

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

*Список літератури*

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

**DYNAMIC OF CONTENT OF DOG BLOOD SERUM PROTEINS AT EXPERIMENTAL BABESIOSIS**

**Prus M.P., Krasnyanchuck I.V.**

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv*

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

УДК 619:616.993.192.6-07:636.1

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

**Прус М.П.**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ*

**Перегіняк Н.С.**

*Полтавська дослідна станція ІВМ НААН, м. Полтава*

**Джус П.П.**

*Інституту розведення і генетики тварин НАНУ, с. Чубинське*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Анаплазми на початку захворювання були округлої форми та великого розміру. У період носійства також мали округлу форму, але були дрібних розмірів.

Електронно-мікроскопічними дослідженнями встановлено, що анаплазми оточені щільною непроникною морулою (двошарове коло цитоплазми), всередині якої знаходяться «ініціальні тільця», кожне з яких оточене тонкою зовнішньою та внутрішньою мембраною. Такі скупчення паразитів назвали колоніями або мікроколоніями (рис. 1). Дрібні мікроколонії складаються з однієї-двох особин, а більші з декількох. При наявності двох паразитів колонія має витягнуту форму, три – трикутну, чотири – чотирикутну, понад чотири – круглясту [3, 5].

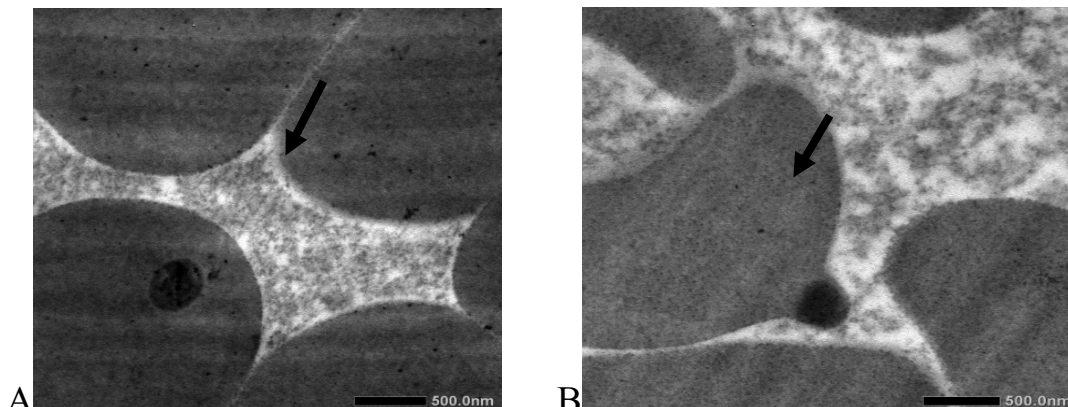


Рис. 1 А, В – *Anaplasma phagocytophilum* на периферії еритроцита (x8000)

Серед серологічних методів діагностики імуноферментний аналіз найбільш високочутливий [6]. Цим методом можна діагностувати анаплазмоз не лише у тварин, що хворіють, але і визначити титр антитіл у тварин, що перехворіли [2]. Чутливість набору, який ми використовували у своїх дослідженнях (ТОВ «Бальд») складає 98 %.

Таблиця 1 – Рівень титру антитіл у коней за анаплазмозу

Параметри оцінювання титру АТ	Дослідна група							Контрольна група		
	Перехворілі коні					Хворі коні		Референс-значення (норма)		
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3
Низький титр	+	+		+				Антитіла відсутні		
Середній титр					+			Антитіла відсутні		
Високий титр			+			+	+	Антитіла відсутні		

Як видно з таблиці 1, антитіла у крові як хворих, так і перехворілих тварин, можуть бути у високих титрах. Що свідчить про гострий перебіг або загострення процесу у хворих коней і реінвазію без видимих клінічних ознак у перехворілих тварин. Низький та середній титри антитіл виявляли лише у перехворілих коней. Середній титр антитіл вказує, на нашу думку, на хронічний перебіг захворювання, а низький титр – про носійство.

Поряд із вираженими клінічними ознаками за анаплазмозу в коней було відмічено цитогенетичні порушення ядровмісних клітин їх периферичної крові.

Таблиця 2 – Цитогенетичні параметри соматичних клітин кобил новоолександрівської ваговозної породи, інвазованих кровопаразитами

Цитогенетичні параметри	Група тварин, n=5	
	Дослідна	Контрольна
ЛМЯ	5,0±0,56 *	3,0±0,25
ДЯ	0,67±0,37	0,6±0,17
АП	3,07±0,05*	2,2±0,25
МІ	1,33±0,67	1,8±0,49
А	4,57±0,92	2,65±1,25
ПП	1,77±1,08	0
АРЦРХ	5,3±1,33*	1,25±0,77
ХР	3,94±1,04	2,62±0,66
ХФ	6,05±1,18*	2,13±0,20

Примітка: – при  $p < 0,05$

Згідно даних таблиці, варто відмітити статистично вірогідне підвищення частоти лімфоцитів з мікроядрами ( $p < 0,05$ ) у кобил дослідної групи порівняно із контрольною. Це вказує на комплексну дестабілізацію геному їх організму за впливу факторів інфекційної природи. Також, у інвазованих тварин порівняно із контролем був вищим рівень елімінації клітин шляхом апоптозу ( $p < 0,05$ ).

Таким чином відбувається захист клітинних популяцій від накопичення клітин із генетичними порушеннями, що перешкоджають нормальному їх функціонуванню.

У тварин дослідної групи відмічали статистично вищі значення частоти асинхронного розходження централізованих районів хромосом і відсотку хромосомних фрагментів. Різниця з контролем достовірна  $p < 0,05$ .

**Висновки.** 1. У результаті порівняльного аналізу ефективності використання різних методів діагностики анаплазмозу коней встановлено, що світлова мікроскопія дає змогу швидко визначити наявність збудника в організмі, але її точність знаходиться у прямій залежності від якості виготовлених мазків. Електронна мікроскопія особливо інформативна при змішаній інвазії, але відсутність обладнання, кваліфікованого персоналу і значна вартість робіт не дозволяє широко застосовувати цей метод у практиці лікаря ветеринарної медицини. Найбільш високоефективним серед описаних методів виявився ІФА завдяки можливості кількісного визначення, високій чутливості і комерційній доступності.

2. У крові від хворих коней, анаплазми виявляли у вигляді рожево-фіолетових крапкоподібних включень округлої або овальної форми. Спостерігали високий титр антитіл у крові як хворих, так і перехворілих коней. Що свідчить про гострий перебіг або загострення процесу у хворих коней і реінвазію без видимих клінічних ознак у перехворілих тварин.

3. У периферичній крові виявлено вірогідне підвищення кількості лімфоцитів з мікроядрами, апоптозних клітин та відсотку хромосомних фрагментів порівняно із контролем. Це свідчить про інфекційно обумовлену дестабілізацію геному тварин за анаплазмозної інвазії.

**Перспективи подальших досліджень.** Актуальним є подальше вивчення епізоотології, патогенезу, розробки заходів боротьби з анаплазмозом коней. Випробувати і залучати в практику молекулярно-генетичні методи діагностики родової і видової приналежності збудників кровопаразитарних хвороб коней, що базуються на полімеразно-ланцюговій реакції (ПЛР).

*Список літератури*

1. Абрамов, И.В. Анаплазмозы животных / И.В. Абрамов, Н.И. Степанова, Л.П. Дьяконов. – Москва : Колос, 1965. – 240 с.
2. Акбаев, М.Ш. Паразитология и инвазионные болезни животных / М.Ш. Акбаев, А.А. Водянов, Н.Е. Косминков и др. – М.: Колос, 2000. – 743 с.: ил.
3. Атлас анатомии простейших, патогенных для человека и животных / Авакян А.А. – М: Медицина, 1976. – 311 с.
4. Галатюк, О.Є. Заразні хвороби коней / О.Є. Галатюк. – Житомир : Волинь, 2003. – 280 с.
5. Петешев, В.М. Анаплазми и анаплазмоз овец / В.М. Петешев. – Алма-Аты : Наука, 1975. – 237 с.
6. Самуилов, В.Д. Иммуноферментный анализ / В.Д. Самуилов // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – №12. – С. 9-15
7. Шельов, А.В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин : зб. наукових праць / А.В. Шельов, В. В. Дзіцюк // Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві : наук. зб. — К., 2005. — С. 210–213
8. Dumler, J.S., Reorganization of genera in families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophilum / A.F. Barbet, C.P. Bekker, J.S. Dumler // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001. V. 51. P. 2145 – 2165

**DIAGNOSIS OF ANAPLASMOSIS OF HORSES AND CYTOGENETIC DISORDERS OF THEIR ORGANISM AT INVASION BY HEMATOZOONS**

*Prus M.P.*

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

*Perehinyak N.S.*

*Poltava Experimental Station, Institute of Veterinary Medicine NAAS, Kyiv*

*Dzhus P.P.*

*Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS, v. Chubinskoe, Poltava*

*For the first time in Ukraine, there was established distribution, and clinical signs of anaplasmosis of horses. A comparison of diagnostic methods for anaplasmosis of horses has been carried out, and cytogenetic changes in the cells of their blood at this invasion have been studied. At this disease there was observed a high titer of antibodies in the blood of both diseased and convalescent animals. In blood smears from diseased horses, anaplasma were found as a pink-purple point inclusions of round or oval form.*

УДК 619:577.121:619:617.57:636.7

**МАРКЕРИ МЕТАБОЛІЗМУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ЗА ПЕРЕЛОМІВ ТРУБЧАСТИХ КІСТОК У СОБАК**

*Рубленко М.В., Єрошенко О.В.*

*Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква*

Найбільш поширеними та складними наслідками травм є переломи, серед яких за анатомо-топографічною локалізацією – переломи трубчастих кісток стегна, плеча, гомілки і передпліччя, які складають близько 85 % [1]. Переломи чи будь-яка травма кісток призводять не тільки до порушення цілісності кісткової тканини, а й зумовлюють різного ступеня пошкодження кровоносних судин, м'язів, зв'язок, сухожилків нервово-судинних пучків, суглобово-зв'язкового апарата [2].

Загоєння переломів є особливою формою запально-репаративного процесу, що характеризується диференціюванням клітин їх проліферацією, ремоделюванням новоутвореної кісткової тканини, формуванням органічного позаклітинного матриксу та його мінералізацією [3].

Водночас, науковці та практики значну увагу приділяють технічним питанням забезпечення умов сприятливого перебігу репаративного остеогенезу [2, 4, 5], тоді як патохімічна фаза цього процесу, залишається недостатньо вивченою, що обмежує можливості об'єктивної його фармакологічної корекції.

При цьому головну перевагу дослідники надають вивченню балансу в крові Са, Р, активності лужної фосфатази, останнім часом іншим мікроелементам (Mn, Mg) [2]. Проте доведено [6], що стан мінерального обміну може мати патогномонічне та діагностично-прогностичне значення лише при визначенні його показників у біоптатах кісткових регенератів.