>-BSA(MA); 6. AFB<sub>1</sub>-BSA(SA); 7. AFB<sub>1</sub>-BSA(EP); 8. AFB<sub>1</sub>-BSA(EED).

**AFB<sub>1</sub> pAb characteristic analysis**

**Determination of potency**

The results are shown in Figure 4. It can be seen that after the immunization, one rabbit with the highest indirect ELISA titer was selected for comparison and analysis in each

group. The indirect ELISA titer of the 6 immunized rabbits all reached 1: (1×10<sup>4</sup>). It can be seen that the 6 types The AFB<sub>1</sub>-BSA synthesized by the method has good immunogenicity. The OAE group and MA group have the best immune effect, with a titer of 1: (1.28×10<sup>4</sup>).



**Fig.4 The indirect ELISA titer curves of AFB<sub>1</sub> pAb**



### Sensitivity analysis

The results are shown in Figure 5. It can be seen that the icELISA inhibition curve of 6 immunized rabbits has a good

linear relationship. The OAE group has the best sensitivity, with an  $IC_{50}$  of  $10.32 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The sensitivity of the other groups is inferior to that of the OAE group.

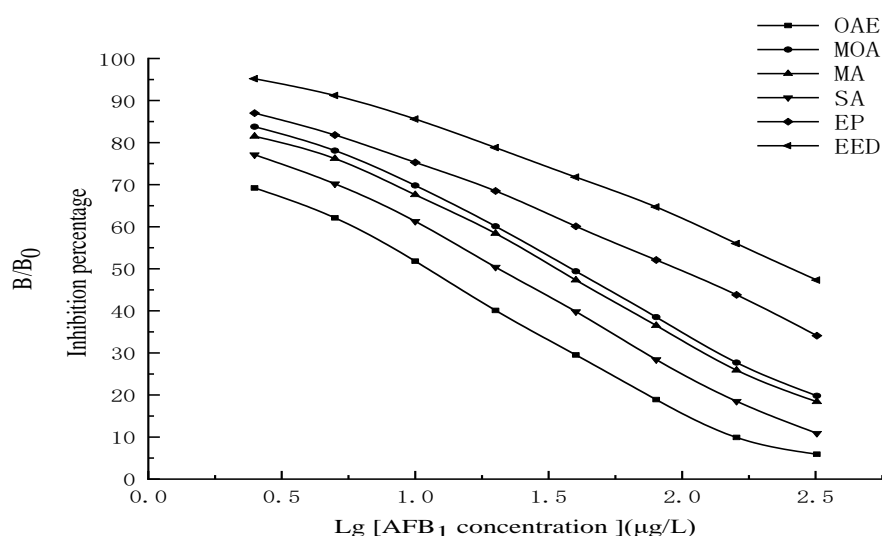


Fig.5 The sensitivity measurement of AFB<sub>1</sub> pAb to AFB<sub>1</sub> by icELISA

Table 3

The regression equation,  $R^2$  and  $IC_{50}$  of 4 AFB<sub>1</sub> pAb to AFB<sub>1</sub> by icELISA

group	Regression equation	$R^2$ value	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
OAE	$y = -32.171x + 82.621$	0.9916	10.32
MOA	$y = -31.822x + 99.59$	0.9943	36.18
MA	$y = -31.546x + 97.263$	0.9938	31.49
SA	$y = -32.875x + 92.292$	0.9966	19.36
EP	$y = -25.245x + 99.481$	0.9932	91.21

### Specificity and broad-spectrum analysis

The results are shown in Table 4. It can be seen that the antibodies prepared by the six methods can recognize AFB<sub>1</sub> 100%, and the OAE method has the best specificity and broad-spectrum, with an  $IC_{50}$  of  $10.32 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  and a CR with AFB<sub>2</sub> of 86.46%; The CR with AFG<sub>1</sub> and AFG<sub>2</sub> were 44.13% and 14.72%, respectively. Antibodies prepared by other methods

have good specificity and can recognize AFB<sub>1</sub> 100%, but their sensitivity and broad-spectrum are not as good as those prepared by OAE method. The results show that the best antigen synthesis method for preparing antibodies against BGAFs with high sensitivity, strong specificity and good broad spectrum is the OAE method.

Table 4

The percent cross-reactivity of AFB<sub>1</sub> pAb with AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>

AF	AFB <sub>1</sub> pAb(OAE)		AFB <sub>1</sub> pAb(MOA)		AFB <sub>1</sub> pAb(MA)		AFB <sub>1</sub> pAb(SA)		AFB <sub>1</sub> pAb(EP)		AFB <sub>1</sub> pAb(EED)	
	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	(%) CR	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	(%) CR	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	(%) CR	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	(%) CR	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	(%) CR	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	(%) CR
AFB <sub>1</sub>	10.32	100	36.18	100	31.49	100	19.36	100	91.21	100	307.81	100
AFB <sub>2</sub>	13.72	75.21	46.03	78.61	46.85	67.22	23.83	81.26	144.14	63.28	590.13	52.16
AFG <sub>1</sub>	23.39	44.13	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$	35.67	54.27	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$
AFG <sub>2</sub>	70.11	14.72	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$	79.41	24.38	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$
AFM	63.08	16.36	741.39	4.88	615.04	5.12	541.74	3.68	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$
AFM	716.67	1.44	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$	$> 10^3$	$< 0.5$

### Discussion and Conclusion

About the design of BGAFs antigen synthesis method

The molecular weights of AFB<sub>1</sub> and AFB<sub>2</sub> in BGAFs are 312.27 and 314.29, respectively. They belong to small molecule haptens and have no immunogenicity. According to the theory of hapten-carrier effect, only by combining with large-molecule protein carriers to form artificial antigens can they be specific for haptens. Therefore, the design of antigen synthesis methods is very important (Zeng, H. et. al., 2014). Since the selection of different active sites and the introduction of different linking arm

lengths will have a greater impact on the properties and structure of small molecules, which in turn will affect the quality of antibodies produced (Shi HY et. al., 2006). According to the molecular structure characteristics of BGAFs, this study selected the 1-position carbonyl group, 2-position active hydrogen, 3-position hydroxyl group and aldehyde group, and the difuran ring between 3-position and 4-position as the active groups. Through different chemical reaction methods, respectively introduce available carboxyl, hydroxyl, aminomethyl and other active groups to realize the coupling with carrier protein to synthesize

artificial antigens.

About the synthetic route of BGAFs artificial antigen

At present, the research on BGAFs artificial antigen synthesis method is still at the empirical level, and trial and error methods are mostly used. Although a variety of artificial antigen identification methods have been established, the immunogenicity of the artificial antigens prepared is ultimately through the effect of animal immunity. It was confirmed (Guo N. F. et al., 2014). Based on a large number of relevant research literature, this article uses AFB<sub>1</sub> as the starting material for the reaction, and uses 6 methods such as OAE method, MOA method, MA method, SA method, EP method and EED method to synthesize artificial antigens, and through UV, SDS-PAGE for antigen identification and animal immunization for antibody characteristics analysis, the most ideal antigen synthesis method for the preparation of BGAFs antibody was selected by OAE method. Its advantages are that the reaction system is easy to construct, the reaction conditions are mild, the operation steps are simple, and the product yield is high. However, in terms of the advanced nature of the technical route adopted in this research, the research and application of molecular simulation technology, computer-aided technology, etc. Needs to be improved (Morita, I. 2017).

Analysis on the immune effect of BGAFs artificial antigen.

The purpose of this research is to screen out BGAFs artificial antigen synthesis methods, and lay the material and technical foundation for the preparation of high-quality BGAFs antibodies with high sensitivity, strong specificity and broad recognition spectrum. This requires that in the design of BGAFs antigen synthesis, on the one hand, it is necessary to consider the specificity and sensitivity of the antibody to AFB<sub>1</sub> to meet the detection technology requirements under the AFB<sub>1</sub> limit standard; On the other hand, it is necessary to consider the sensitivity and broad-spectrum of the antibody to AFB<sub>2</sub> to meet the technical requirements for detection under the BGAFs limit standard (Xie Hui et al. 2017) used MA method to synthesize AFB<sub>1</sub>-BSA, and screened hybridoma cell 3B9 to obtain AFB<sub>1</sub> mab. The antibody specifically recognizes AFB<sub>1</sub> with a sensitivity of 1.04  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , CR of AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, and AFM<sub>1</sub> are 2.2%, 33.9%, 1.8%, and 5.12%, respectively, which have no CR with AFM<sub>2</sub>

and poor broad-spectrum. Xiao Zhi et al. used SA method to synthesize AFB<sub>1</sub>-BSA, and screened hybridoma cell 3A12 to obtain AFB<sub>1</sub> mab. The antibody specifically recognizes AFB<sub>1</sub> with a sensitivity of 6.1  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , and is compatible with CR of AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, and AMF<sub>1</sub>. They are 7.8%, 20.2%, 0.6%, and 3.68%, respectively. It has no CR with AFM<sub>2</sub>, and it also has the problem of poor broad-spectrum.

#### Conclusion

The results of 6 different antigen synthesis methods and the characteristics of the antibodies produced showed that the OAE method was the best, the produced AFB<sub>1</sub> pAb antibody titer was high, and the indirect ELISA titer reached 1: (1.28 $\times 10^4$ ); the sensitivity to AFB<sub>1</sub> was good, IC<sub>50</sub> is 10.32  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ; it has strong specificity and can recognize AFB<sub>1</sub> 100%. The CR with AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, AMF<sub>1</sub>, and AFM<sub>2</sub> are 75.21%, 44.13%, 14.72%, 16.36% and 1.44%, respectively. The other five methods designed by this research have certain defects in varying degrees. Therefore, the author recommends that they should not be used except for research work.

In this study, based on the molecular structure characteristics of AFB<sub>1</sub> and the existing active sites, six BGAFs antigen synthesis methods were designed, through UV, SDS-PAGE identification and analysis of the characteristics of AFB<sub>1</sub> pAb produced by immunized animals, a high-titer, sensitive, specific, and broad-spectrum AFB<sub>1</sub> pAb was obtained. It shows that antigen synthesis design is the prerequisite for the preparation of high-quality antibodies, and the OAE method is an effective way to realize the preparation of high-quality antibodies for BGAFs, laying a material and technical foundation for the establishment of BGAFs immunoassay methods.

#### Author's contributions

All authors participated in this article design. Yanan WANG participated and performed writing and data collection. All authors read and approved the final manuscript. All authors contributed to the draft of the manuscript. All authors gave final approval for publication.

Conflict of interest Author does not report any financial or personal connections with other persons or organizations, which might negatively affect the contents of this publication and/or claim authorship rights to this publication.

#### References:

1. Sun, D.D.; Gu, X.; Li, J.G.; Yao, T.; Dong, Y.C. (2015). Quality evaluation of five commercial enzyme linked immunosorbent assay kits for detecting aflatoxin b1 in feedstuffs. *Asian-Australasian journal of animal sciences* 28, 691-696, doi:10.5713/ajas.14.0868.
2. Luo, X.; Li, K.; Xing, J.; Qi, L.; Yang, M.; Wang, R.; Wang, L.; Li, Y.; Chen, Z. (2018). In vivo toxicity assessment of aflatoxin B(1)-contaminated corn after ozone degradation. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 35, 341-350, doi:10.1080/19440049.2017.1395518.
3. CHINA. National Food Safety Standard Limit of mycotoxins in food. (2017). Vol. GB 2761 —2017.
4. Gefen, T.; Vaya, J.; Khatib, S.; Rapoport, I.; Lupo, M.; Barnea, E.; Admon, A.; Heller, E.D.; Aizenshtein, E.; Pitcovski, J. (2015). The effect of haptens on protein-carrier immunogenicity. *Immunology* 144, 116-126, doi:10.1111/imm.12356.
5. Mongkon, W.; Sugita-Konishi, Y.; Chaisri, W.; Suriyasathaporn, W. (2017). Aflatoxin B1 Contamination of Dairy Feeds after Storage in Farm Practice in Tropical Environmen. *Biocontrol Sci* 22, 41-45, doi:10.4265/bio.22.41.
6. Xiao LW, Xu X, Zhao W, et al. (2017). Study on the development and performance of a paper strip for rapid quantitative detection of aflatoxin B1 based on time-resolved fluorescent nano-spheres. *Grain Processing*. 42, 41-43.
7. Kolosova, A.Y.; Shim, W.B.; Yang, Z.Y.; Eremin, S.A.; Chung, D.H. (2006). Direct competitive ELISA based on a monoclonal antibody for detection of aflatoxin B1. Stabilization of ELISA kit components and application to grain samples. *Anal Bioanal Chem* 384, 286-294, doi:10.1007/s00216-005-0103-9.
8. Yu, Y.Y.; Chen, Y.Y.; Gao, X.; Liu, Y.Y.; Zhang, H.Y.; Wang, T.Y. (2018). Nanoparticle based bio-bar code technology for trace analysis of aflatoxin B1 in Chinese herbs. *Journal of food and drug analysis*. 26, 815-822, doi:10.1016/j.jfda.2017.11.003.

9. Wang YN, Wang XF, Niu LL, et al. (2016). Research progress in hapten molecule design and immunogen synthesis and antibody characteristics of aflatoxin B1. *Science and Technology of Food Industry*. 23, 367-376.
10. Zhou, Y.; Wu, J.; Yu, W.; Xu, Y.; Wang, P.; Xie, B.; Chen, F. (2007). Preparation for aflatoxin B(1)-cationized bovine serum albumin based on Mannich-type reaction. *J Immunol Methods*. 328, 79-88, doi:10.1016/j.jim.2007.08.009.
11. Rushing, B.R.; Selim, M.I. (2017). Structure and Oxidation of Pyrrole Adducts Formed between Aflatoxin B(2a) and Biological Amines. *Chem Res Toxicol*, 30, 1275-1285, doi:10.1021/acs.chemrestox.7b00002.
12. Kononenko, G.P.; Burkin, A.A.; Soboleva, N.A. (2002). [Comparative characteristics of immunoreagents based on aflatoxin B1 hemiacetals and sterigmatocystine]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 38, 571-577.
13. Wang YN, Wang XF, Niu LL, et al. (2017). Advance in immunoassay of total aflatoxins in food. *Science and Technology of Food Industry*. 13, 344-351.
14. Wang YN, Wang XF, Wang ZL. (2018). Study and application of detection methods of total aflatoxins in food. *Food and Fermentation Industries*. 44, 1, 285-290.
15. Cervino, C.; Knopp, D.; Weller, M.G.; Niessner, R. (2007). Novel aflatoxin derivatives and protein conjugates. *Molecules* 12, 641-653, doi:10.3390/12030641.
16. Wang YN, Wang SY, Zhang HT, et al. (2014). Establishment of Hybridoma Cell Lines Secreting Anti-Cadmium Ion Monoclonal Antibody and Identificat of Their Immunological Properties. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica.*, 11, 24-29.
17. Ju RH, Wen K, Duan LL, et al. (2015). Preparation and Characterization of Polyclonal Antibodies Against Acrylamide. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*. 29, 10, 1979-1984.
18. Zhao HH, Zhang ZR, Li XJ, et al. (2016). Prokaryotic Expression of Tartary Buckwheat Flavonol SynthaseFtFLS2 and Preparation of Its Polyclonal Antibody. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*. 30, 2, 240-245.
19. Chen T, Wang CQ, Li XF, et al. (2014). Determination of aflatoxin B1 in peanut under different storage conditions by indirect ELISA. *China Oils and Fats*. 9, 88-91.
20. Zhang C, Pan JR, Shuai RQ, et al. (2016). Research on Enzyme Linked Immunosorbent Assay for Multi-residues of Nitroimidazoles in Foods of Animal Origin. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*. 30, 2, 323-331.
21. Liu, H.X.; Yang, Y.X.; Ma, M.G.; Wang, X.M.; Du, X.Z. (2015). Self-assembled Gold Nanoparticles Coating for Solid-Phase Microextraction of Ultraviolet Filters in Environmental Water. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* 43, 207-211.
22. Zeng, H.; Chen, J.; Zhang, C.; Huang, X.A.; Sun, Y.; Xu, Z.; Lei, H. (2016). Broad-Specificity Chemiluminescence Enzyme Immunoassay for (Fluoro)quinolones: Hapten Design and Molecular Modeling Study of Antibody Recognition. *Anal Chem* 88, 3909-3916, doi:10.1021/acs.analchem.6b00082..
23. Shi HY, Wang MH. (2008). Effect of Hapten Space Arm Length on Immune Recognition. *Chinese Journal of Pesticide Science*. 2, 172-177.
24. Guo NF, Yu JC, Ma FM, et al. (2014). Study of Comparison the Commonly Used Artificial Antigen Identification Methods. *Journal of Food Science and Biotechnology*. 33 5,517-521.
25. Morita, I.; Oyama, H.; Yasuo, M.; Matsuda, K.; Katagi, K.; Ito, A.; Tatsuda, H.; Tanaka, H.; Morimoto, S.; Kobayashi, N. (2017). Antibody Fragments for On-Site Testing of Cannabinoids Generated via in Vitro Affinity Maturation. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 40, 174-181, doi:10.1248/bpb.b16-00669.
26. Hayashi, N.; Saegusa, J.; Uto, K.; Oyabu, C.; Saito, T.; Sato, I.; Kawano, S.; Kumagai, S. (2016). Evaluation of a Computer-Aided Microscope System and Its Anti-Nuclear Antibody Test Kit for Indirect Immunofluorescence Assay. *Rinsho Byori*, 64, 142-151.
27. Wang YN. (2020). Preparation of Broad-Specificity Antibodies and Development of Immuno-chromatographic Strip for Detection of Total Aflatoxins in Animal Food. Henan Institute of Science and Technology.
28. Xie H, Zhang X, Wang X, et al. (2015). Preparation of anti-aflatoxin B1 monoclonal antibodies and its use in an indirect competitive ELISA for aflatoxin B1. *Microbiology China*. 10, 2033-2040.
29. Xiao Z, Li PW, Zhuang Q, et al. (2011). Production and characteristics of specialised monoclonal antibodies against aflatoxin B1. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*. 33, 001, 66-70.

**Янан Ванг**, аспірант Сумський НАУ, (Суми, Україна), Коледж наук про тварин та ветеринарну медицину, Інститут науки і технологій Хенань, (Сінсян, Китай)

**Ганна Фотіна**, доктор ветеринарних наук, професор, Сумський НАУ, (Суми, Україна)

#### **Синтез та підготовка антигенів для отримання специфічних і еурітопічних антитів проти В-group афлатоксинів**

Метою цього дослідження було вироблення антитіл до афлатоксинів групи В (BGAF) із сильною специфічністю та хорошою еурітопічністю. Дослідження проводили в лабораторії безпеки та якості продуктів тваринництва Сумського НАУ, факультету ветеринарної медицини, Суми, Україна та на базі Науково-технічного інституту Хенань, Сінсян, Китай. Відповідно до молекулярної структури та активного центру афлатоксину В1 (AFB1), штучний антиген BGAFs AFB1-BSA готували 6 ма методами, такими як метод активного ефіру оксиму (OAE), метилування аміаку (MOA), змішаний ангідрид (MA), напівфабрикат ацеталь (SA) епоксид (EP) та похідне енолового ефіру (EED) та ідентифікували за допомогою УФ та SDS-PAGE.

Поліклональні антитіла проти AFB1 (AFB1 pAb) готували шляхом імунізації новозеландських кролів AFB1-BSA, а титри AFB1 pAb виявляли за допомогою непрямого ІФА, чутливість AFB1 pAb аналізували за допомогою непрямого конкурентного ІФА (icELISA), специфічність та еурітопічність AFB1 pAb аналізували за допомогою тесту перехресної

реактивності (CR). Результати показали, що AFB1-BSA був успішно синтезований, і найкращим був метод активного ефіру оксиму (OAE) із 6 методів синтезу штучного антигену BGAF, а його відношення кон'югації AFB1 до BSA становило близько 8,46Å1. Імунна ефективність методу OAE була найкращою, його рAb AFB1 мав високі титри 1: (1,28×10<sup>4</sup>) з використанням методу непрямого ІФА, чутливість з 50% концентрацією інгібування (IC50) 10,32 мкг / л до AFB1 за допомогою ісELISA та високий CR до AFB2 75,21%, AFG1 44,13%, AFG2 14,72%, AFM1 16,36% та AFM2 1,44% відповідно. У цьому дослідженні були підготовлені рAbs AFB1 з високим титром, чутливістю, специфічністю та еуритопічністю, що заклало важливу та технічну основу для створення імунологічного аналізу BGAF.

**Ключові слова:** афлатоксини групи В, конструкція синтезу антигену, поліклональні антитіла, аналіз, характеристики.

Дата надходження до редакції: 20.11.2020 р.