

**PRODUCTIVITY AND MILK QUALITY OF LEUKEMIA VIRUS-INFECTED  
WITH AND INTACT COWS**

**Gorbatenko S.K., Shapovalova O.V., Korneykov A.N., Zdanevich P.P., Myagkich N.V.,  
Krotovskaya Y.N., Popova E.N.**

*National scientific center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine*

*The purpose of the work. To analyze the cows milk production level on the basis of control before and under the conditions of natural infection with leukemia, as well as to determine the ratio of the milk components of healthy and infected animals as a result of biochemical research.*

*Material and methods. The studies were conducted in 4 leukemia cattle breeding farms in Chernihiv, Kharkiv and Sumy regions. Studied the cows productivity on the control milk production results during the well-being of the herd, and after diagnosis of leukemia in the animal isolated groups. By the comparative biochemical studies of the individual components of milk from infected and healthy cows the mass fraction of total nitrogen and protein, acidity level were determined.*

*The results of research. It was found that in 3 farms the average rates of healthy cows productivity level was higher than in leukemia virus-infected animals at 2–4 kg. In this case the infected animals average productivity was slightly higher than the corresponding dates for the group of healthy cows, and the average productivity of the herd was slightly lower than the productivity of the group of intact animals. Comparative biochemical studies have shown that in samples of milk from intact animals solids content was lower than normal, and in milk from infected animals – in the normal range. The protein content in milk samples from intact cows was on 0.51 % higher compared with samples from leukemia virus-infected animals.*

*Conclusions. 1. Productivity of leukemia virus-infected herd is reduced compared with free from leukemia livestock on 8–11 %. For the calendar year shortfall in milk per leukemia virus-infected cow is 450–800 liters.*

*2. Comparative biochemical analysis of the quality of milk infected with leukemia and intact cows indicates a violation of the protein component and the dry residue.*

**Keywords:** productivity, milk quality, cows, bovine leukemia.

**УДК 619:616.98-091/-092:579.842.14:636.52/58**

**МОРФОЛОГІЧНІ ТА ХІМІЧНІ ЗМІНИ У СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗАХ ТА СУБПРОДУКТАХ  
КУРЧАТ ЗА ГОСТРОГО САЛЬМОНЕЛЬОЗУ**

**Казанцев Р.Г., Шутченко П.О., Медвідь К.О.**

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,  
м. Харків, Україна, e-mail: morph42@mail.ru*

*Визначені особливості гістоморфологічних змін у курчат за експериментального сальмонельозу. За результатами гістоморфологічних досліджень встановлено, що морфологічні зміни при гострому сальмонельозі характеризувалися явищами дистрофії, запалення та некрозу, які визначали у скелетних м'язах, серці та печінці.*

*Визначені особливості динаміки гістохімічних змін ліпідів та вуглеводів у курчат за експериментального сальмонельозу. За результатами гістохімічних досліджень зразків субпродуктів та скелетних м'язів курчат, інфікованих збудником сальмонельозу, встановлено збільшення рівня кислих мукополісахаридів і зниження рівня глікогену та ліпідів в зонах гострого запалення.*

**Ключові слова:** продукти птахівництва, якість та безпека, морфологічні та хімічні зміни, сальмонельоз птахів.

Серед хвороб, що завдають значних економічних збитків та загрожують здоров'ю людини, провідне місце займають захворювання, спричинені бактеріями роду *Salmonella* [1, 2]. На цей час реєструється збільшення кількості спалахів сальмонельозної токсикоінфекції, пов'язаних, насамперед, з вживанням м'яса птиці і продуктів птахівництва [3].

Відповідно до міжнародних вимог щодо якості сільськогосподарської продукції, необхідно проводити аналіз небезпеки та здійснювати контроль на всіх етапах вирощування птиці та виробництва продукції птахівництва [4]. За останні роки в Україні помітно покращилися методи дослідження молока, м'яса та продуктів їх переробки. Що стосується продуктів птахівництва це питання ще недостатньо вивчене [5].

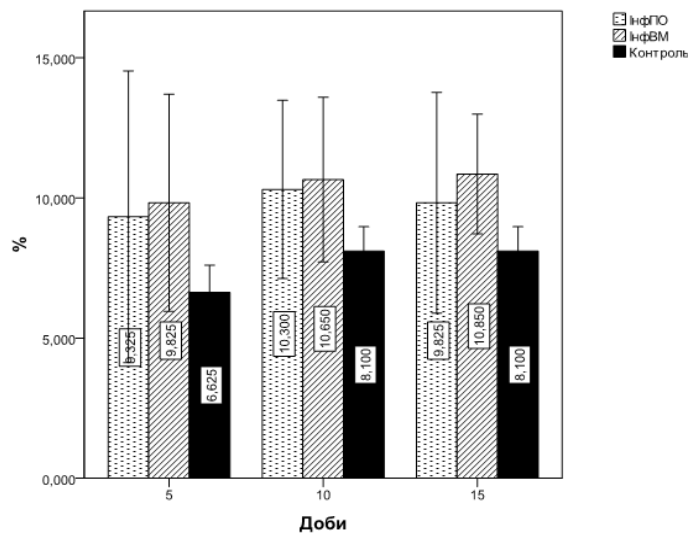
**Мета роботи.** Провести гістоморфологічні та гістохімічні дослідження зразків субпродуктів (печінка, серце, м'язовий шлунок) і скелетних м'язів курчат за експериментального сальмонельозу.

**Матеріали та методи.** Матеріалом для досліджень слугували зразки органів, отримані від птиці, евтаназованої на 5-ту, 10-ту та 15-ту добу після зараження добовою культур *S. Typhimurium* перорально та внутрішньом'язово у попередніх дослідах. Для виготовлення гістологічних препаратів зразки м'язової тканини, м'язового шлунку, серця, печінки, в яких ймовірно локалізується збудник сальмонельозу, розміром не більше (1x1x1) см, попередньо фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну протягом 24 год. Проводили парафінову заливку зразків органів та виготовляли гістозрізи на ротаційному мікротомі МПС-2. Для виявлення гістоморфологічних змін гістозрізи фарбували гематоксилін-еозином за стандартною методикою. Для виявлення гістохімічних змін зрізи тканин фарбували альціановим синім на кислі мукополісахариди, за Люголем на глікоген і суданом чорним В на ліпіди [6].

Одержані результати досліджень обробляли на персональному комп'ютері за допомогою світлового мікроскопу «Axioskop 40» (Carl Zeiss, Німеччина) з цифровою фотокамерою «ProgRes C 3» (Jenoptic, Німеччина). Статистичний аналіз одержаних результатів досліджень обробляли за допомогою комп'ютерної програми "SPSS Statistics 17,0". Для морфометричного аналізу використовували програму «Відео Тест-Морфологія 5,1». Динаміку зміни відсоткової кількості вуглеводів і ліпідів відображали у формі гістограм.

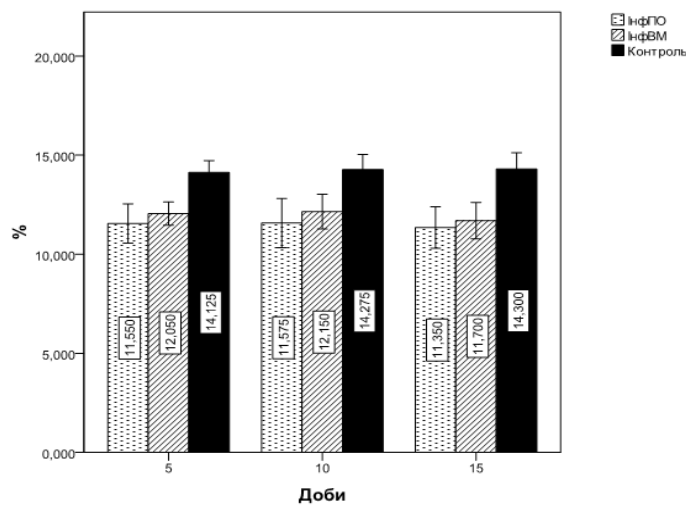
**Результати досліджень.** При проведенні гістоморфологічних досліджень встановлені зміни в скелетних м'язах, печінці та серці починаючи з 5-ї доби після зараження. У зразках м'язів і серця загинили курчат спостерігали дистрофію м'язових волокон, їх некробіоз. Кровоносні капіляри були розширені та гіперемовані. Крім того, спостерігали великі ділянки некрозу, в яких візуалізувалися колонії *S. Typhimurium*. Унаслідок уражень стінок кровоносних судин було встановлено периферичний набряк, визначали розлите запалення. У печінці спостерігали зернисту дистрофію та вакуолізацію гепатоцитів. На 10-ту і на 15-ту добу після зараження виявляли зернисту дистрофію у гепатоцитах. При мікроскопії встановлено розширення синусоїдних капілярів, їх кровонаповнення. У зразках скелетних м'язів і серця інфікованої птиці спостерігали локальні некротичні фокуси, дистрофічні зміни були менш виражені. У печінці встановлено вогнищеву інфільтрацію лімфоїдними клітинами з вогнищами некрозу гепатоцитів. У м'язовому шлунку гістоморфологічних змін виявлено не було.

При виконанні гістохімічних досліджень гістозрізів міокарду (рис. 1) було встановлено зростання рівня мукополісахаридів у курчат першої дослідної групи ( $9,325 \pm 1,635$ ) % порівняно з курчатами контрольної групи ( $6,625 \pm 0,306$ ) % на 5-ту добу дослідження. На 10-ту добу їх рівень становив ( $10,3 \pm 0,998$ ) %, порівняно до курчат контрольної групи ( $8,1 \pm 0,273$ ) %. Однак, на 15-ту добу спостерігали незначне зменшення рівня мукополісахаридів ( $9,825 \pm 1,236$ ) %, порівняно до курчат контрольної групи ( $8,1 \pm 0,273$ ) %. У курчат другої дослідної групи динаміка накопичення мукополісахаридів мала майже однаковий характер. Встановлено тенденцію до поступового збільшення рівня кислих мукополісахаридів. Так, на 5-ту добу відсоткова кількість мукополісахаридів становила ( $9,825 \pm 1,217$ ) % порівняно до курчат контрольної групи ( $6,625 \pm 0,306$ ) %. На 10-ту добу спостерігали незначний ріст рівня ( $10,65 \pm 0,922$ ) % порівняно до курчат контрольної групи ( $8,1 \pm 0,273$ ) %. На 15-ту добу рівень мукополісахаридів складав ( $10,86 \pm 0,670$ ) %, проти ( $8,1 \pm 0,273$ ) % у курчат контрольної групи. Така динаміка може свідчити про розвиток гострого запального процесу у ендокарді.



**Рис 1.** Динаміка зміни рівня мукополісахаридів у серці курчат, інфікованих *S. Typhimurium*

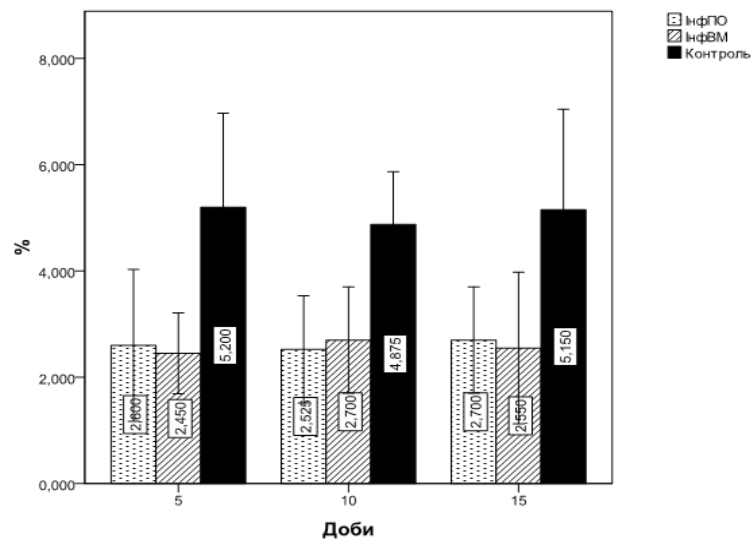
За результатами гістохімічних досліджень гістозрізів міокарду (рис. 2) була встановлена тенденція до зменшення рівня ліпідів у курчат першої дослідної групи на 5-ту добу досліджень ( $11,55 \pm 0,312$ ) %, при ( $14,125 \pm 0,158$ ) % у курчат контрольної групи. На 10-ту добу їх рівень по відношенню до рівня на 5-ї доби суттєво не змінився ( $11,575 \pm 0,390$ ) % порівняно до курчат контрольної групи ( $14,275 \pm 0,239$ ) %. На 15-ту добу рівень ліпідів складав ( $11,075 \pm 0,292$ ) % по відношенню до курчат контрольної групи ( $14,375 \pm 0,339$ ) %. При вивченні динаміки накопичення ліпідів у курчат другої дослідної групи, то вже на 5-ту добу спостережень рівень ліпідів був вищим за рівня у курчат першої групи ( $12,05 \pm 0,184$ ) % та контрольної групи ( $14,125 \pm 0,188$ ) %. На 10-ту добу досліджень у курчат другої дослідної групи рівень ліпідів змінився несуттєво – ( $12,15 \pm 0,275$ ) %, при ( $14,275 \pm 0,239$ ) % у курчат контрольної групи. На 15-ту добу досліджень рівень ліпідів у міокарді складав ( $11,7 \pm 0,288$ ) %, у порівнянні до курчат контрольної групи ( $14,375 \pm 0,339$ ) %. Отримані дані, на нашу думку, можуть свідчити про суттєві зміни енергетичного обміну у міокарді, що підтверджуються літературними даними щодо патогенезу гострого сальмонельозу.



**Рис 2.** Динаміка зміни рівня ліпідів у серці курчат, інфікованих *S. Typhimurium*

Суттєво відрізнялася динаміка змін глікогену та ліпідів в органах. На відміну від зростання рівня кислих мукополісахаридів, що є індикаторами гострого запального процесу, рівень глікогену та ліпідів знижувався.

При проведенні гістохімічних досліджень гістологічних препаратів м'язової тканини (рис. 3) курчат першої дослідної групи спостерігали зниження рівня глікогену протягом усього періоду спостережень. Так, на 5-ту добу рівень його у курчат першої групи становив  $(2,6 \pm 0,449)$  % порівняно до курчат контрольної групи  $(4,2 \pm 0,455)$  %. На 10-ту добу рівень глікогену продовжував знижуватись до  $(2,525 \pm 0,317)$  % порівняно до курчат контрольної групи  $(4,125 \pm 0,445)$  %. На 15-ту добу рівень становив  $(2,7 \pm 0,313)$  %, у порівнянні до курчат контрольної групи –  $(4,275 \pm 0,497)$  %. При аналізі кривої динаміки накопичення глікогену у курчат другої дослідної групи встановлено майже однакову динаміку. Проте, показники були дещо нижчими, ніж у курчат 1-ї групи. Так, на 5-ту добу він складав  $(2,45 \pm 0,239)$  % у порівнянні до курчат контрольної групи –  $(4,2 \pm 0,455)$  %. Як у випадку з курчатами 1-ї дослідної групи у курчат, інфікованих внутрішньом'язово на 10-ту добу рівень глікогену продовжував дещо знижуватись і складав  $(2,5 \pm 0,142)$  % у порівнянні до курчат контрольної групи  $(4,125 \pm 0,445)$  %. На 15-ту добу рівень глікогену складав  $(2,5 \pm 0,142)$  % у порівнянні до курчат контрольної групи  $(4,275 \pm 0,497)$  %. Одержані дані можуть свідчити про суттєві порушення енергетичного обміну у м'язовій тканині при зараженні курчат сальмонельозом.



**Рис 3.** Динаміка зміни рівня глікогену у м'язах курчат, інфікованих *S. Typhimurium*

При проведенні гістохімічних досліджень гістологічних препаратів печінки курчат, інфікованих сальмонельозом (рис. 4), встановлено зниження рівня глікогену у курчат першої дослідної групи протягом усього періоду спостережень. На 5-ту добу дослідження рівень становив  $(6,845 \pm 0,154)$  % у порівнянні до курчат контрольної групи –  $(7,325 \pm 0,375)$  %. На 10-ту добу рівень глікогену знизився до  $(6,738 \pm 0,155)$  % у порівнянні до курчат контрольної групи –  $(7,286 \pm 0,337)$  %. На 15-ту добу він несуттєво

знизилися до рівня  $(6,83 \pm 0,323) \%$ , у порівнянні до курчат контрольної групи  $(7,675 \pm 0,286) \%$ . У цілому рівень глікогену знаходився на дещо нижчих рівнях, ніж у курчат контрольної групи. У курчат 2-ї дослідної групи на 5-ту добу рівень глікогену складав  $(6,75 \pm 0,155) \%$  у порівнянні до курчат контрольної групи –  $(7,325 \pm 0,375) \%$ . Відсоткова кількість продовжувала знижуватись до кінця строку спостережень, коли показники досягали максимального рівня і становили  $(6,725 \pm 0,154) \%$ , порівняно до курчат контрольної групи  $(7,286 \pm 0,337) \%$ . На 15-ту добу рівень глікогену складав  $(6,725 \pm 0,154) \%$  у порівнянні до курчат контрольної групи –  $(7,675 \pm 0,286) \%$ . Одержані дані дозволяють зробити попередній висновок про порушення енергетичного обміну у тканині печінки та її дистрофію у курчат при сальмонельозі.

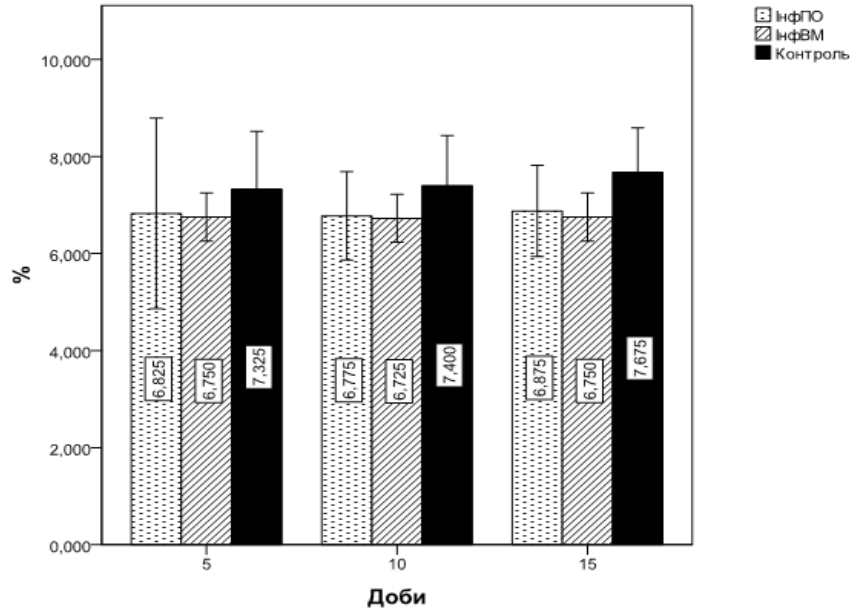


Рис 4. Динаміка зміни рівня глікогену у печінці курчат, інфікованих *S. Typhimurium*

**Висновки.** 1. За результатами гістоморфологічних досліджень встановлено, що зміни у внутрішніх органах курчат, інфікованих *S. Typhimurium*, характеризувалися явищами дистрофії, запалення та некрозу, що є частиною загального патогенезу гострого сальмонельозу курчат. У м'язовій тканині та серці спостерігали гіперемію та некроз м'язових волокон. У печінці спостерігали зернисту дистрофію та розширення синусоїдних капілярів.

2. За результатами гістохімічних досліджень зразків субпродуктів і скелетних м'язів курчат, інфікованих збудником сальмонельозу, встановлено збільшення рівня кислих мукополісахаридів, що пов'язано з явищами гострого запалення. Загальний рівень ліпідів і глікогену в цілому знижується в порівнянні з інтактним контролем, що пов'язано з посиленням енергетичного обміну.

Список літератури

1. Рыбальченко О.В. Энтеробактерии – возбудители инфекционных заболеваний человека. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. Ун-та, 2003. – 118 с.
2. Лабораторная диагностика сальмонеллеза человека и животных, обнаружение в кормах, продуктах питания и объектах внешней среды: методические указания. / Под редакцией Г.А. Зайцева. – М.: Агропромиздат, 1990. – 230 с.
3. Епизоотичний стан птахівництва в Україні / Д. Вержиховський, Ю. Колос, В. Титаренко, В. Стець // Ветеринарна медицина України, 2007, № 6, С. 8.
4. Урбанович П.П. Патологічна анатомія тварин. – Київ, Ветінформ, 2008. – 879 с.
5. Олійник Л.В. Система моніторингу, контролю і профілактики токсикоінфекцій сальмонельозної та ешерихіозної етіологій: автореф. дис.... докт. вет. наук. – Львів, 2004. – 35 с.
6. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов. / Под редакцией Д.С. Саркисова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.

**MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL CHANGES IN THE SKELETAL MUSCLES AND OFFAL OF CHICKENS AT ACUTE SALMONELLOSIS**

**Kazantsev R.G., Shutchenko P.O., Medvid' K.O.**

*National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine*

The aim of the research was to conduct histomorphological and histochemical investigations of offal samples (liver, heart, gizzard) and skeletal muscle of chickens after experimental infection with *S. Typhimurium*.

Materials and Methods. There were selected muscle and inner organs after euthanasia. Tissue samples were fixed in 10 % formalin and paraffin embedded, series sections were prepared by standard scheme. To histomorphological studing,

sections were stained with hematoxylin and eosin To histochemical studing sections were stained with Alcian blue for acid mucopolysaccharides, by Lugol for glycogen and with Sudan black B for lipids. The results were analyzed on a personal computer using a light microscope with a digital camera. The data were statistical analyzed.

*Results and Conclusions. The features of histomorphological and histochemical changes in liver, heart, gizzard and skeletal muscle at chickens, sick with experimental salmonellosis caused by S. Typhimurium were determined. According to the results of histomorphological study, it was found that morphological changes of tissues at salmonellosis characterized by dystrophy, inflammation and necrosis. At muscle and heart sections hyperemia and muscle fibers necrosis was observed. At liver sections granular dystrophy and sinusoidal capillaries degeneration was observed. According to the results of histochemical studies it was found an increase in the level of acid mucopolysaccharides in the areas of acute inflammation. The total level of lipid and glycogen are reduced, which is associated with increased energy metabolism.*

**Keywords:** poultry products, quality and safety, morphological and chemical changes, avian salmonellosis.

УДК 576.535:576.38:[546.57+546.713-31+546.72+546.47]-022.532

## **ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, ДИОКСИДА МАРГАНЦА, ЦИНКА И ЖЕЛЕЗА (НА МОДЕЛИ ПЕРЕВИВАЕМОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК FLK-SBBL)**

**Магац Д.Ю., Стегний Б.Т., Стегний М.Ю.**

*Национальний научний центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», г. Харків, Україна, e-mail: stegniy@vet.kharkov.ua*

*Изучено возможное цитотоксическое воздействие наночастиц серебра, диоксида марганца, цинка и железа на перевиваемую культуру клеток FLK-SBBL, которая является основным продуцентом лейкозного антигена для диагностических тест-систем по выявлению вируса лейкоза крупного рогатого скота. В ходе исследований установлено цитотоксическое влияние наночастиц диоксида марганца и цинка, проявляющееся в виде разрушения монослоя и пикноза клеток перевиваемой культуры. Под действием наночастиц железа цитотоксический эффект проявлялся повышенной зернистостью цитоплазмы клеток FLK-SBBL. Под влиянием наночастиц серебра цитотоксическое действие не проявлялось, морфологическое состояние клеток было лучше, чем в контроле.*

**Ключевые слова:** культура клеток FLK (fetal lamb kidney), наночастицы, серебро, диоксид марганца, цинк, железо, цитотоксичность.

Важным фактором предотвращения распространения лейкоза крупного рогатого скота (КРС) является проведение серологической диагностики заболевания. Реакция иммунной диффузии (РИД) наряду с иммуноферментным анализом, принятая Международным эпизоотическим бюро (МЭБ), является основным диагностическим методом в программах профилактики и ликвидации лейкоза КРС (BLV) [5]. Для выявления маркеров лейкоза в РИД в качестве антигена используется инактивированный вирус, выращенный на перевиваемой культуре клеток FLK (fetal lamb kidney) [11]. Перевиваемая культура FLK-BLV была получена путем инокуляции лейкоцитами-носителями вируса лейкоза крупного рогатого скота клеток эмбриональной почки в 1976 году Van Der Maaten M.J. и Miller J.M в США, штат Айова [1, 9].

В криобанке ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» (ННЦ «ИЭКВМ») собрана Коллекция культур клеток животного происхождения, которая имеет статус Национального достояния Украины с 2004 года. Сублинию клеток FLK-SBBL, которая хранится в криобанке, получено в лаборатории биотехнологии ННЦ «ИЭКВМ» в 2003 году после длительного селекционного отбора наиболее жизнеспособных клеток методом уменьшения частоты пассажей. После чего клетки двукратно клонировали методом пограничных разведений. В результате было получено культуру клеток с унифицированными морфологическими признаками и активной пролиферацией. Главной задачей в настоящее время при использовании этой перевиваемой культуры является изучение изменения ее свойств под воздействием разнообразных абиотических факторов [3].

В последнее время происходит активное развитие нанотехнологий. Феномен наноразмерного парадокса свойств с переходом от микро- до наноразмеров до конца еще не изучен, но уже нашел достаточно широкое применение во всех отраслях: технике, медицине и ветеринарии [6]. Свойства наноматериалов, размером от 1 до 100 нм, крайне отличаются от свойств того же вещества в макроформе [2]. Малые размеры наночастиц дают им возможность образовывать связи с белками и нуклеиновыми кислотами, тем самым изменяя их свойства. Наночастицы также обладают высокой каталитической и реакционной активностью, что может приводить к чрезмерному образованию свободных радикалов и разрушению биологических структур клеток. Уникальные свойства наночастиц, их способность проникать сквозь биологические барьеры, влиять на метаболические процессы и структуру ДНК открывают широкие перспективы их использования в разнообразных сферах деятельности человека [8, 10].

В аспекте всестороннего внедрения результатов нанотехнологий в практику, остается открытым вопрос безопасности наночастиц при взаимодействии с организмом человека и сельскохозяйственных животных. Особое внимание в исследованиях уделяют наночастицам металлов. До сегодняшнего времени эффекты наночастиц металлов разделяли на 2 группы: