

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ АФЛАТОКСИКОЗУ ТЕЛЯТ

1

(21) 2004032126

(22) 23.03.2004

(24) 17.01.2005

(46) 17.01.2005, Бюл. № 1, 2005 р.

(72) Митрофанов Олександр Олександрович, Павлов Михайло Єфремович, Митрофанов Олександр Васильович

(73) Харківська державна зооветеринарна академія

(57) 1. Спосіб діагностики афлатоксикозу телят, який включає виявлення клінічних ознак і відбір та дослідження пунктату центральних органів гемопоєзу, який відрізняється тим, що при огляді тварин на присутність сухості, тріщин з подальшим відлученням кірочок епітелію і появу "мармуровості" носового дзеркала, а також випадіння

2

кінцевої частини прямої кишки з крововиливами паралельно проводять відбір проби кістково-мозкового пунктату (КМП) та його дослідження.

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що відбір проби КМП проводять проколом грудної кістки в межах другого-третього сегмента на глибину 1,5 - 3,0 см в еритроцитарний меланжер.

3. Спосіб за п. 2, який відрізняється тим, що дослідження проводять шляхом розбавлення фізрозчином проби КМП в еритроцитарному меланжері і розрахунку ядерних форм за лейкоцитарною формулою, а потім при відповідних значеннях показників кількості діагностують форми афлатоксикозу. 45 - 30 тис. одиниць в 1 мкл - підгостра, 30 - 15 тис. одиниць в 1 мкл - хронічна

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини, зокрема, до способів діагностики афлатоксикозу телят.

Сучасна теоретична і практична ветеринарна медицина досить швидко, точно і надійно діагностує гострі форми афлатоксикозів. В основі діагнозу лежить позитивність результатів пошуку афлатоксинів в кормах і в фрагментах трупу або туші різними хроматографічними методами (тонкошарова хроматографія, газова і таке інше).

Значно трудніше діагностуються хронічні варіанти афлатоксикозів.

При їх діагностиці присутність афлатоксинів вищевказаними методами часто встановлюються в пробах підозрілого корму, в фрагментах трупу або туші. Проте за низької концентрації в них афлатоксинів методи хроматографії їх не встановлюють. Положення з діагностикою хронічних афлатоксикозів становиться ще більш тяжким в випадках звичайної виробничої заміни кормів, у ви-

неннях, вимагають суворого обліку і аналізу рекомендаційних, клініко-біохімічних та патологоанатомічних характеристик при їх діагностиці

Велике значення в діагностиці таких форм афлатоксикозів може мати зняття з організму додаткових характеристик, зокрема гематологічних: розгорнутих деталізованих цитологічних характеристик периферичної крові та центральних органів гемопоєзу. Зняття саме цих характеристик необхідно у зв'язку з тим, що за існуючими науковими уявленнями афлатоксини викликають інволюцію тимусу, знижують активність клітинного імунітету, пригнічують загальну імунну активність.

Відомі способи діагностики афлатоксикозу телят за клінічними ознаками: репресивність, жовтуха, набряк підщелепного простору, діарея і в важких випадках - колапс, який закінчується смертю. У хворих тварин спостерігається мікроцитарна анемія, підвищення рівня загального і зв'язаного білірубіну в сироватці [Кравченко Л.В., Тутельян Р.А. Микотоксини // Ветеринарна хімія і фармако-

Найбільш близький спосіб діагностики афлатоксикозу телят, що включає візуальний огляд та виявлення таких симптомів, як пригнічення, відсутність реакції на зовнішні подразники, зниження больових і тактильних відчуттів, поноси з виділенням в фекаліях слизу та крові.

В крові хворих тварин знижується загальна кількість лейкоцитів. В лейкограмі зростає кількість сегменто-ядерних форм і знижується число лімфоцитів [Курманов А. Микотоксини и их роль в патологии животных // Ветеринария - 1981. - №11. - С.92-96].

Цей спосіб також потребує багато часу для виявлення клінічних ознак і високої кваліфікації фахівців, окрім того точність і ефективність не завжди на відповідному рівні.

Задача корисної моделі - удосконалення способу диференційної діагностики афлатоксикозу телят шляхом прижиттєвого виявлення клінічних ознак та аналізу розгорнутих деталізованих цитологічних характеристик центральних органів гемопоєзу, що підвищує ефективність і точність, виключаючи суб'єктивізм.

Задача вирішується тим, що в способі диференційної діагностики афлатоксикозу телят, включаючи виявлення клінічних ознак, відбір та дослідження центральних органів гемопоєзу, згідно корисної моделі, здійснюють огляд тварин на присутність сухості, тріщин з подальшим відлученням кірочок епітелії і появи "мармуровості" носового дзеркала, а також випадання кінцевої частини прямої кишки з крововиливами, паралельно проводять відбір проби кістково-мозкового пунктату та його дослідження.

Відбір проби кістково-мозкового пунктату (КМП) проводять проколом грудної кістки в межах другого-третього сегменту на глибину 1,5-3,0 см.

Дослідження проводять шляхом розбавлення рідиною Тюрка проби КМП в еритроцитарному меланжері і розрахунку ядерних форм по лейкоцитарній формулі, а потім при відповідних значеннях показників кількості діагностують форми афлатоксикозу: 45-30 тис. одиниць в 1 мкл - підгостра, 30-15 тис. одиниць в 1 мкл - хронічна.

Відбір проби кістково-мозкового пунктату шляхом проколу грудної кістки в межах 2-3-го сегменту на глибину 1,5-3,0 см являється оптимальним варіантом, так як 4-5 сегменти значно тонкіші і можлива перфорація грудної кістки. Крім того, взята проба пунктату має потрібну кількість клітин мозку без домішків крові, що не може забезпечити пункція маклака, сідничного горбу, епіфіза плечової кістки і ребер.

Дослідження кістково-мозкового пунктату проводять при температурі, яка забезпечує можливість зберегти його від зсідання протягом 2-3 хв. з моменту його одержання. Цього часу достатньо для приготування мазків і зарядки меланжерів. де

Приклади конкретних виконання.

Першу серію дослідів з введенням телятам сублетальних доз афлатоксину проводили за принципом періодів. В період введення афлатоксини проводили триразове дослідження периферичної крові та кістково-мозкового пунктату, а також клінічне дослідження тварин за загальноприйнятною схемою і враховували температуру тіла, пульс, дихання, стан окремих органів і систем організму, а також споживання корму і води, поведінку тварин та інше.

Дані досліджень периферичної крові і кістково-мозкового пунктату наведені в таблицях 1, 2.

Представлені в таблицях 1, 2 показники складу периферичної крові і кістково-мозкового пунктату у телят в період до введення афлатоксину в основному відповідають загальним показникам нормального морфологічного складу крові і кістково-мозкового пунктату великої рогатої худоби. Але разом з цим мало місце значне зменшення кількості еозинофілів в периферичній крові піддослідних телят (більше ніж 50%). Це пов'язано із стресовим станом у тварин при їх фіксації в період відбору крові та кістково-мозкового пунктату (КМП).

Після встановлення загального клінічного стану тварин і визначення середніх показників периферичної крові і КМП в попередній період, що в подальшому служило контролем, телятам першої групи (10 голів) вводили афлатоксин в дозі 1,0 мг/кг маси тіла триразово, а другий - по 0,01 мг/кг маси тіла щоденно і проводили дослідження за загальноприйнятною методикою.

В період досліджень врахування змін, що відбулися в периферичній крові і КМП телят обох груп здійснювали через 10, 20 і 30 днів, незалежно від введеної дози афлатоксину та кратності введення. Контроль за загальним станом телят та іншими клінічними ознаками проводили щоденно.

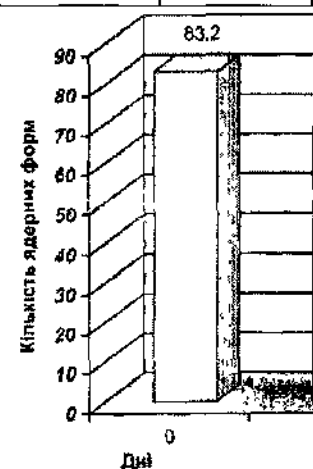
Через 10 днів, після введення афлатоксину в дозі 1,0 мг/кг маси тіла, носове дзеркало ставало сухим і з'являлися тріщинки; загальний стан був задовільний, температура тіла, пульс і дихання були в межах фізіологічних норм. У телят, які одержали дозу 0,01 мг/кг маси тіла афлатоксину особливих змін не спостерігалось. При дослідженні окремих органів і систем організму відхилень від загальноприйнятих показників норми не було виявлено.

Результатом дослідження периферичної крові і КМП у телят на 10-й день після введення афлатоксину наведені в таблицях 3, 4.

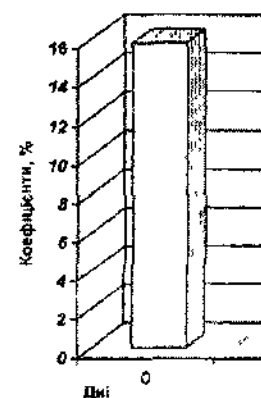
Аналіз представлених в таблицях даних показує, що в периферичній крові телят відбулося незначне, недостовірне збільшення вмісту гемоглобіну, а також кількості еритроцитів та лейкоцитів.

Зменшення кількості гемоглобіну і еритроцитів

Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліді
Абсолютна кількість лімфоцитів	5,6±4,0	10,3±2,2
Абсолютна кількість моноцитів	0,58±1,1	1,69±2,3
Абсолютна кількість нейтрофілів	2,70±5,0	3,5±7,0
Абсолютна кількість еозинофілів	0,1±4,2	1,8±3,0
Абсолютна кількість базофілів	0,07±1,8	0,05±2,1
Абсолютна кількість еритроцитів	8,0±0,4	7,8±0,3



Гістограма змін кількості ядерних форм



0,1±0,0	10,3±1,1
3,1±0,6	2,7±0,8
0,1±0,04	-
0,2±0,1	0,1±0,1
0,4±0,1	0,2±0,04
57,3±2,9	50,2±2,3
15,8±1,7	6,0±0,4
3,1±0,6	1,1±0,6
10,9±1,1	7,1±1,1
24,8±2,5	21,7±2,6
61,2±1,8	70,1±2,7
64,1±4,2	46,4±7,4

Таблиця 7

у піддослідних
патоксину, M±m

Введення афлатоксину	Через 30 днів після введення афлатоксину
104,0±4,0	93,0±9,0
7,9±0,5	6,3±0,7
83,2±5,4	34,6±3,5
0,5±0,1	-
1,0±0,2	0,2±0,1
2,8±0,4	3,7±0,7
17,5±2,3	24,4±1,9
6,5±0,6	7,6±1,5
8,1±0,9	12,4±1,3
3,1±0,6	3,0±0,6
0,1±0,04	-
0,2±0,1	0,1±0,1
0,4±0,1	0,1±0,1
57,3±2,9	46,2±4,1
15,8±1,7	7,0±1,4
3,1±0,6	-
10,9±1,1	7,0±2,2
24,8±2,5	18,0±2,4
61,2±1,8	75,0±3,9
64,1±4,2	33,3±3,6

Таблиця 8

і експериментальному афлатоксикозі

Кістково-мозковий пунктат		
мкл)	До введення токсину	На 30-ий день досліді

телят спостерігали помітні зміни загального стану, зниження апетиту. На носовому дзеркальці у всіх піддослідних тварин з'явилися глибокі больові тріщини. Шкіра стала сухою, на окремих її ділянках з'явилися алопеції. При дослідженні печінки було встановлено розширення її меж і болючість при глибокій пальпації в місці її розміщення. Разом з тим, температура тіла, пульс та дихання у тварин залишалися в межах загальноприйнятих показників норми.

Дані про дослідження периферичної крові і кістково-мозкового пунктату у піддослідних тварин на 20-й день досліді наведені в таблицях 5 та 6.

З наведених в таблиці 5 даних видно, що в периферичній крові в цей період значних змін не відбулося; збільшення кількості еритроцитів і лейкоцитів виявилось недостовірним, проте значно збільшилась кількість еозинофільних форм клітин з 1,7±0,3 до 6,6±1,5.

В КМП (табл. 6) встановлене закономірне зниження ядерних форм з 47,7±3,2 до 47,7±3,2 10⁹/л (майже на 48% від норми - 83,2±5,4·10⁹/л) (P<0,005) і зменшення коефіцієнтів регенерації мієлобластичних та еритробластичних форм

На 30-й день досліді у всіх тварин проявилися явно виражені клінічні ознаки афлатоксикозу. Вони характеризувалися явним пригніченням, погіршенням апетиту. Видимі слизові оболонки набули жовтого забарвлення. На носовому дзеркальці в усіх телят утворилися глибокі тріщини, місцями вкрилися кірочками. Зовні носове дзеркальце походило на мармур, із носових порожнин виділявся серозно-катаральний ексудат

домішками крові та слизу, а у 14 телят випадіння кінцевої частини прямої кишки з крововиливами. Тварини скреготіли зубами, стогнали, особливо при встановленні після тривалого відпочинку. При глибокій пальпації печінки відмічали збільшення її перкусійних меж і виражену хворобливість. Температура тіла, пульс і дихання зберігалися в межах загальноприйнятих показників норми.

В КМП (кістково-мозковому пунктаті) піддослідних телят на 30-й день введення афлатоксину закономірно знижувалась кількість ядерних форм з 83,2±5,4 до 34,6±3,5·10⁹/л (P<0,001) (табл. 7). Причому така закономірність прослідковується на протязі всього періоду дослідів (рис. 1).

Зменшилася абсолютна кількість мієлобластичних і еритробластичних форм клітин, абсолютна кількість лімфоцитів та еритроцитів (табл. 8).

Під дією афлатоксинів в кістково-мозковому пунктаті телят відбувається достовірне і закономірне зменшення коефіцієнтів регенерації мієлобластичних і еритробластичних форм клітин (рис. 2, 3).

Це також підтверджує аналіз даних дозрівання мієлобластичних і еритробластичних форм (рис. 4, 5) і засвідчує про зниження регенеративної функції кісткового мозку.

Одержані дані засвідчують, що в виробничих умовах можна прижиттєве діагностувати афлатоксикоз комплексно, враховуючи симптоми захворювання та показники кістково-мозкового пунктату.

Таблиця 1

Показники периферичної крові піддослідних телят до введення афлатоксину, M±m

Показники	Одиниці виміру	Піддослідні тварини	Загальноприйняті нормативи для даного виду
Гемоглобін	г/л	105±4,0	90,0-120,0
Еритроцити	·10 ¹² /л	7,2±0,4	5,0-7,5
Лейкоцити	·10 ⁹ /л	9,1±0,4	4,5-12,0
Лейкограма	%	-	-
Мієлоцити	%	-	-
Юні	%	-	0-1,0
Паличкоядерні	%	4,8±1,5	2,0-5,0
Сегментоядерні	%	22,7±2,3	20,0-35,0
Еозинофіли	%	1,7±0,3	3,0-8,0
Базофіли	%	0,8±0,1	0-2,0
Моноцити	%	6,4±0,6	2,0-7,0
Лімфоцити	%	63,6±3,0	48,0-65,0

Показники	Одиниці виміру	Піддослідні тварини	Загальноприйняті нормативи для даного виду
Гемоглобін	г/л	104,0±4,0	90,0-120,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/л$	7,2±0,5	5,0-7,5
Загальна кількість ядерних форм	$\cdot 10^9/л$	83,2±5,4	65,0-90,0
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	0,3-1,0
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,5-1,2
Мієлоцити	%	2,5±0,6	1,2-3,0
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	2,4-3,5
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	6,6-18,0
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	5,3-7,7
Лімфоцити	%	8,1±0,9	7,9-10,1
Моноцити	%	3,1±0,6	1,2-5,2
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	0,1-0,3
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1-0,5
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,2-0,7
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	48,5-60,4
Коефіцієнт регенерації	%	14,9±1,7	14,0-17,8
Еритробластограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	2,4-5,2
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	9,3-12,0
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	24,5-31,6
Нормобласти	%	61,2±1,8	60,8-71,0
Коефіцієнт регенерації	%	64,0±4,2	45,8-65,5

Таблиця 3

Показники периферичної крові піддослідних телят через 10 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 10 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	105,0±4,0	113,0±8,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/л$	8,0±0,4	8,4±0,5
Лейкоцити	$\cdot 10^9/л$	9,1±0,4	11,4±0,7
Лейкограма			
Мієлоцити	%	-	-
Юні	%	-	0,4±0,3
Паличкоядерні	%	7,0±1,5	8,1±1,6
Сегментоядерні	%	22,7±2,3	21,2±2,9
Еозинофіли	%	1,7±0,3	5,8±1,8
Базофіли	%	0,8±0,1	0,7±0,1
Моноцити	%	6,4±0,6	9,7±1,1
Лімфоцити	%	61,4±3,0	54,1±3,4

Таблиця 4

Показники кістково-мозкового пунктату у піддослідних телят через 10 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 10 днів після введення афлатоксину
-----------	----------------	-------------------------	--

Мієлобласти
Промієлоцити
Мієлоцити
Метамієлоцити
Паличкоядерні
Сегментоядерні
Лімфоцити
Моноцити
Мегакаріоцити
Ретикулярні клітини
Плазматичні клітини
Еритробластичні клітини
Коефіцієнт регенерації
Еритробластограма
Проеритробласти
Базофільні еритробласти
Поліхроматофільні еритробласти
Нормобласти
Коефіцієнт регенерації

Показники периферичної крові піддослідних

Показники	Одиниці виміру
Гемоглобін	г/л
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/л$
Лейкоцити	$\cdot 10^9/л$
Лейкограма	
Мієлоцити	%
Юні	%
Паличкоядерні	%
Сегментоядерні	%
Еозинофіли	%
Базофіли	%
Моноцити	%
Лімфоцити	%

Показники кістково-мозкового пунктату у піддослідних

Показники
Гемоглобін
Еритроцити
Загальна кількість ядерних форм
Мієлограма
Мієлобласти
Промієлоцити
Мієлоцити



УКРАЇНА

(19) UA (11) 4238 (13) U

(51) 7 A61B1/00,A61B3/00,A61B10/00,
A61D7/00,A01K67/02МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ АФЛАТОКСИКОЗУ ТЕЛЯТ

1

(21) 2004032126

(22) 23.03.2004

(24) 17.01.2005

(46) 17.01.2005, Бюл. № 1, 2005 р.

(72) Митрофанов Олександр Олександрович, Павлов Михайло Єфремович, Митрофанов Олександр Васильович

(73) Харківська державна зооветеринарна академія

(57) 1. Спосіб діагностики афлатоксикозу телят, який включає виявлення клінічних ознак і відбір та дослідження пунктату центральних органів гемопоезу, який відрізняється тим, що при огляді тварин на присутність сухості, тріщин з подальшим відлущенням кірочок епітелію і появу "мрамуровості" носового дзеркала, а також випадіння

2

кінцевої частини прямої кишки з крововиливами паралельно проводять відбір проби кістково-мозкового пунктату (КМП) та його дослідження.

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що відбір проби КМП проводять проколом грудної кістки в межах другого-третього сегмента на глибину 1,5 - 3,0 см в еритроцитарний меланжер.

3. Спосіб за п. 2, який відрізняється тим, що дослідження проводять шляхом розбавлення фізрозчином проби КМП в еритроцитарному меланжері і розрахунку ядерних форм за лейкоцитарною формулою, а потім при відповідних значеннях показників кількості діагностують форми афлатоксикозу: 45 - 30 тис. одиниць в 1 мкл - підгостра; 30 - 15 тис. одиниць в 1 мкл - хронічна.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини, зокрема, до способів діагностики афлатоксикозу телят.

Сучасна теоретична і практична ветеринарна медицина досить швидко, точно і надійно діагностує гострі форми афлатоксикозів. В основі діагнозу лежить позитивність результатів пошуку афлатоксинів в кормах і в фрагментах трупів або туші різними хроматографічними методами (тонкошарова хроматографія, газова і таке інше).

Значно трудніше діагностуються хронічні варіанти афлатоксикозів.

При їх діагностиці присутність афлатоксинів вищевказаними методами часто встановлюються в пробах підозрілого корму, в фрагментах трупів або туші. Проте за низької концентрації в них афлатоксинів методи хроматографії їх не встановлюють. Положення з діагностикою хронічних афлатоксикозів становиться ще більш тяжким в випадках звичайної виробничої заміни кормів, у випадках чергування чистих кормів уражених афлатоксинами і в випадках довгого відриву терміну діагностики від терміну розвитку в організмі змін, які характерні для хронічного афлатоксикозу. В зв'язку з цим хронічні форми афлатоксикозів, особливо при вищевказаних ситуаційних усклад-

неннях, вимагають суворого обліку і аналізу рекомендаційних, клініко-біохімічних та патологоанатомічних характеристик при їх діагностиці.

Велике значення в діагностиці таких форм афлатоксикозів може мати зняття з організму додаткових характеристик, зокрема гематологічних: розгорнутих деталізованих цитологічних характеристик периферичної крові та центральних органів гемопоезу. Зняття саме цих характеристик необхідне у зв'язку з тим, що за існуючими науковими уявленнями афлатоксини викликають інволюцію тимусу, знижують активність клітинного імунітету, пригнічують загальну імунну активність.

Відомі способи діагностики афлатоксикозу телят за клінічними ознаками: репресивність, жовтуха, набряк підщелепного простору, діарея і в важких випадках - колапс, який закінчується смертю. У хворих тварин спостерігається мікроцитарна анемія, підвищення рівня загального і зв'язаного білірубину в сироватці [Кравченко Л.В., Тутельян В.А. Микотоксины // Всесоюзные химические общества им. Д.И. Менделеева. - 1978. - Т.23. - №4, - С.390-406; Петрович С.В. Микотоксикозы животных // М.: Росагропромиздат, 1991. - С.206-220].

Для виявлення цих симптомів необхідно тривалий час оглядати тварин, стан здоров'я яких

(13) U

(11) 4238

(19) UA

погіршується щоденно. Окрім цього вказаному способу діагностики властивий суб'єктивізм оснований на кваліфікації і досвіді.

Найбільш близький спосіб діагностики афлатоксикозу телят, що включає візуальний огляд та виявлення таких симптомів, як пригнічення, відсутність реакції на зовнішні подразники, зниження больових і тактильних відчуттів, поноси з виділенням в фекаліях слизу та крові.

В крові хворих тварин знижується загальна кількість лейкоцитів. В лейкограмі зростає кількість сегменто-ядерних форм і знижується число лімфоцитів [Курманов А. Микотоксини и их роль в патологии животных // Ветеринария. - 1981. - №11. - С.92-96].

Цей спосіб також потребує багато часу для виявлення клінічних ознак і високої кваліфікації фахівців, окрім того точність і ефективність не завжди на відповідному рівні.

Задача корисної моделі - удосконалення способу диференційної діагностики афлатоксикозу телят шляхом прижиттєвого виявлення клінічних ознак та аналізу розгорнутих деталізованих цитологічних характеристик центральних органів гемопоезу, що підвищує ефективність і точність, виключаючи суб'єктивізм.

Задача вирішується тим, що в способі диференційної діагностики афлатоксикозу телят, включаючи виявлення клінічних ознак, відбір та дослідження центральних органів гемопоезу, згідно корисної моделі, здійснюють огляд тварин на присутність сухості, тріщин з подальшим відлученням кірочок епітелію і появи "мрамуровості" носового дзеркала, а також випадання кінцевої частини прямої кишки з крововиливами, паралельно проводять відбір проби кістково-мозкового пунктату та його дослідження.

Відбір проби кістково-мозкового пунктату (КМП) проводять проколом грудної кістки в межах другого-третього сегменту на глибину 1,5-3,0 см.

Дослідження проводять шляхом розбавлення рідиною Тюрка проби КМП в еритроцитарному меланжері і розрахунку ядерних форм по лейкоцитарній формулі, а потім при відповідних значеннях показників кількості діагностують форми афлатоксикозу: 45-30 тис. одиниць в 1 мкл - підгостра, 30-15 тис. одиниць в 1 мкл - хронічна.

Відбір проби кістково-мозкового пунктату шляхом проколу грудної кістки в межах 2-3-го сегменту на глибину 1,5-3,0 см являється оптимальним варіантом, так як 4-5 сегменти значно тонкіші і можлива перфорація грудної кістки. Крім того, взята проба пунктату має потрібну кількість клітин мозку без домішків крові, що не може забезпечити пункція маклака, сідничного горбу, епіфіза плечової кістки і ребер.

Дослідження кістково-мозкового пунктату проводять при температурі, яка забезпечує можливість зберегти його від зсідання протягом 2-3 хв. з моменту його одержання. Цього часу достатньо для приготування мазків і зарядки меланжерів, де проводять розбавлення і фарбування.

Рахунок формових елементів ведуть в 160 малих квадратах камери Горяєва.

Для визначення загальної кількості ядерних форм використовують не лейкоцитарний

змішувач, а еритроцитарний, так як наявність великої кількості ядерних форм ускладнює рахунок їх при розбавленні в лейкоцитарному змішувачі.

Приклади конкретного виконання.

Першу серію дослідів з введенням телятам сублетальних доз афлатоксину проводили за принципом періодів. В період введення афлатоксини проводили триразове дослідження периферичної крові та кістково-мозкового пунктату, а також клінічне дослідження тварин за загальноприйнятною схемою і враховували температуру тіла, пульс, дихання, стан окремих органів і систем організму, а також споживання корму і води, поведінку тварин та інше.

Дані досліджень периферичної крові і кістково-мозкового пунктату наведені в таблицях 1, 2.

Представлені в таблицях 1, 2 показники складу периферичної крові і кістково-мозкового пунктату у телят в період до введення афлатоксину в основному відповідають загальним показникам нормального морфологічного складу крові і кістково-мозкового пунктату великої рогатої худоби. Але разом з цим мало місце значне зменшення кількості еозинофілів в периферичній крові піддослідних телят (більше ніж 50%). Це пов'язано із стресовим станом у тварин при їх фіксації в період відбору крові та кістково-мозкового пунктату (КМП).

Після встановлення загального клінічного стану тварин і визначення середніх показників периферичної крові і КМП в попередній період, що в подальшому служило контролем, телятам першої групи (10 голів) вводили афлатоксин в дозі 1,0 мг/кг маси тіла триразово, а другій - по 0,01 мг/кг маси тіла щоденно і проводили дослідження за загальноприйнятною методикою.

В період досліджень врахування змін, що відбулися в периферичній крові і КМП телят обох груп здійснювали через 10, 20 і 30 днів, незалежно від введеної дози афлатоксину та кратності введення. Контроль за загальним станом телят та іншими клінічними ознаками проводили щоденно.

Через 10 днів, після введення афлатоксину в дозі 1,0 мг/кг маси тіла, носове дзеркало ставало сухим і з'являлися тріщинки; загальний стан був задовільний, температура тіла, пульс і дихання були в межах фізіологічних норм. У телят, які одержали дозу 0,01 мг/кг маси тіла афлатоксину особливих змін не спостерігалось. При дослідженні окремих органів і систем організму відхилень від загальноприйнятих показників норми не було виявлено.

Результатом дослідження периферичної крові і КМП у телят на 10-й день після введення афлатоксину наведені в таблицях 3, 4.

Аналіз представлених в таблицях даних показує, що в периферичній крові телят відбулося незначне, недостовірне збільшення вмісту гемоглобіну, а також кількості еритроцитів та лейкоцитів.

Зменшення кількості гемоглобіну і еритроцитів з $7,9 \pm 0,5$ до $6,3 \pm 0,5 \cdot 10^{12}/л$ в КМП також не достовірно.

А в КМП на 10-й день досліду у телят відбулися значні і достовірні зниження загальної кількості ядерних форм з $83,2 \pm 5,4$ до $69,0 \pm 7,3 \cdot 10^6/л$

і зниження коефіцієнтів регенерації мієлобластичних та еритробластичних форм відповідно з $14,9 \pm 1,7$ до $6,5\% \pm 0,5$ та з $64,0 \pm 4,2$ до $48,4\% \pm 5,6$ ($P < 0,001$).

На 20-й день після введення афлатоксину у телят спостерігали помітні зміни загального стану, зниження апетиту. На носовому дзеркальці у всіх піддослідних тварин з'явилися глибокі больові тріщини. Шкіра стала сухою, на окремих її ділянках з'явилися алопеції. При дослідженні печінки було встановлено розширення її меж і болючість при глибокій пальпації в місці її розміщення. Разом з тим, температура тіла, пульс та дихання у тварин залишалися в межах загальноприйнятих показників норми.

Дані про дослідження периферичної крові і кістково-мозкового пунктату у піддослідних тварин на 20-й день дослідження наведені в таблицях 5 та 6.

З наведених в таблиці 5 даних видно, що в периферичній крові в цей період значних змін не відбулося; збільшення кількості еритроцитів і лейкоцитів виявилось недостовірним, проте значно збільшилась кількість еозинофільних форм клітин з $1,7 \pm 0,3$ до $6,6\% \pm 1,5$.

В КМП (табл. 6) встановлене закономірне зниження ядерних форм з $47,7 \pm 3,2$ до $47,7 \pm 3,2 \cdot 10^9/\text{л}$ (майже на 48% від норми - $83,2 \pm 5,4 \cdot 10^9/\text{л}$) ($P < 0,005$) і зменшення коефіцієнтів регенерації мієлобластичних та еритробластичних форм.

На 30-й день дослідження у всіх тварин проявилися явно виражені клінічні ознаки афлатоксикозу. Вони характеризувалися явним пригніченням, погіршенням апетиту. Видимі слизові оболонки набули жовтого забарвлення. На носовому дзеркальці в усіх телят утворилися глибокі тріщини, місцями вкрилися кірочками. Зовні носове дзеркальце походило на мармур, із носових порожнин виділявся серозно-катаральний ексудат.

Шерсть набула матового відтінку і в межах ший з'явилися оголені місця.

Шкіра лишилася еластичною, на ній з'явилися відлущування епітелію, просочені ексудатом.

У всіх тварин з'явився понос, інколи з домішками крові та слизу, а у 14 телят випадіння кінцевої частини прямої кишки з крововиливами. Тварини скреготіли зубами, стогнали, особливо при вставанні після тривалого відпочинку. При глибокій пальпації печінки відмічали збільшення її перкусійних меж і виражену хворобливість. Температура тіла, пульс і дихання зберігалися в межах загальноприйнятих показників норми.

В КМП (кістково-мозковому пунктаті) піддослідних телят на 30-й день введення афлатоксину закономірно знижувалася кількість ядерних форм з $83,2 \pm 5,4$ до $34,6 \pm 3,5 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P < 0,001$) (табл. 7). Причому така закономірність прослідковується на протязі всього періоду дослідів (рис. 1).

Зменшилася абсолютна кількість мієлобластичних і еритробластичних форм клітин, абсолютна кількість лімфоцитів та еритроцитів (табл. 8).

Під дією афлатоксинів в кістково-мозковому пунктаті телят відбувається достовірне і закономірне зменшення коефіцієнтів регенерації мієлобластичних і еритробластичних форм клітин (рис. 2, 3).

Це також підтверджує аналіз даних дозрівання мієлобластичних і еритробластичних форм (рис. 4, 5) і засвідчує про зниження регенеративної функції кісткового мозку.

Одержані дані засвідчують, що в виробничих умовах можна прижиттєве діагностувати афлатоксикоз комплексно, враховуючи симптоми захворювання та показники кістково-мозкового пунктату.

Таблиця 1

Показники периферичної крові піддослідних телят до введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	Піддослідні тварини	Загальноприйняті нормативи для даного виду
Гемоглобін	г/л	$105 \pm 4,0$	90,0-120,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/\text{л}$	$7,2 \pm 0,4$	5,0-7,5
Лейкоцити	$\cdot 10^9/\text{л}$	$9,1 \pm 0,4$	4,5-12,0
Лейкограма	%		
Мієлоцити	%	-	-
Юні	%	-	0-1,0
Паличкоядерні	%	$4,8 \pm 1,5$	2,0-5,0
Сегментоядерні	%	$22,7 \pm 2,3$	20,0-35,0
Еозинофіли	%	$1,7 \pm 0,3$	3,0-8,0
Базофіли	%	$0,8 \pm 0,1$	0-2,0
Моноцити	%	$6,4 \pm 0,6$	2,0-7,0
Лімфоцити	%	$63,6 \pm 3,0$	48,0-65,0

Таблиця 2

Показники кістково-мозкового пунктату у телят до введення афлатоксину, $M \pm m$

Показники	Одиниці виміру	Піддослідні тварини	Загальноприйняті нормативи для даного виду
Гемоглобін	г/л	104,0 \pm 4,0	90,0-120,0
Еритроцити	10 ¹² /л	7,2 \pm 0,5	5,0-7,5
Загальна кількість ядерних форм	10 ⁹ /л	83,2 \pm 5,4	65,0-90,0
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5 \pm 0,1	0,3-1,0
Промієлоцити	%	1,0 \pm 0,2	0,5-1,2
Мієлоцити	%	2,5 \pm 0,6	1,2-3,0
Метамієлоцити	%	2,8 \pm 0,4	2,4-3,5
Паличкоядерні	%	17,5 \pm 2,3	6,6-18,0
Сегментоядерні	%	6,5 \pm 0,6	5,3-7,7
Лімфоцити	%	8,1 \pm 0,9	7,9-10,1
Моноцити	%	3,1 \pm 0,6	1,2-5,2
Мегакаріоцити	%	0,1 \pm 0,04	0,1-0,3
Ретикулярні клітини	%	0,2 \pm 0,1	0,1-0,5
Плазматичні клітини	%	0,4 \pm 0,1	0,2-0,7
Еритробластичні клітини	%	57,3 \pm 2,9	48,5-60,4
Коефіцієнт регенерації	%	14,9 \pm 1,7	14,0-17,8
Еритробластиграма			
Проеритробласти	%	3,1 \pm 0,6	2,4-5,2
Базофільні еритробласти	%	10,9 \pm 1,1	9,3-12,0
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8 \pm 2,5	24,5-31,6
Нормобласти	%	61,2 \pm 1,8	60,8-71,0
Коефіцієнт регенерації	%	64,0 \pm 4,2	45,8-65,5

Таблиця 3

Показники периферичної крові піддослідних телят через 10 днів після введення афлатоксину, $M \pm m$

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 10 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	105,0 \pm 4,0	113,0 \pm 8,0
Еритроцити	10 ¹² /л	8,0 \pm 0,4	8,4 \pm 0,5
Лейкоцити	10 ⁹ /л	9,1 \pm 0,4	11,4 \pm 0,7
Лейкограма			
Мієлоцити	%	-	-
Юні	%	-	0,4 \pm 0,3
Паличкоядерні	%	7,0 \pm 1,5	8,1 \pm 1,6
Сегментоядерні	%	22,7 \pm 2,3	21,2 \pm 2,9
Еозинофіли	%	1,7 \pm 0,3	5,8 \pm 1,8
Базофіли	%	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
Моноцити	%	6,4 \pm 0,6	9,7 \pm 1,1
Лімфоцити	%	61,4 \pm 3,0	54,1 \pm 3,4

Таблиця 4

Показники кістково-мозкового пунктату у піддослідних телят через 10 днів після введення афлатоксину, $M \pm m$

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 10 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	104,0 \pm 4,0	95,0 \pm 6,0
Еритроцити	10 ¹² /л	7,9 \pm 0,5	6,3 \pm 0,5
Загальна кількість ядерних форм	10 ⁹ /л	83,2 \pm 5,4	69,0 \pm 7,3

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 10 днів після введення афлатоксину
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	0,2±0,04
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,3±0,1
Мієлоцити	%	2,5±0,6	1,6±0,4
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	2,4±0,6
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	18,9±1,1
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	6,2±0,8
Лімфоцити	%	8,1±0,9	13,1±0,5
Моноцити	%	3,1±0,6	3,1±0,5
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1±0,5
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,2±0,04
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	53,9±1,5
Коефіцієнт регенерації	%	14,9±1,7	6,5±0,5
Еритробластиограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	1,8±0,6
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	10,0±0,9
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	20,1±2,0
Нормобласти	%	61,2±1,8	68,1±2,4
Коефіцієнт регенерації	%	64,0±4,2	48,4±5,6

Таблиця 5

Показники периферичної крові піддослідних телят через 20 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 20 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	105,0±4,0	103,0±6,0
Еритроцити	10 ¹² /л	8,0±0,4	8,5±0,5
Лейкоцити	10 ⁹ /л	9,1±0,4	14,3±1,6
Лейкограма			
Мієлоцити	%	-	-
Юні	%	-	-
Паличкоядерні	%	7,0±1,5	6,3±1,6
Сегментоядерні	%	22,7±2,3	12,8±1,8
Еозинофіли	%	1,7±0,3	6,6±1,5
Базофіли	%	0,8±0,1	1,0±0,2
Моноцити	%	6,4±0,6	10,6±1,9
Лімфоцити	%	61,4±3,0	63,0±2,4

Таблиця 6

Показники кістково-мозкового пунктату у піддослідних телят через 20 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 20 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	104,0±4,0	95,0±7,0
Еритроцити	10 ¹² /л	7,9±0,5	6,2±0,3
Загальна кількість ядерних форм	10 ⁹ /л	83,2±5,4	47,7±3,2
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	0,1±0,5
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,3±0,1
Мієлоцити	%	2,5±0,6	1,5±0,4
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	3,0±0,9
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	20,3±2,7

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 20 днів після введення афлатоксину
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	6,2±0,3
Лімфоцити	%	8,1±0,9	15,5±1,7
Моноцити	%	3,1±0,6	2,7±0,8
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	-
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1±0,1
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,2±0,04
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	50,2±2,3
Коефіцієнт регенерації	%	15,8±1,7	6,0±0,4
Еритробластиограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	1,1±0,6
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	7,1±1,1
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	21,7±2,6
Нормобласти	%	61,2±1,8	70,1±2,7
Коефіцієнт регенерації	%	64,1±4,2	46,4±7,4

Таблиця 7

Показники кістково-мозкового пунктату у піддослідних телят через 30 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 30 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	104,0±4,0	93,0±9,0
Еритроцити	·10 ¹² /л	7,9±0,5	6,3±0,7
Загальна кількість ядерних форм	·10 ¹² /л	83,2±5,4	34,6±3,5
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	-
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,2±0,1
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	3,7±0,7
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	24,4±1,9
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	7,6±1,5
Лімфоцити	%	8,1±0,9	12,4±1,3
Моноцити	%	3,1±0,6	3,0±0,6
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	-
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1±0,1
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,1-0,1
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	46,2±4,1
Коефіцієнт регенерації	%	15,8±1,7	7,0±1,4
Еритробластиограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	-
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	7,0±2,2
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	18,0±2,4
Нормобласти	%	61,2±1,8	75,0±3,9
Коефіцієнт регенерації	%	64,1±4,2	33,3±3,6

Таблиця 8

Показники регенеративної функції кровотворення у телят при експериментальному афлатоксикозі

Периферична кров			Кістково-мозковий пунктат		
Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-и день досліді	Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-ий день досліді
Загальна кількість лейкоцитів	9,1±0,4	17,5±2,6	Загальна кількість ядерних форм	83,2±5,4	34,6±3,5

Периферична кров			Кістково-мозковий пунктат		
Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу	Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу
Абсолютна кількість лімфоцитів	5,6±4,0	10,3±2,2	Абсолютна кількість мієлобластичних форм	25,6±1,4	13,2±0,1
Абсолютна кількість моноцитів	0,58±1,1	1,69±2,3	Абсолютна кількість еритробластичних форм	47,6±4,5	15,0±0,01
Абсолютна кількість нейтрофілів	2,70±5,0	3,5±7,0	Абсолютна кількість лімфоцитів	6,7±1,1	4,2±0,8
Абсолютна кількість еозинофілів	0,1±4,2	1,8±3,0	Загальна кількість еритроцитів	7,9±0,5	6,3±0,7
Абсолютна кількість базофілів	0,07±1,8	0,05±2,1	Коефіцієнт регенерації мієлобластичних форм, %	15,8±1,7	7,0±1,4
Абсолютна кількість еритроцитів	8,0±0,4	7,8±0,3	Коефіцієнт регенерації еритробластичних форм, %	64,1±4,2	33,3±3,6

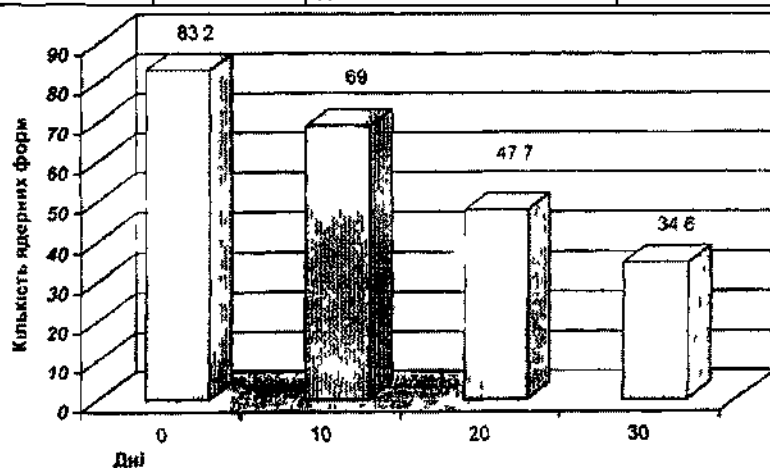


Рис. 1

Гістограма змін кількості ядерних форм в КМП піддослідних телят

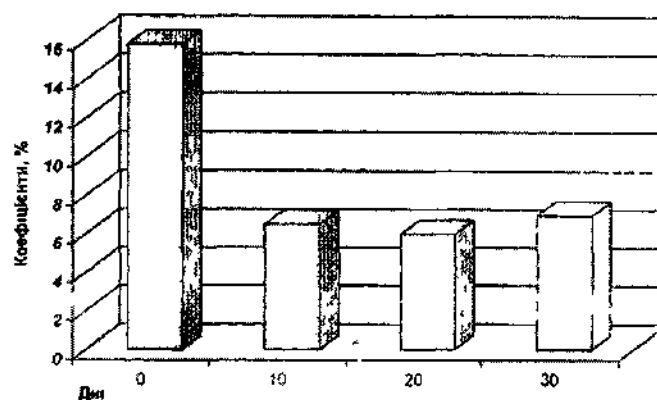


Рис. 2

Гістограма коефіцієнтів регенерації мієлобластичних форм піддослідних телят

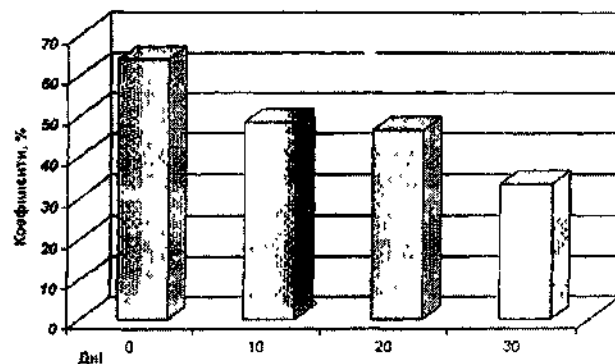


Рис. 3
Гістограма коефіцієнтів регенерації еритроцитарних форм у підослідних телят

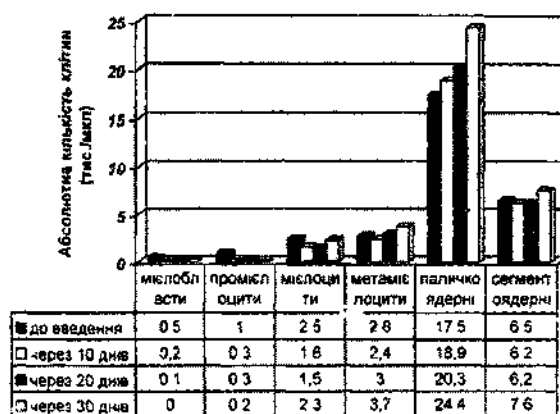


Рис. 4
Гістограма визрівання мієлобластичних форм в КМП при експериментальному афлатоксикозі

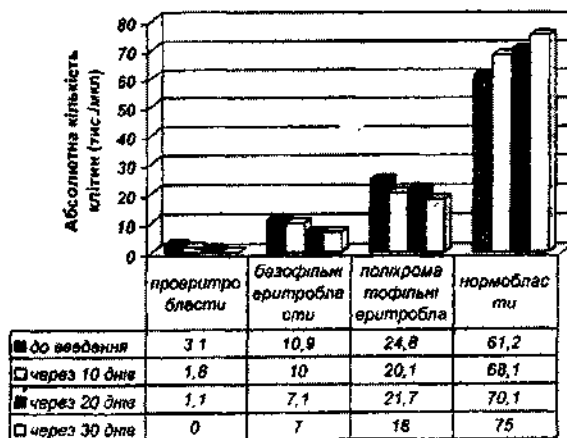


Рис. 5
Гістограма визрівання еритроцитарних форм в КМП при експериментальному афлатоксикозі



УКРАЇНА

(19) UA (11) 4238 (13) U

(51) 7 A61B1/00, A61B3/00, A61B10/00,
A61D7/00, A01K67/02МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ АФЛАТОКСИКОЗУ ТЕЛЯТ

1

2

(21) 2004032126

(22) 23.03.2004

(24) 17.01.2005

(46) 17.01.2005, Бюл. № 1, 2005 р.

(72) Митрофанов Олександр Олександрович, Павлов Михайло Єфремович, Митрофанов Олександр Васильович

(73) Харківська державна зооветеринарна академія

(57) 1. Спосіб діагностики афлатоксикозу телят, який включає виявлення клінічних ознак і відбір та дослідження пунктату центральних органів гемопоезу, який відрізняється тим, що при огляді тварин на присутність сухості, тріщин з подальшим відлученням кірочок епітелію і появу "мармуровості" носового дзеркала, а також випадіння

кінцевої частини прямої кишки з крововиливами паралельно проводять відбір проби кістково-мозкового пунктату (КМП) та його дослідження.

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що відбір проби КМП проводять проколом грудної кістки в межах другого-третього сегмента на глибину 1,5 - 3,0 см в еритроцитарний меланжер.

3. Спосіб за п. 2, який відрізняється тим, що дослідження проводять шляхом розбавлення фізрозчином проби КМП в еритроцитарному меланжері і розрахунку ядерних форм за лейкоцитарною формулою, а потім при відповідних значеннях показників кількості діагностують форми афлатоксикозу: 45 - 30 тис. одиниць в 1 мкл - підгостра; 30 - 15 тис. одиниць в 1 мкл - хронічна.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини, зокрема, до способів діагностики афлатоксикозу телят.

Сучасна теоретична і практична ветеринарна медицина досить швидко, точно і надійно діагностує гострі форми афлатоксикозів. В основі діагнозу лежить позитивність результатів пошуку афлатоксинів в кормах і в фрагментах трупі або туші різними хроматографічними методами (тонкошарова хроматографія, газова і таке інше).

Значно трудніше діагностуються хронічні варіанти афлатоксикозів.

При їх діагностиці присутність афлатоксинів вищевказаними методами часто встановлюються в пробах підозрілого корму, в фрагментах трупі або туші. Проте за низької концентрації в них афлатоксинів методи хроматографії їх не встановлюють. Положення з діагностикою хронічних афлатоксикозів становиться ще більш тяжким в випадках звичайної виробничої заміни кормів, у випадках чергування чистих кормів уражених афлатоксинами і в випадках довгого відриву терміну діагностики від терміну розвитку в організмі змін, які характерні для хронічного афлатоксикозу. В зв'язку з цим хронічні форми афлатоксикозів, особливо при вищевказаних ситуаційних усклад-

неннях, вимагають суворого обліку і аналізу рекомендаційних, клініко-біохімічних та патологоанатомічних характеристик при їх діагностиці.

Велике значення в діагностиці таких форм афлатоксикозів може мати зняття з організму додаткових характеристик, зокрема гематологічних: розгорнутих деталізованих цитологічних характеристик периферичної крові та центральних органів гемопоезу. Зняття саме цих характеристик необхідно у зв'язку з тим, що за існуючими науковими уявленнями афлатоксини викликають інволюцію тимусу, знижують активність клітинного імунітету, пригнічують загальну імунну активність.

Відомі способи діагностики афлатоксикозу телят за клінічними ознаками: репресивність, жовтуха, набряк підщелепного простору, діарея і в важких випадках - колапс, який закінчується смертю. У хворих тварин спостерігається мікроцитарна анемія, підвищення рівня загального і зв'язаного білірубину в сироватці [Кравченко Л.В., Тутельян В.А. Микотоксини // Всесоюзные химические общества им. Д.И. Менделеева. - 1978. - Т.23. - №4, - С.390-406; Петрович С.В. Микотоксикозы животных // М.: Росагропромиздат, 1991. - С.206-220].

Для виявлення цих симптомів необхідно тривалий час оглядати тварин, стан здоров'я яких

(13) U

(11) 4238

(19) UA

погіршується щоденно. Окрім цього вказаному способу діагностики властивий суб'єктивізм оснований на кваліфікації і досвіді.

Найбільш близький спосіб діагностики афлатоксикозу телят, що включає візуальний огляд та виявлення таких симптомів, як пригнічення, відсутність реакції на зовнішні подразники, зниження больових і тактильних відчуттів, поноси з виділенням в фекаліях слизу та крові.

В крові хворих тварин знижується загальна кількість лейкоцитів. В лейкограмі зростає кількість сегментно-ядерних форм і знижується число лімфоцитів [Курманов А. Микотоксини и их роль в патологии животных // Ветеринария. - 1981. - №11. - С.92-96].

Цей спосіб також потребує багато часу для виявлення клінічних ознак і високої кваліфікації фахівців, окрім того точність і ефективність не завжди на відповідному рівні.

Задача корисної моделі - удосконалення способу диференційної діагностики афлатоксикозу телят шляхом прижиттєвого виявлення клінічних ознак та аналізу розгорнутих деталізованих цитологічних характеристик центральних органів гемопоезу, що підвищує ефективність і точність, виключаючи суб'єктивізм.

Задача вирішується тим, що в способі диференційної діагностики афлатоксикозу телят, включаючи виявлення клінічних ознак, відбір та дослідження центральних органів гемопоезу, згідно корисної моделі, здійснюють огляд тварин на присутність сухості, тріщин з подальшим відлученням кірочок епітелію і появи "мармуровості" носового дзеркала, а також випадання кінцевої частини прямої кишки з крововиливами, паралельно проводять відбір проби кістково-мозкового пунктату та його дослідження.

Відбір проби кістково-мозкового пунктату (КМП) проводять проколом грудної кістки в межах другого-третього сегменту на глибину 1,5-3,0 см.

Дослідження проводять шляхом розбавлення рідиною Тюрка проби КМП в еритроцитарному меланжері і розрахунку ядерних форм по лейкоцитарній формулі, а потім при відповідних значеннях показників кількості діагностують форми афлатоксикозу: 45-30 тис. одиниць в 1 мкл - підгостра, 30-15 тис. одиниць в 1 мкл - хронічна.

Відбір проби кістково-мозкового пунктату шляхом проколу грудної кістки в межах 2-3-го сегменту на глибину 1,5-3,0 см являється оптимальним варіантом, так як 4-5 сегменти значно тонкіші і можлива перфорація грудної кістки. Крім того, взята проба пунктату має потрібну кількість клітин мозку без домішок крові, що не може забезпечити пункція маклака, сідничного горбу, епіфіза плечової кістки і ребер.

Дослідження кістково-мозкового пунктату проводять при температурі, яка забезпечує можливість зберегти його від зсідання протягом 2-3 хв. з моменту його одержання. Цього часу достатньо для приготування мазків і зарядки меланжерів, де проводять розбавлення і фарбування.

Рахунок формових елементів ведуть в 160 малих квадратах камери Горяєва.

Для визначення загальної кількості ядерних форм використовують не лейкоцитарний

змішувач, а еритроцитарний, так як наявність великої кількості ядерних форм ускладнює рахунок їх при розбавленні в лейкоцитарному змішувачі.

Приклади конкретного виконання.

Першу серію дослідів з введенням телятам сублетальних доз афлатоксину проводили за принципом періодів. В період введення афлатоксини проводили триразове дослідження периферичної крові та кістково-мозкового пунктату, а також клінічне дослідження тварин за загальноприйнятою схемою і враховували температуру тіла, пульс, дихання, стан окремих органів і систем організму, а також споживання корму і води, поведінку тварин та інше.

Дані досліджень периферичної крові і кістково-мозкового пунктату наведені в таблицях 1, 2.

Представлені в таблицях 1, 2 показники складу периферичної крові і кістково-мозкового пунктату у телят в період до введення афлатоксину в основному відповідають загальним показникам нормального морфологічного складу крові і кістково-мозкового пунктату великої рогатої худоби. Але разом з цим мало місце значне зменшення кількості еозинофілів в периферичній крові піддослідних телят (більше ніж 50%). Це пов'язано із стресовим станом у тварин при їх фіксації в період відбору крові та кістково-мозкового пунктату (КМП).

Після встановлення загального клінічного стану тварин і визначення середніх показників периферичної крові і КМП в попередній період, що в подальшому служило контролем, телятам першої групи (10 голів) вводили афлатоксин в дозі 1,0 мг/кг маси тіла триразово, а другій - по 0,01 мг/кг маси тіла щоденно і проводили дослідження за загальноприйнятою методикою.

В період досліджень врахування змін, що відбулися в периферичній крові і КМП телят обох груп здійснювали через 10, 20 і 30 днів, незалежно від введеної дози афлатоксину та кратності введення. Контроль за загальним станом телят та іншими клінічними ознаками проводили щоденно.

Через 10 днів, після введення афлатоксину в дозі 1,0 мг/кг маси тіла, носове дзеркало ставало сухим і з'являлися тріщинки; загальний стан був задовільний, температура тіла, пульс і дихання були в межах фізіологічних норм. У телят, які одержали дозу 0,01 мг/кг маси тіла афлатоксину особливих змін не спостерігалось. При дослідженні окремих органів і систем організму відхилень від загальноприйнятих показників норми не було виявлено.

Результатом дослідження периферичної крові і КМП у телят на 10-й день після введення афлатоксину наведені в таблицях 3, 4.

Аналіз представлених в таблицях даних показує, що в периферичній крові телят відбулося незначне, недостовірне збільшення вмісту гемоглобіну, а також кількості еритроцитів та лейкоцитів.

Зменшення кількості гемоглобіну і еритроцитів з $7,9 \pm 0,5$ до $6,3 \pm 0,5 \cdot 10^{12}/л$ в КМП також не достовірно.

А в КМП на 10-й день дослідів у телят відбулися значні і достовірні зниження загальної кількості ядерних форм з $83,2 \pm 5,4$ до $69,0 \pm 7,3 \cdot 10^9/л$

і зниження коефіцієнтів регенерації мієлобластичних та еритробластичних форм відповідно з $14,9 \pm 1,7$ до $6,5 \pm 0,5$ та з $64,0 \pm 4,2$ до $48,4 \pm 5,6$ ($P < 0,001$).

На 20-й день після введення афлатоксину у телят спостерігали помітні зміни загального стану, зниження апетиту. На носовому дзеркальці у всіх піддослідних тварин з'явилися глибокі больові тріщини. Шкіра стала сухою, на окремих її ділянках з'явилися alopecії. При дослідженні печінки було встановлено розширення її меж і болючість при глибокій пальпації в місці її розміщення. Разом з тим, температура тіла, пульс та дихання у тварин залишалися в межах загальноприйнятих показників норми.

Дані про дослідження периферичної крові і кістково-мозкового пунктату у піддослідних тварин на 20-й день досліду наведені в таблицях 5 та 6.

З наведених в таблиці 5 даних видно, що в периферичній крові в цей період значних змін не відбулося; збільшення кількості еритроцитів і лейкоцитів виявилося недостовірним, проте значно збільшилась кількість еозинофільних форм клітин з $1,7 \pm 0,3$ до $6,6 \pm 1,5$.

В КМП (табл. 6) встановлене закономірне зниження ядерних форм з $47,7 \pm 3,2$ до $47,7 \pm 3,2 \cdot 10^9/\text{л}$ (майже на 48% від норми - $83,2 \pm 5,4 \cdot 10^9/\text{л}$) ($P < 0,005$) і зменшення коефіцієнтів регенерації мієлобластичних та еритробластичних форм.

На 30-й день досліду у всіх тварин проявилися явно виражені клінічні ознаки афлатоксикозу. Вони характеризувалися явним пригніченням, погіршенням апетиту. Видимі слизові оболонки набули жовтого забарвлення. На носовому дзеркальці в усіх телят утворилися глибокі тріщини, місцями вкрилися кірочками. Зовні носове дзеркальце походило на мармур, із носових порожнин виділявся серозно-катаральний ексудат.

Шерсть набула матового відтінку і в межах шиї з'явилися оголені місця.

Шкіра лишилася еластичності, на ній з'явилися відлущування епітелію, просочені ексудатом.

У всіх тварин з'явився понос, інколи з домішками крові та слизу, а у 14 телят випадіння кінцевої частини прямої кишки з крововиливами. Тварини скреготіли зубами, стогнали, особливо при вставанні після тривалого відпочинку. При глибокій пальпації печінки відмічали збільшення її перкусійних меж і виражену хворобливість. Температура тіла, пульс і дихання зберігалися в межах загальноприйнятих показників норми.

В КМП (кістково-мозковому пунктаті) піддослідних телят на 30-й день введення афлатоксину закономірно знижувалася кількість ядерних форм з $83,2 \pm 5,4$ до $34,6 \pm 3,5 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P < 0,001$) (табл. 7). Причому така закономірність прослідковується на протязі всього періоду дослідів (рис. 1).

Зменшилася абсолютна кількість мієлобластичних і еритробластичних форм клітин, абсолютна кількість лімфоцитів та еритроцитів (табл. 8).

Під дією афлатоксинів в кістково-мозковому пунктаті телят відбувається достовірне і закономірне зменшення коефіцієнтів регенерації мієлобластичних і еритробластичних форм клітин (рис. 2, 3).

Це також підтверджує аналіз даних дозрівання мієлобластичних і еритробластичних форм (рис. 4, 5) і засвідчує про зниження регенеративної функції кісткового мозку.

Одержані дані засвідчують, що в виробничих умовах можна прижиттєве діагностувати афлатоксикоз комплексно, враховуючи симптоми захворювання та показники кістково-мозкового пунктату.

Таблиця 1

Показники периферичної крові піддослідних телят до введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	Піддослідні тварини	Загальноприйняті нормативи для даного виду
Гемоглобін	г/л	$105 \pm 4,0$	90,0-120,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/\text{л}$	$7,2 \pm 0,4$	5,0-7,5
Лейкоцити	$\cdot 10^9/\text{л}$	$9,1 \pm 0,4$	4,5-12,0
Лейкограма	%		
Мієлоцити	%	-	-
Юні	%	-	0-1,0
Паличкоядерні	%	$4,8 \pm 1,5$	2,0-5,0
Сегментоядерні	%	$22,7 \pm 2,3$	20,0-35,0
Еозинофіли	%	$1,7 \pm 0,3$	3,0-8,0
Базофіли	%	$0,8 \pm 0,1$	0-2,0
Моноцити	%	$6,4 \pm 0,6$	2,0-7,0
Лімфоцити	%	$63,6 \pm 3,0$	48,0-65,0

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 20 днів після введення афлатоксину
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	6,2±0,3
Лімфоцити	%	8,1±0,9	15,5±1,7
Моноцити	%	3,1±0,6	2,7±0,8
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	-
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1±0,1
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,2±0,04
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	50,2±2,3
Коефіцієнт регенерації	%	15,8±1,7	6,0±0,4
Еритробластиограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	1,1±0,6
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	7,1±1,1
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	21,7±2,6
Нормобласти	%	61,2±1,8	70,1±2,7
Коефіцієнт регенерації	%	64,1±4,2	46,4±7,4

Таблиця 7

Показники кістково-мозкового пункту у піддослідних телят через 30 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 30 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	104,0±4,0	93,0±9,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/л$	7,9±0,5	6,3±0,7
Загальна кількість ядерних форм	$\cdot 10^{12}/л$	83,2±5,4	34,6±3,5
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	-
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,2±0,1
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	3,7±0,7
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	24,4±1,9
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	7,6±1,5
Лімфоцити	%	8,1±0,9	12,4±1,3
Моноцити	%	3,1±0,6	3,0±0,6
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	-
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1±0,1
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,1-0,1
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	46,2±4,1
Коефіцієнт регенерації	%	15,8±1,7	7,0±1,4
Еритробластиограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	-
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	7,0±2,2
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	18,0±2,4
Нормобласти	%	61,2±1,8	75,0±3,9
Коефіцієнт регенерації	%	64,1±4,2	33,3±3,6

Таблиця 8

Показники регенеративної функції кровотворення у телят при експериментальному афлатоксикозі

Периферична кров			Кістково-мозковий пунктат		
Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу	Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу
Загальна кількість лейкоцитів	9,1±0,4	17,5±2,6	Загальна кількість ядерних форм	83,2±5,4	34,6±3,5

Периферична кров			Кістково-мозковий пунктат		
Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу	Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу
Абсолютна кількість лімфоцитів	5,6±4,0	10,3±2,2	Абсолютна кількість мієлобластичних форм	25,6±1,4	13,2±0,1
Абсолютна кількість моноцитів	0,58±1,1	1,69±2,3	Абсолютна кількість еритробластичних форм	47,6±4,5	15,0±0,01
Абсолютна кількість нейтрофілів	2,70±5,0	3,5±7,0	Абсолютна кількість лімфоцитів	6,7±1,1	4,2±0,8
Абсолютна кількість еозинофілів	0,1±4,2	1,8±3,0	Загальна кількість еритроцитів	7,9±0,5	6,3±0,7
Абсолютна кількість базофілів	0,07±1,8	0,05±2,1	Коефіцієнт регенерації мієлобластичних форм, %	15,8±1,7	7,0±1,4
Абсолютна кількість еритроцитів	8,0±0,4	7,8±0,3	Коефіцієнт регенерації еритробластичних форм, %	64,1±4,2	33,3±3,6

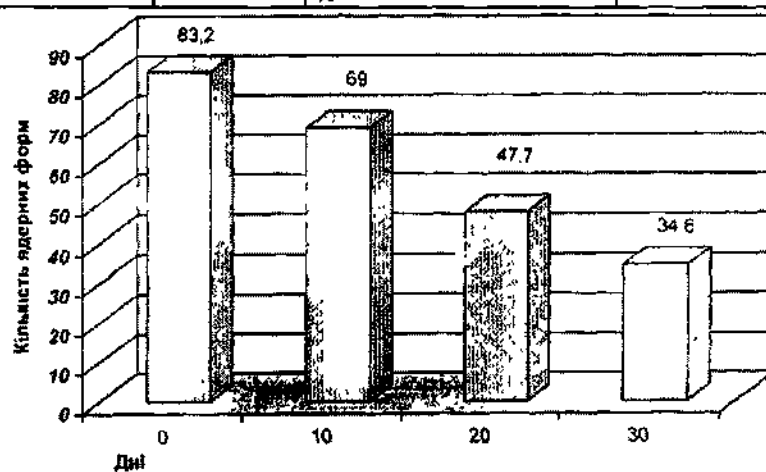


Рис. 1

Гістограма змін кількості ядерних форм в КМР піддослідних телят

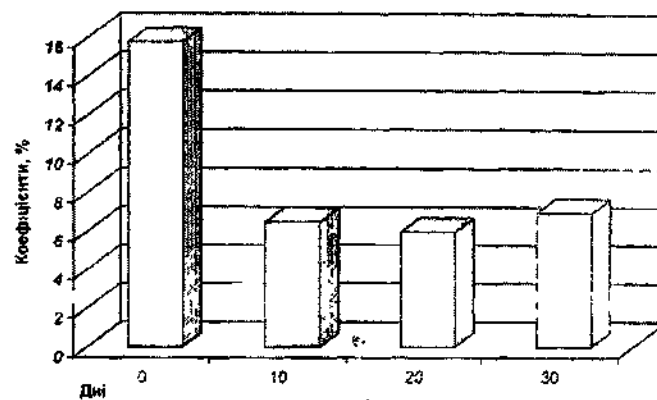


Рис. 2

Гістограма коефіцієнтів регенерації мієлобластичних форм піддослідних телят

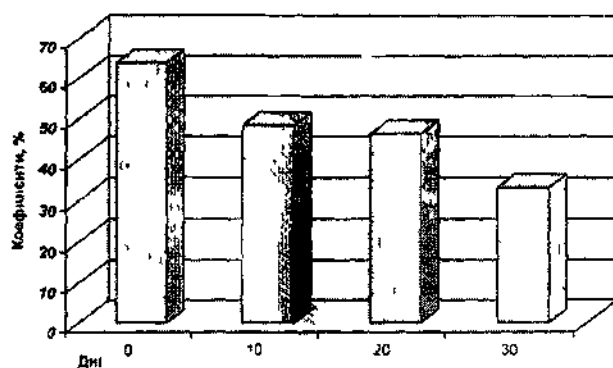


Рис. 3
Гістограма коефіцієнтів регенерації еритробластичних форм у піддослідних телят

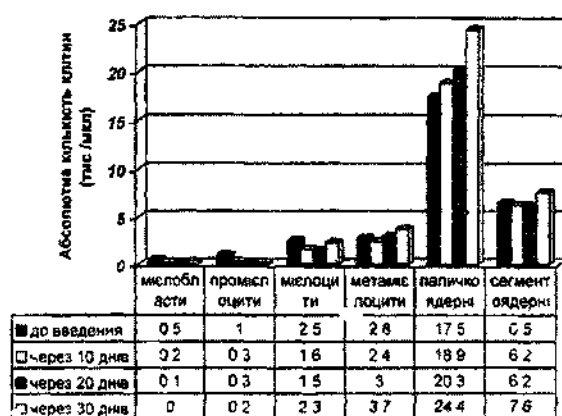


Рис. 4
Гістограма визрівання мієлобластичних форм в КМТ при експериментальному афлатоксикозі

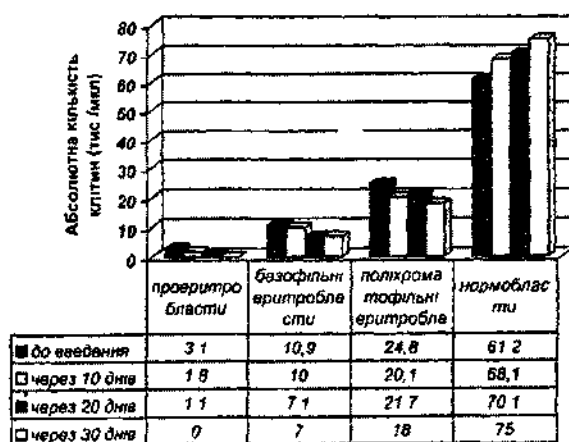


Рис. 5
Гістограма визрівання еритробластичних форм в КМТ при експериментальному афлатоксикозі



УКРАЇНА

(19) UA (11) 4238 (13) U

(51) 7 A61B1/00,A61B3/00,A61B10/00,
A61D7/00,A01K67/02МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ АФЛАТОКСИКОЗУ ТЕЛЯТ

1

2

(21) 2004032126

(22) 23.03.2004

(24) 17.01.2005

(46) 17.01.2005, Бюл. № 1, 2005 р.

(72) Митрофанов Олександр Олександрович, Павлов Михайло Єфремович, Митрофанов Олександр Васильович

(73) Харківська державна зооветеринарна академія

(57) 1. Спосіб діагностики афлатоксикозу телят, який включає виявлення клінічних ознак і відбір та дослідження пунктату центральних органів гемопоезу, який відрізняється тим, що при огляді тварин на присутність сухості, тріщин з подальшим відлученням кірочок епітелію і появу "мармуровості" носового дзеркала, а також випадіння

кінцевої частини прямої кишки з крововиливами паралельно проводять відбір проби кістково-мозкового пунктату (КМП) та його дослідження.

2. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що відбір проби КМП проводять проколом грудної кістки в межах другого-третього сегмента на глибину 1,5 - 3,0 см в еритроцитарний меланжер.

3. Спосіб за п. 2, який відрізняється тим, що дослідження проводять шляхом розбавлення фізіологічним розчином проби КМП в еритроцитарному меланжері і розрахунку ядерних форм за лейкоцитарною формулою, а потім при відповідних значеннях показників кількості діагностують форми афлатоксикозу: 45 - 30 тис. одиниць в 1 мкл - підгостра; 30 - 15 тис. одиниць в 1 мкл - хронічна.

Корисна модель відноситься до ветеринарної медицини, зокрема, до способів діагностики афлатоксикозу телят.

Сучасна теоретична і практична ветеринарна медицина досить швидко, точно і надійно діагностує гострі форми афлатоксикозів. В основі діагнозу лежить позитивність результатів пошуку афлатоксинів в кормах і в фрагментах трупі або туші різними хроматографічними методами (тонкошарова хроматографія, газова і таке інше).

Значно трудніше діагностуються хронічні варіанти афлатоксикозів.

При їх діагностиці присутність афлатоксинів вищевказаними методами часто встановлюються в пробах підозрілого корму, в фрагментах трупі або туші. Проте за низької концентрації в них афлатоксинів методи хроматографії їх не встановлюють. Положення з діагностикою хронічних афлатоксикозів становиться ще більш тяжким в випадках звичайної виробничої заміни кормів, у випадках чергування чистих кормів уражених афлатоксинами і в випадках довгого відриву терміну діагностики від терміну розвитку в організмі змін, які характерні для хронічного афлатоксикозу. В зв'язку з цим хронічні форми афлатоксикозів, особливо при вищевказаних ситуаційних усклад-

неннях, вимагають суворого обліку і аналізу рекомендаційних, клініко-біохімічних та патологоанатомічних характеристик при їх діагностиці.

Велике значення в діагностиці таких форм афлатоксикозів може мати зняття з організму додаткових характеристик, зокрема гематологічних: розгорнутих деталізованих цитологічних характеристик периферичної крові та центральних органів гемопоезу. Зняття саме цих характеристик необхідне у зв'язку з тим, що за існуючими науковими уявленнями афлатоксини викликають інволюцію тимусу, знижують активність клітинного імунітету, пригнічують загальну імунну активність.

Відомі способи діагностики афлатоксикозу телят за клінічними ознаками: репресивність, жовтуха, набряк підщелепного простору, діарея і в важких випадках - колапс, який закінчується смертю. У хворих тварин спостерігається мікроцитарна анемія, підвищення рівня загального і зв'язаного білірубіну в сироватці [Кравченко Л.В., Тутельян В.А. Микотоксини // Всесоюзные химические общества им. Д.И. Менделеева. - 1978. - Т.23. - №4, - С.390-406; Петрович С.В. Микотоксикозы животных // М.: Росагропромиздат, 1991. - С.206-220].

Для виявлення цих симптомів необхідно тривалий час оглядати тварин, стан здоров'я яких

(13) U

(11) 4238

(19) UA

погіршується щоденно. Окрім цього вказаному способу діагностики властивий суб'єктивізм оснований на кваліфікації і досвіді.

Найбільш близький спосіб діагностики афлатоксикозу телят, що включає візуальний огляд та виявлення таких симптомів, як пригнічення, відсутність реакції на зовнішні подразники, зниження больових і тактильних відчуттів, поноси з виділенням в фекаліях слизу та крові.

В крові хворих тварин знижується загальна кількість лейкоцитів. В лейкограмі зростає кількість сегментно-ядерних форм і знижується число лімфоцитів [Курманов А. Микотоксини и их роль в патологии животных // Ветеринария. - 1981. - №11. - С.92-96].

Цей спосіб також потребує багато часу для виявлення клінічних ознак і високої кваліфікації фахівців, окрім того точність і ефективність не завжди на відповідному рівні.

Задача корисної моделі - удосконалення способу диференційної діагностики афлатоксикозу телят шляхом прижиттєвого виявлення клінічних ознак та аналізу розгорнутих деталізованих цитологічних характеристик центральних органів гемопоезу, що підвищує ефективність і точність, виключаючи суб'єктивізм.

Задача вирішується тим, що в способі диференційної діагностики афлатоксикозу телят, включаючи виявлення клінічних ознак, відбір та дослідження центральних органів гемопоезу, згідно корисної моделі, здійснюють огляд тварин на присутність сухості, тріщин з подальшим відлученням кірочок епітелію і появи "мармуровості" носового дзеркала, а також випадання кінцевої частини прямої кишки з крововиливами, паралельно проводять відбір проби кістково-мозкового пунктату та його дослідження.

Відбір проби кістково-мозкового пунктату (КМП) проводять проколом грудної кістки в межах другого-третього сегменту на глибину 1,5-3,0 см.

Дослідження проводять шляхом розбавлення рідиною Тюрка проби КМП в еритроцитарному меланжері і розрахунку ядерних форм по лейкоцитарній формулі, а потім при відповідних значеннях показників кількості діагностують форми афлатоксикозу: 45-30 тис. одиниць в 1 мкл - підгостра, 30-15 тис. одиниць в 1 мкл - хронічна.

Відбір проби кістково-мозкового пунктату шляхом проколу грудної кістки в межах 2-3-го сегменту на глибину 1,5-3,0 см являється оптимальним варіантом, так як 4-5 сегменти значно тонкіші і можлива перфорація грудної кістки. Крім того, взята проба пунктату має потрібну кількість клітин мозку без домішків крові, що не може забезпечити пункція маклака, сідничного горбу, епіфіза плечової кістки і ребер.

Дослідження кістково-мозкового пунктату проводять при температурі, яка забезпечує можливість зберегти його від зсідання протягом 2-3 хв. з моменту його одержання. Цього часу достатньо для приготування мазків і зарядки меланжерів, де проводять розбавлення і фарбування.

Рахунок формових елементів ведуть в 160 малих квадратах камери Горяєва.

Для визначення загальної кількості ядерних форм використовують не лейкоцитарний

змішувач, а еритроцитарний, так як наявність великої кількості ядерних форм ускладнює рахунок їх при розбавленні в лейкоцитарному змішувачі.

Приклади конкретного виконання.

Першу серію дослідів з введенням телятам сублетальних доз афлатоксину проводили за принципом періодів. В період введення афлатоксину проводили триразове дослідження периферичної крові та кістково-мозкового пунктату, а також клінічне дослідження тварин за загальноприйнятою схемою і враховували температуру тіла, пульс, дихання, стан окремих органів і систем організму, а також споживання корму і води, поведінку тварин та інше.

Дані досліджень периферичної крові і кістково-мозкового пунктату наведені в таблицях 1, 2.

Представлені в таблицях 1, 2 показники складу периферичної крові і кістково-мозкового пунктату у телят в період до введення афлатоксину в основному відповідають загальним показникам нормального морфологічного складу крові і кістково-мозкового пунктату великої рогатої худоби. Але разом з цим мало місце значне зменшення кількості еозинофілів в периферичній крові піддослідних телят (більше ніж 50%). Це пов'язано із стресовим станом у тварин при їх фіксації в період відбору крові та кістково-мозкового пунктату (КМП).

Після встановлення загального клінічного стану тварин і визначення середніх показників периферичної крові і КМП в попередній період, що в подальшому служило контролем, телятам першої групи (10 голів) вводили афлатоксин в дозі 1,0 мг/кг маси тіла триразово, а другій - по 0,01 мг/кг маси тіла щоденно і проводили дослідження за загальноприйнятою методикою.

В період досліджень врахування змін, що відбулися в периферичній крові і КМП телят обох груп здійснювали через 10, 20 і 30 днів, незалежно від введеної дози афлатоксину та кратності введення. Контроль за загальним станом телят та іншими клінічними ознаками проводили щоденно.

Через 10 днів, після введення афлатоксину в дозі 1,0 мг/кг маси тіла, носове дзеркало ставало сухим і з'являлися тріщинки; загальний стан був задовільний, температура тіла, пульс і дихання були в межах фізіологічних норм. У телят, які одержали дозу 0,01 мг/кг маси тіла афлатоксину особливих змін не спостерігалось. При дослідженні окремих органів і систем організму відхилень від загальноприйнятих показників норми не було виявлено.

Результатом дослідження периферичної крові і КМП у телят на 10-й день після введення афлатоксину наведені в таблицях 3, 4.

Аналіз представлених в таблицях даних показує, що в периферичній крові телят відбулося незначне, недостовірне збільшення вмісту гемоглобіну, а також кількості еритроцитів та лейкоцитів.

Зменшення кількості гемоглобіну і еритроцитів з $7,9 \pm 0,5$ до $6,3 \pm 0,5 \cdot 10^{12}/л$ в КМП також не достовірно.

А в КМП на 10-й день досліду у телят відбулися значні і достовірні зниження загальної кількості ядерних форм з $83,2 \pm 5,4$ до $69,0 \pm 7,3 \cdot 10^9/л$

і зниження коефіцієнтів регенерації мієлобластичних та еритробластичних форм відповідно з $14,9 \pm 1,7$ до $6,5 \pm 0,5$ та з $64,0 \pm 4,2$ до $48,4 \pm 5,6$ ($P < 0,001$).

На 20-й день після введення афлатоксину у телят спостерігали помітні зміни загального стану, зниження апетиту. На носовому дзеркальці у всіх піддослідних тварин з'явилися глибокі больові тріщини. Шкіра стала сухою, на окремих її ділянках з'явилися алопеції. При дослідженні печінки було встановлено розширення її меж і болючість при глибокій пальпації в місці її розміщення. Разом з тим, температура тіла, пульс та дихання у тварин залишалися в межах загальноприйнятих показників норми.

Дані про дослідження периферичної крові і кістково-мозкового пунктату у піддослідних тварин на 20-й день досліду наведені в таблицях 5 та 6.

З наведених в таблиці 5 даних видно, що в периферичній крові в цей період значних змін не відбулося; збільшення кількості еритроцитів і лейкоцитів виявилось недостовірним, проте значно збільшилась кількість еозинофільних форм клітин з $1,7 \pm 0,3$ до $6,6 \pm 1,5$.

В КМП (табл. 6) встановлене закономірне зниження ядерних форм з $47,7 \pm 3,2$ до $47,7 \pm 3,2 \cdot 10^9/\text{л}$ (майже на 48% від норми - $83,2 \pm 5,4 \cdot 10^9/\text{л}$) ($P < 0,005$) і зменшення коефіцієнтів регенерації мієлобластичних та еритробластичних форм.

На 30-й день досліду у всіх тварин проявилися явно виражені клінічні ознаки афлатоксикозу. Вони характеризувалися явним пригніченням, погіршенням апетиту. Видимі слизові оболонки набули жовтого забарвлення. На носовому дзеркальці в усіх телят утворилися глибокі тріщини, місцями вкрилися кірочками. Зовні носове дзеркальце походило на мармур, із носових порожнин виділявся серозно-катаральний ексудат.

Шерсть набула матового відтінку і в межах шиї з'явилися оголені місця.

Шкіра лишилася еластичною, на ній з'явилися відлущування епітелію, просочені ексудатом.

У всіх тварин з'явився понос, інколи з домішками крові та слизу, а у 14 телят випадіння кінцевої частини прямої кишки з крововиливами. Тварини скреготіли зубами, стогнали, особливо при вставанні після тривалого відпочинку. При глибокій пальпації печінки відмічали збільшення її перкусійних меж і виражену хворобливість. Температура тіла, пульс і дихання зберігалися в межах загальноприйнятих показників норми.

В КМП (кістково-мозковому пунктаті) піддослідних телят на 30-й день введення афлатоксину закономірно знижувалася кількість ядерних форм з $83,2 \pm 5,4$ до $34,6 \pm 3,5 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P < 0,001$) (табл. 7). Причому така закономірність прослідковується на протязі всього періоду дослідів (рис. 1).

Зменшилася абсолютна кількість мієлобластичних і еритробластичних форм клітин, абсолютна кількість лімфоцитів та еритроцитів (табл. 8).

Під дією афлатоксинів в кістково-мозковому пунктаті телят відбувається достовірне і закономірне зменшення коефіцієнтів регенерації мієлобластичних і еритробластичних форм клітин (рис. 2, 3).

Це також підтверджує аналіз даних дозрівання мієлобластичних і еритробластичних форм (рис. 4, 5) і засвідчує про зниження регенеративної функції кісткового мозку.

Одержані дані засвідчують, що в виробничих умовах можна прижиттєве діагностувати афлатоксикоз комплексно, враховуючи симптоми захворювання та показники кістково-мозкового пунктату.

Таблиця 1

Показники периферичної крові піддослідних телят до введення афлатоксину, $M \pm m$

Показники	Одиниці виміру	Піддослідні тварини	Загальноприйняті нормативи для даного виду
Гемоглобін	г/л	$105 \pm 4,0$	90,0-120,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/\text{л}$	$7,2 \pm 0,4$	5,0-7,5
Лейкоцити	$\cdot 10^9/\text{л}$	$9,1 \pm 0,4$	4,5-12,0
Лейкограма	%		
Міелоцити	%	-	-
Юні	%	-	0-1,0
Паличкоядерні	%	$4,8 \pm 1,5$	2,0-5,0
Сегментоядерні	%	$22,7 \pm 2,3$	20,0-35,0
Еозинофіли	%	$1,7 \pm 0,3$	3,0-8,0
Базофіли	%	$0,8 \pm 0,1$	0-2,0
Моноцити	%	$6,4 \pm 0,6$	2,0-7,0
Лімфоцити	%	$63,6 \pm 3,0$	48,0-65,0

Таблиця 2

Показники кістково-мозкового пунктату у телят до введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	Піддослідні тварини	Загальноприйняті нормативи для даного виду
Гемоглобін	г/л	104,0±4,0	90,0-120,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/\text{л}$	7,2±0,5	5,0-7,5
Загальна кількість ядерних форм	$\cdot 10^9/\text{л}$	83,2±5,4	65,0-90,0
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	0,3-1,0
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,5-1,2
Мієлоцити	%	2,5±0,6	1,2-3,0
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	2,4-3,5
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	6,6-18,0
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	5,3-7,7
Лімфоцити	%	8,1±0,9	7,9-10,1
Моноцити	%	3,1±0,6	1,2-5,2
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	0,1-0,3
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1-0,5
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,2-0,7
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	48,5-60,4
Коефіцієнт регенерації	%	14,9±1,7	14,0-17,8
Еритробластограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	2,4-5,2
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	9,3-12,0
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	24,5-31,6
Нормобласти	%	61,2±1,8	60,8-71,0
Коефіцієнт регенерації	%	64,0±4,2	45,8-65,5

Таблиця 3

Показники периферичної крові піддослідних телят через 10 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 10 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	105,0±4,0	113,0±8,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/\text{л}$	8,0±0,4	8,4±0,5
Лейкоцити	$\cdot 10^9/\text{л}$	9,1±0,4	11,4±0,7
Лейкограма			
Мієлоцити	%	-	-
Юні	%	-	0,4±0,3
Паличкоядерні	%	7,0±1,5	8,1±1,6
Сегментоядерні	%	22,7±2,3	21,2±2,9
Еозинофіли	%	1,7±0,3	5,8±1,8
Базофіли	%	0,8±0,1	0,7±0,1
Моноцити	%	6,4±0,6	9,7±1,1
Лімфоцити	%	61,4±3,0	54,1±3,4

Таблиця 4

Показники кістково-мозкового пунктату у піддослідних телят через 10 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 10 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	104,0±4,0	95,0±6,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/\text{л}$	7,9±0,5	6,3±0,5
Загальна кількість ядерних форм	$\cdot 10^9/\text{л}$	83,2±5,4	69,0±7,3

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 10 днів після введення афлатоксину
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	0,2±0,04
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,3±0,1
Мієлоцити	%	2,5±0,6	1,6±0,4
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	2,4±0,6
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	18,9±1,1
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	6,2±0,8
Лімфоцити	%	8,1±0,9	13,1±0,5
Моноцити	%	3,1±0,6	3,1±0,5
Мегакаріюцити	%	0,1±0,04	
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1±0,5
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,2±0,04
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	53,9±1,5
Коефіцієнт регенерації	%	14,9±1,7	6,5±0,5
Еритробластограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	1,8±0,6
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	10,0±0,9
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	20,1±2,0
Нормобласти	%	61,2±1,8	68,1±2,4
Коефіцієнт регенерації	%	64,0±4,2	48,4±5,6

Таблиця 5

Показники периферичної крові піддослідних телят через 20 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 20 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	105,0±4,0	103,0±6,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/л$	8,0±0,4	8,5±0,5
Лейкоцити	$\cdot 10^9/л$	9,1±0,4	14,3±1,6
Лейкограма			
Мієлоцити	%	-	-
Юні	%	-	-
Паличкоядерні	%	7,0±1,5	6,3±1,6
Сегментоядерні	%	22,7±2,3	12,8±1,8
Еозинофіли	%	1,7±0,3	6,6±1,5
Базофіли	%	0,8±0,1	1,0±0,2
Моноцити	%	6,4±0,6	10,6±1,9
Лімфоцити	%	61,4±3,0	63,0±2,4

Таблиця 6

Показники кістково-мозкового пунктату у піддослідних телят через 20 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 20 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	104,0±4,0	95,0±7,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/л$	7,9±0,5	6,2±0,3
Загальна кількість ядерних форм	$\cdot 10^9/л$	83,2±5,4	47,7±3,2
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	0,1±0,5
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,3±0,1
Мієлоцити	%	2,5±0,6	1,5±0,4
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	3,0±0,9
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	20,3±2,7

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 20 днів після введення афлатоксину
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	6,2±0,3
Лімфоцити	%	8,1±0,9	15,5±1,7
Моноцити	%	3,1±0,6	2,7±0,8
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	-
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1±0,1
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,2±0,04
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	50,2±2,3
Коефіцієнт регенерації	%	15,8±1,7	6,0±0,4
Еритробластиограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	1,1±0,6
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	7,1±1,1
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	21,7±2,6
Нормобласти	%	61,2±1,8	70,1±2,7
Коефіцієнт регенерації	%	64,1±4,2	46,4±7,4

Таблиця 7

Показники кістково-мозкового пунктату у піддослідних телят через 30 днів після введення афлатоксину, М±m

Показники	Одиниці виміру	До введення афлатоксину	Через 30 днів після введення афлатоксину
Гемоглобін	г/л	104,0±4,0	93,0±9,0
Еритроцити	$\cdot 10^{12}/л$	7,9±0,5	6,3±0,7
Загальна кількість ядерних форм	$\cdot 10^{12}/л$	83,2±5,4	34,6±3,5
Мієлограма			
Мієлобласти	%	0,5±0,1	-
Промієлоцити	%	1,0±0,2	0,2±0,1
Метамієлоцити	%	2,8±0,4	3,7±0,7
Паличкоядерні	%	17,5±2,3	24,4±1,9
Сегментоядерні	%	6,5±0,6	7,6±1,5
Лімфоцити	%	8,1±0,9	12,4±1,3
Моноцити	%	3,1±0,6	3,0±0,6
Мегакаріоцити	%	0,1±0,04	-
Ретикулярні клітини	%	0,2±0,1	0,1±0,1
Плазматичні клітини	%	0,4±0,1	0,1-0,1
Еритробластичні клітини	%	57,3±2,9	46,2±4,1
Коефіцієнт регенерації	%	15,8±1,7	7,0±1,4
Еритробластиограма			
Проеритробласти	%	3,1±0,6	-
Базофільні еритробласти	%	10,9±1,1	7,0±2,2
Поліхроматофільні еритробласти	%	24,8±2,5	18,0±2,4
Нормобласти	%	61,2±1,8	75,0±3,9
Коефіцієнт регенерації	%	64,1±4,2	33,3±3,6

Таблиця 8

Показники регенеративної функції кровотворення у телят при експериментальному афлатоксикозі

Периферична кров			Кістково-мозковий пунктат		
Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу	Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу
Загальна кількість лейкоцитів	9,1±0,4	17,5±2,6	Загальна кількість ядерних форм	83,2±5,4	34,6±3,5

Периферична кров			Кістково-мозковий пунктат		
Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу	Показники (тис./мкл)	До введення токсину	На 30-й день досліджу
Абсолютна кількість лімфоцитів	5,6±4,0	10,3±2,2	Абсолютна кількість мієлобластичних форм	25,6±1,4	13,2±0,1
Абсолютна кількість моноцитів	0,58±1,1	1,69±2,3	Абсолютна кількість еритробластичних форм	47,6±4,5	15,0±0,01
Абсолютна кількість нейтрофілів	2,70±5,0	3,5±7,0	Абсолютна кількість лімфоцитів	6,7±1,1	4,2±0,8
Абсолютна кількість еозинофілів	0,1±4,2	1,8±3,0	Загальна кількість еритроцитів	7,9±0,5	6,3±0,7
Абсолютна кількість базофілів	0,07±1,8	0,05±2,1	Коефіцієнт регенерації мієлобластичних форм, %	15,8±1,7	7,0±1,4
Абсолютна кількість еритроцитів	8,0±0,4	7,8±0,3	Коефіцієнт регенерації еритробластичних форм, %	64,1±4,2	33,3±3,6

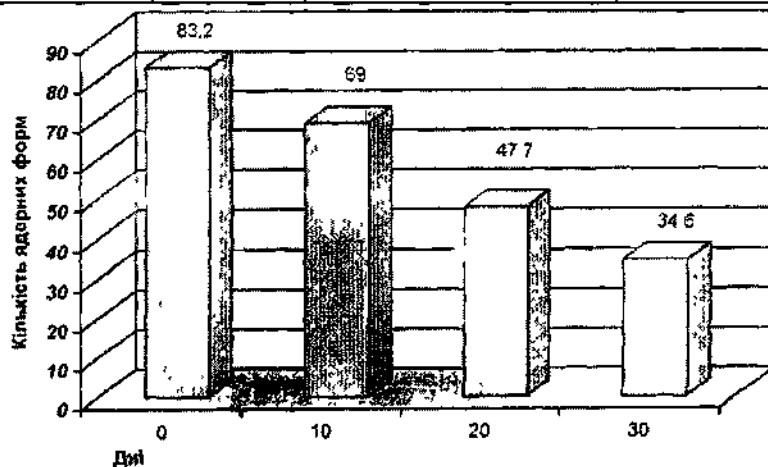


Рис. 1

Гістограма змін кількості ядерних форм в КМП піддослідних телят

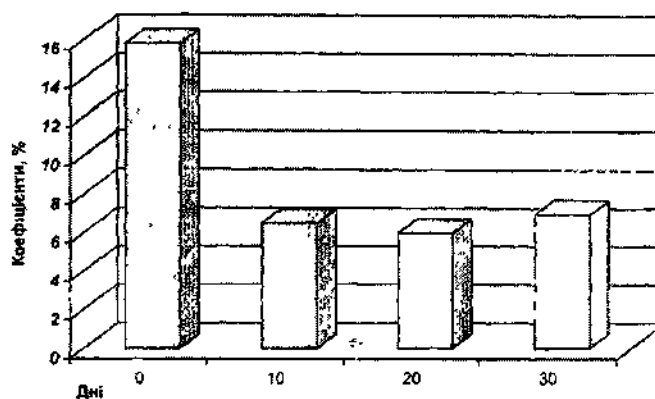


Рис. 2

Гістограма коефіцієнтів регенерації мієлобластичних форм піддослідних телят

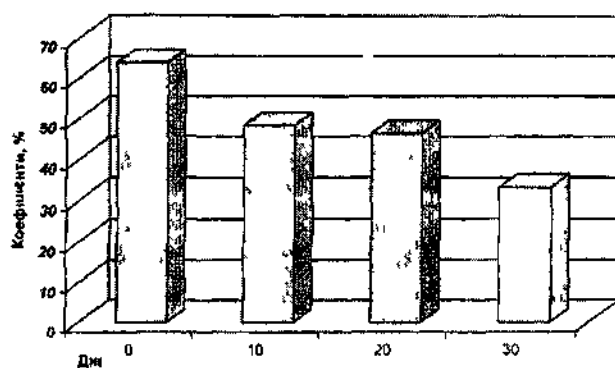


Рис. 3
Гістограма коефіцієнтів регенерації еритробластичних форм у піддослідних телят

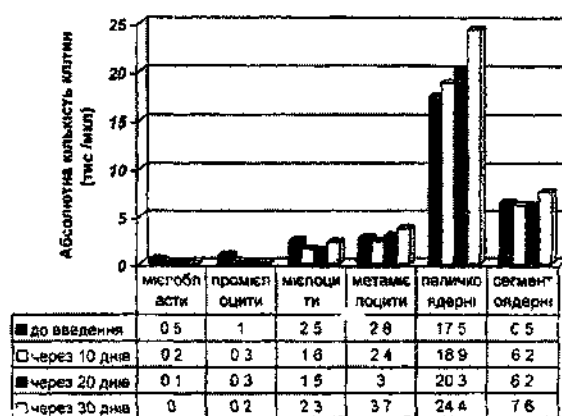


Рис. 4
Гістограма визрівання еритробластичних форм в КМП при експериментальному афлатоксикозі

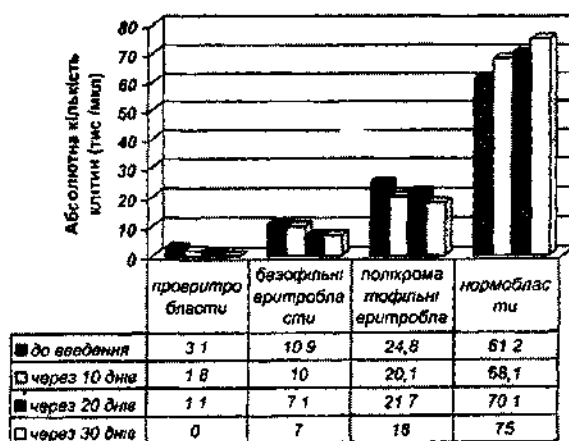


Рис. 5
Гістограма визрівання еритробластичних форм в КМП при експериментальному афлатоксикозі