structures of caspases 3, 8 and 9, which are subsequently manifested by polyclonal conjugated antibodies in the presence of chromogens, is a prerequisite.

Conclusion. The main markers of cell apoptosis are caspases 3, 8 and 9, both for exogenous and endogenous.

The immunohistochemical study identifies a number of features that need to be taken into account when determining caspases, among which the most important are fixation of tissues with zinc salts fixed; the antigen retrieval caspase 3 and 8 by microwaves in the presence of citrate buffer, and caspase 9 by the solution of Tween 20 and the use of specific monoclonal antibodies to the antigens of the corresponding caspases.

УДК 619:616.34-002:615.246:636.2.053

ОПТИМИЗАЦИЯ РЕАКЦИИ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФИТОЛЕКТИНОВ В КОМБИКОРМАХ ДЛЯ СВИНЕЙ

Напреенко А.В., к. вет. н., Добровольский С.А., аспирант
alenushka1301@gmail.com
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Введение. Лектины это белки, изучением которых в настоящее время занимаются многие исследователи. Для определения активности фитолектинов наиболее часто предлагается [2] реакция гемагглютинации (РГА). Данная реакция хорошо зарекомендовала себя в области диагностики инфекционной патологии животных и человека. Известно также, что скорость и выраженность РГА зависят от числа эритроцитов, концентрации и активности агглютинирующего агента, pH, температуры и многих других факторов.

Вместе с тем, в отношении использования РГА для выявления активности лектинов в кормах существует полиморфизм мнений. Для этих целей предлагается использовать нативную кровь, различные концентрации (1-3%) суспензий эритроцитов, существуют также различные взгляды на методику получения супернатанта, время экспозиции эритроцитарной взвеси с испытуемым экстрактом и т.д.

Следует также отметить и то, что желудочно-кишечные расстройства незаразного происхождения доминируют в нозологическом профиле молодняка свиней. Гастриты, гастроэнтериты и энтероколиты могут охватывать до 30-40 % поросят-отъемышей, а в некоторых хозяйствах болезни данной группы регистрируют практически у всех поросят [1]. Известно также и то, что одной из причин, предрасполагающих расстройства пищеварения являются так называемые антипитательные вещества, к числу которых относятся лектины.

Учитывая вышеизложенное, целью исследований явилась оптимизация РГА для выявления активности лектинов в концентрированных кормах, а также определение уровня фитогемагглютинирующей лектиновой активности в разных образцах кормов.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины», на базе лаборатории кафедры клинической диагностики.

Объектом исследования являлась реакция гемагглютинации, материалом – образцы комбикорма СК-16 для поросят-отъемышей из разных регионов страны, предметом – концентрация эритроцитарной взвеси, методика экстрагирования лектинов из комбикормов и время учета реакции.

Реакцию проводили при комнатной температуре, результат (гемагглютинацию) учитывали через 30, 60, 90 и 120 минут.

Кровь для исследований получали от здорового крупного рогатого скота. Из нативной, гепаринизированной крови путем центрифугирования с 0,9% NaCl получали 1, 2 и 4 % суспензию эритроцитов.

Опытные образцы комбикорма измельчались на мельнице, смешивались с 0,9% NaCl в соотношении 1:10, 2:10 и 4:10. Затем образцы находились на магнитной мешалке в течение 2 часов, после чего центрифугировались при 3000 об/мин на протяжении 30 минут.

Идентификацию ГА активности лектинов осуществляли на иммунологических планшетах с U-образными лунками посредством смешивания в разных соотношениях (1:1, 1:2 и 2:1) супернатантов с цельной кровью и различными суспензиями эритроцитов.

В контроле, вместо супернатанта использовался 0,9% NaCl. Постановка реакций проводилась в 7 аналитических повторностях.

После оптимизации режима постановки и учёта реакции проводили сравнительную оценку активности лектинов в образцах комбикормов из разных регионов Беларуси. Титр гемагглютинирующей активности определялся как величина обратная максимальному разведению, показывающему гемагглютинацию.

Результаты исследований. Исследованиями отмечено, что использование цельной крови для постановки РГА не является адекватным, поскольку количество эритроцитов в единице объёма крови сравнительно велико и вне зависимости от концентрации супернатанта и типа соотношения между исследуемыми средами в лунках формируется интенсивно-красное мутноватая субстанция, которая с течением времени (вплоть до 120 минуты) не претерпевает изменений. Вместе с тем 1, 2 и 4 % суспензии эритроцитов продемонстрировали разный диагностический результат. Так, эритроцитарная взвесь в 4% концентрации продемонстрировала сходный результат с таковым, описанным для цельной крови – рабочие соотношения всех испытанных концентраций супернатанов приводили к формированию мутного облачка в лунках планшета. Обращает на себя внимание факт того, что к 90 минуте в лунках начинало происходить формирование эритроцитарного осадка, совместно с "зонтичным" гемагглютинирующим образованием, которое морфологически интерпретировать и дифференцировать от осадка эритроцитов как таковых, не представлялось возможным в виду высокой численности клеток. В тоже время 1 и 2% процентные эритроцитарные суспензии показали в целом сходные и диагностически приемлемые результаты – в лунках контроля через час экспозиции происходило формирование классической, описанной во многих источниках литературы "пуговки" – плотной и компактной точки, состоящей из эритроцитов, которая расположена в эпицентре дна U-ячейки лунки. В то же время, в лунках с разными концентрациями супернатантов констатировалось "рыхлое" образование, сравнительно (с пуговкой) большое по площади в виде "зонтика" из гемагглютинировавших под влиянием искомого вещества эритроцитов. Это образование занимало собой практически всю площадь дна U-образной лунки с поднимающимся вверх периферическим профилем, который образно напоминал купол перевернутого зонта.

Важным представляется и тот факт, что оптимальным соотношением супернатанта с суспензией является 2:1. Данное соотношение исходных компонентов давало наиболее четкую и безапелляционную для трактовки картину (описанную выше) как в контрольных, так и опытных образцах.

Отмечено, что гемагглютинирующая активность лектинов исследуемых кормов зависела от области\происхождения сырья. При этом гемагглютинирующая активность лектинов, полученных из проб комбикорма Брестской области была относительно низкой и балансировала в диапазоне 128-256. В тоже время в пробах комбикормов, полученных в Минской области гемагглютинирующая активность проб, составляла 256-512, что существенно выше таковых данных, полученных для Брестского региона.

Выводы. Для определения фитогемагглютинирующей активности лектинов в комбикормах для животных наиболее оптимальным режимом постановки РГА является

использование супернатанта (4:10) и 1-2% суспензии эритроцитов в соотношени 2:1. Фитогемагглютинирующая активность лектинов присуствует в комбикормах для поросят отъемышей в разных регионах Беларуси. Сырьё для комбикормов в центральном регионе страны содержит большее количество лектинов, что может быть одной из причин желудочно-кишечных расстройств у целевой группы поросят. Однако данная гипотеза требует дальнейшей экспериментальной проверки.

УДК 619:636.7:612.3

ДЕЯКІ КЛІНІКО-ГЕМАТОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ГАСТРОЕНТЕРИТУ СОБАК

Підгорна В.О. магістр, Сапронова В.О. : к. с.-г. н., доцент
vladapodgornaya@ukr.net,
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Вступ. Серед хвороб органів травлення гастроентерити займають перше місце за поширеністю і обумовлюють загибель 34,73% собак від загального падежу.

Найбільш часто гастроентерити реєструються у цуценят, молодих собак зі зниженою резистентністю, захворюваність яких досягає 40%, а смертність серед хворих - 45-50%.

За останні роки відбувся прогрес у ветеринарній гастроентерології по вивченню етіології, патогенезу, діагностики, лікування і профілактики гастроентеритів і ентеритів у собак. Незважаючи на досягнуті успіхи, такі важливі питання цієї проблеми, як етіологія, патогенез, клініко-морфологічні зміни, діагностика та заходи боротьби при гастроентеритах у собак не знайшли остаточного вирішення. До сих пір повністю не з'ясовано ступінь порушення водно-електролітного обміну і кислотно-основного стану при тяжкому і вкрай тяжкому перебігу гастроентеритів у собак. Часто повторювана блювота, тяжкий і стійкий перебіг діареї призводять до розвитку зневоднення організму, дистрофічних змін у печінці, порушення роботи серцево-судинної системи і видільної функції нирок. Найбільш важко гастроентерити у собак перебігають при залученні в патологічний процес печінки і нирок. Існує безпосередній зв'язок між функціональною діяльністю цих органів зі зміною біохімічного статусу крові і підтриманням гомеостазу на фізіологічно нормальному рівні. Тому доцільно використовувати засоби, що усувають порушення водно-електролітного і кислотно-лужного стану організму у хворих тварин, а також з метою знешкодження і виведення з організму токсичних речовин.

Вивченню ефективності різних препаратів і схем лікування при гастроентеритах у молодняку сільськогосподарських тварин різної етіології, присвячено значну кількість робіт і в меншій мірі у собак.

Слід зазначити, що в більшості випадків лікування собак, хворих на гастроентерит з помірно-тяжким і тяжким перебігом хвороби, залишається малоефективним і вимагає застосування засобів інтенсивної терапії з метою усунення порушень гомеостазу.

Актуальним є розробка комплексного лікування хворих собак з урахуванням відновлення порушень водно-електролітного, білкового, пігментного обміну, кислотно-лужного стану та функціональної діяльності паренхіматозних органів.

Мета – встановити причини, особливості перебігу, клініко-морфологічні зміни, принципи та методи діагностики, розробити ефективні комплексні заходи лікування собак, хворих на гастроентерит.

Матеріал та методи. У відповідності з поставленими завданнями, досліди проводили на клінічно здорових та хворих на гастроентерит собаках. Дослідження клінічного статусу проводили за загальноприйнятою методикою. Визначали вік, вгодованість, загальний стан