



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98958** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A01K 67/02 (2006.01)
A61D 7/00
A61K 35/28 (2015.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 13302	(72) Винахідник(и): Грабовський Степан Стефанович (UA), Кирилів Ярослав Іванович (UA), Грабовська Олександра Степанівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 11.12.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.05.2015	(73) Власник(и): ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМ. С.З. ГЖИЦЬКОГО, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.05.2015, Бюл.№ 9	

(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ ІМУННОЇ РЕАКТИВНОСТІ ТА КОРЕКЦІЇ СТРЕСОВОГО СТАНУ КРОЛИКІВ ПЕРЕД ЗАБОЄМ

(57) Реферат:

Спосіб підвищення імунної реактивності та корекції стресового стану кроликів перед забоєм включає застосування тканинних препаратів. Кроликам за п'ять днів до забою задають з кормом препарат 70 ° спиртового розчину екстракту селезінки, одержаного із застосуванням ультразвуку, який наносять на комбікорм аерозольним методом із розрахунку 1,4 мл препарату на тварину на добу.

UA 98958 U

Корисна модель належить до ветеринарної медицини, зокрема імунології та фармакології, а саме до способів підвищення імунного статусу та резистентності організму, корекції та нівелювання стресового стану кроликів перед забоєм, і може бути застосована у господарствах з різними формами власності, діяльність яких спрямована на вирощування кроликів, з метою інтенсифікації галузі та покращення якості продукції.

В умовах промислових технологій виробництва тваринної продукції значно зростає фізіологічне та нервеве навантаження на тварин, знижуються їх адаптаційні можливості, збільшуються негативні впливи стресорів. Тому при забої тварин, які переживають сильний емоційний стрес, одержують м'ясо низької якості.

Відомі способи підвищення імунного статусу організму кроликів за допомогою різних засобів годівлі молодняку кроликів (Спосіб годівлі молодняку кролів, Патент України на корисну модель № 8230; Спосіб годівлі молодняку кролів, Патент України на корисну модель №37332; Спосіб підвищення інтенсивності росту молодняку кролів, Патент України на корисну модель № 34300). Запропоновані способи передбачають годівлю кроликів у періоди вирощування 45-60, 61-90 та 91-120 днів повнораціонними комбікормами за рівня сирого протеїну 17; 18 та 19 % у 100 г комбікорму та вмісту обмінної енергії 9,9; 9,4 та 9,9 МДж/кг, відповідно, а також для підвищення інтенсивності росту молодняку у раціон вводять солі заліза, міді, цинку та марганцю.

Недоліками відомих способів є те, що в них не враховуються імунологічні показники перед забоєм кроликів.

Найбільш близькими по суті до корисної моделі, що заявляється, є спосіб підвищення імунного статусу тварин (Никитенко А. М. Повышение иммунобиологической реактивности сельскохозяйственных животных с помощью тканевых препаратов: Метод, указания. - Белая Церковь, 1989. - 24 с).

Заявлений спосіб і прототип мають спільні суттєві ознаки, а саме: включає застосування тканинних препаратів для підвищення імунобіологічної реактивності та метаболізму організму тварин.

Недоліками способу є те, що запропонований препарат містить метали, які можуть погіршувати якість продукції і не враховується передзабійний стрес кролів.

Заявлений спосіб усуває недоліки найближчого аналога і забезпечує підвищення імунної реактивності та корекцію стресового стану кроликів перед забоєм за рахунок введення в їх організм в оптимальній дозі біологічно активних речовин - поліамінів, які містяться в екстракті селезінки, обробленої ультразвуком.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити новий, ефективний спосіб нормалізації функцій клітинного імунітету, активації метаболізму, приросту маси тіла та нівелювання передзабійного стресу кроликів, зручний і економічно вигідний для господарств, в яких він застосовується.

Технічний результат досягають тим, що кроликам за п'ять днів до забою задають з кормом препарат 70° спиртового розчину екстракту селезінки, одержаного із застосуванням ультразвуку, який наносять на комбікорм аерозольним методом з розрахунку 1,4 мл препарату на тварину на добу.

Організм сільськогосподарських тварин постійно піддається впливу різних зовнішніх чинників: технологія виробництва (спосіб утримання, щільність розміщення, величина груп, мікроклімат приміщення, тип і рівень годівлі, біологічна цінність раціонів, способи підготовки й роздавання кормів, якість води); ветеринарно-профілактичні та зоотехнічні заходи (вакцинація, санітарна обробка тварин, зважування тощо). У відповідь на дію несприятливих чинників в організмі тварини розвивається особливий стан адаптації - стрес.

Особливо актуальним це є перед забоєм тварин, коли виникає невідповідність між біологічною природою та фізіологічними можливостями організму. Цей момент у технологічному процесі одержання тваринницької продукції вивчено мало, а засобів його усунення є недостатньо (Журина Н.В. Разработка ДНК-технологии повышения устойчивости сельскохозяйственных животных к стрессу: материалы Международной науч. конференции 3-6 декабря 2008 г. "Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты" / Н.В.Журина, Т.И.Епишко, Л.А.Баранова. - Минск: Центр БГУ, 2008. - С. 185-187; Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс, и профилактика / Ф.З.Меерсон. - М.: Наука, 1981. - 82 с; Головач В.М. Стреси сільськогосподарських тварин і птиці / В.М. Головач, В.В.Снітинський, Г.В.Аксьонова та ін. - К.: "Урожай", 1990.- 143 с).

Технічний результат заявленого способу обумовлений тим, що застосовується препарат, який містить поліаміни (путресцин, спермін та спермідин). При цьому екстракт виготовлений із застосуванням ультразвуку, що забезпечує протимікробну обробку (Грабовский С.С. Экстрагирование биологически активных веществ селезенки с использованием ультразвука

[Текст] / С.С.Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. - Иваново: МАРКОВА А.Д. - 2013. - Вып. 4. -Т. 49. - С. 3-6.).

Путресцин, спермін і спермідин - аліфатичні полікатіони, які належать до біологічно активних амінів, виявлені у всіх живих організмах (у тварин і рослин, у водоростях і грибах, у бактеріях і вірусах).

Поліаміни відіграють важливу роль в організмі під час росту, поділу та диференціювання клітин, беруть участь у синтезі нуклеїнових кислот і протеїнів, у процесі експресії генів, у транспортуванні різних речовин крізь мембрани та в інших функціях мембран. Поліаміни залучені до численних метаболічних процесів, зокрема, до синтезу нуклеїнових кислот і білків, беруть участь у процесах передачі клітинних сигналів, впливають на функціонування мембран.

Серед біологічно активних речовин в екстракті селезінки найбільший вплив на тварин за умов стресу мають поліаміни, що власне і є антистресорами та імуномодуляторами при передзабійному стресі.

Високий внутрішньоклітинний вміст та різноманітність життєво важливих функцій поліамінів дозволяє розглядати їх як низькомолекулярні регулятори клітинного метаболізму, особливо у стресових ситуаціях, утому числі перед забоєм.

Отже, враховуючи біологічну роль поліамінів та їх високий вміст в екстракті селезінки, отриманого методом обробки тканин ультразвуком, застосування невеликих доз препарату нівелює вплив стрес-факторів на організм у передзабійний період, забезпечує підвищення імунітету та покращення якості м'яса кроликів.

При проведенні патентно-інформаційного пошуку авторами і заявником виявлено технічне рішення - спосіб підвищення імунного статусу тварин (Никитенко А.М. Повышение иммунобиологической реактивности сельскохозяйственных животных с помощью тканевых препаратов: Метод. указания. - Белая Церковь, 1989. - 24 с), який містить найбільшу кількість ознак спільних з заявленим і передбачає застосування тканинних препаратів для підвищення імунобіологічної реактивності та метаболізму організму тварин.

У патентній і науково-технічній інформації не знайдено технічних рішень, в яких були б описані відомості про ознаки, що відрізняють заявлений спосіб від прототипу і забезпечують досягнення технічного результату тим, що кроликам за п'ять днів до забою задають з кормом препарат 70° спиртового розчину екстракту селезінки, одержаного із застосуванням ультразвуку, який наносять на комбікорм аерозольним методом з розрахунку 1,4 мл препарату на тварину на добу.

Корисна модель належить до ветеринарної медицини, зокрема імунології та фармакології, а саме до способів підвищення імунного статусу та резистентності організму, корекції та нівелювання стресового стану кроликів перед забоєм, і може бути застосована у господарствах з різними формами власності, діяльність яких спрямована на вирощування кроликів, з метою інтенсифікації галузі та покращення якості продукції.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином: у господарствах, які займаються вирощуванням кроликів з метою підвищення резистентності, імунореактивності та зняття стресу перед забоєм, за п'ять днів до забою тваринам наносили екстракт на комбікорм аерозольним методом (70° спиртовий розчин об'ємом 1,4 мл на кролика на добу).

Для здійснення способу заздалегідь приймають заходи для приготування екстракту шляхом підготовки і витримки сировини 5-6 днів за температури 5-6 °С зачистки і подрібнення селезінки, та екстрагування в екстрагенті (дихлоретані) вісім днів за температури 15-18 °С у співвідношенні 1:2, проведення другої екстракції дихлоретаном у співвідношенні 1: 1 впродовж чотирьох годин, перемішуючи кожні 15 хвилин, відгонки дихлоретану, обробки екстракту спирту петролейним ефіром, відгонки спирту, висолювання спленіну, розведення водного залишку спленіну і консервування, опромінення бактерицидними лампами та стерильна фільтрація і розлив, який відрізняється тим, що сировину (селезінку) додатково обробляють ультразвуком частотою 10-50 Гц впродовж трьох хвилин на третій та восьмий день екстрагування.

Ефективність заявленого способу і його переваги перед прототипом підтверджені прикладом конкретного виконання способу.

Дослід провели на 10 кроликах породи білий велетень, яких утримували на стандартному гранульованому комбікормі фермерського господарства Бузького району Львівської області. Для дослідження було сформовано дві групи тварин 5-місячного віку (по 5 кроликів у кожній).

Як біологічно активні речовини у передзабійний період (за п'ять днів до забою) використовували екстракт селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку (дослідна група). Екстракти наносили на комбікорм аерозольним методом (70° спиртовий розчин екстракту селезінки об'ємом 1,4 мл на тварину на добу). Кроликам контрольної групи таким же чином додавали до корму 70° спиртовий розчин в аналогічному об'ємі.

Утримання, годівлю, догляд та усі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно з Європейською конвенцією "Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей" (Страсбург, 1986 р.) і "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

При використанні екстракту селезінки за п'ять днів перед забоєм у плазмі крові визначали фагоцитарну активність крові. Встановлено, що фагоцитарна активність та фагоцитарне число крові було вищим у кроликів дослідної групи (яким додатково аерозольним методом додавали до основного раціону екстракт селезінки) (таблиця 1).

Таблиця 1

Фагоцитарна активність крові кроликів перед забоєм ($M \pm m$, $n=5$)

Групи	Фагоцитарна активність крові, (%)	Фагоцитарний індекс, (од.)	Фагоцитарне число, (од.)
Дослідна	$46,0 \pm 1,0^*$	$9,05 \pm 0,46$	$4,17 \pm 0,29^*$
Контрольна	$39,67 \pm 2,52$	$8,4 \pm 0,57$	$3,33 \pm 0,32$

Примітка: статистична вірогідність різниць: * - $P \leq 0,05$ порівняно до контролю

Із даних таблиці видно, що використання екстракту селезінки у передзабійний період сприяє збільшенню у крові кроликів нейтрофілів, що активно фагоцитують, підвищує їх поглинальну і перетравну здатність внаслідок чого фагоцитоз стає завершеним.

Аналізуючи отримані дані вмісту окремих фракцій ліпідів у плазмі крові кроликів за умов стресу та при додаванні до раціону біологічно активних речовин екстракту селезінки виявлено, що у тварин досліджуваних груп серед нейтральних ліпідів переважають фосфоліпіди, найменшу кількість встановлено неетерифікованих жирних кислот (НЕЖК) і тригліцеролів. Високий вміст фосфоліпідів, можливо, зумовлений інтенсивнішим використанням не тільки екзогенних, а й ендогенних жирних кислот внаслідок посиленого ліполізу. У плазмі крові кроликів дослідної групи, яким додатково до основного раціону вводили екстракт селезінки, одержаний із застосуванням ультразвуку, вміст холестеролу був на 25 % меншим і становив $7,23 \pm 0,50$ % ($P \leq 0,05$), що є вірогідним порівняно з контролем $9,66 \pm 1,07$ %. Невисокий вміст вільного холестеролу, можливо, пояснюється більшим використанням його у синтезі стероїдних гормонів у кроликів як дослідної, так і контрольної груп. Рівень етерифікованого холестеролу (табл. 2) у плазмі крові кроликів дослідної групи був вірогідно вищим ($P \leq 0,05$).

Таблиця 2

Вміст нейтральних ліпідів у плазмі крові кроликів перед забоєм, % ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Загальні ліпіди	$2,88 \pm 1,53$	$4,89 \pm 2,00$
Фосфоліпіди	$52,87 \pm 2,73$	$50,80 \pm 6,53$
Холестерол	$9,66 \pm 1,07$	$7,23 \pm 0,50^*$
Моно- і дигліцероли	$12,77 \pm 0,48$	$12,57 \pm 4,28$
НЕЖК	$7,29 \pm 2,62$	$6,92 \pm 3,49$
Тригліцероли	$7,47 \pm 0,49$	$8,12 \pm 3,72$
Е. холестерол	$9,94 \pm 1,61$	$14,35 \pm 2,29^*$

Примітка: вірогідні різниці* - $P \leq 0,05$

Встановлено, що перед забоєм вміст моно- і дигліцеролів був практично на однаковому рівні у плазмі крові кроликів досліджуваних груп, що узгоджується з попередніми дослідженнями на курчатах-бройлерах [Грабовський С.С. Вміст окремих класів ліпідів у крові курчат-бройлерів при передзабійному стресі / С.С.Грабовський // Біологія тварин. - 2013. - Т. 15. - №4. - С. 24-31.].

У плазмі крові кроликів досліджуваних груп переважали фосфоліпіди: кардіоліпін, фосфатидна кислота і фосфатидилінозитол та фосфатидилетаноламін, тоді як вміст

лізолецитину та фосфатидилсерину був найменшим. Рівень лізолецитину та фосфатидилсерину у плазмі крові кроликів дослідної групи перед забоєм підвищився майже у три рази порівняно з контролем ($P \leq 0,05$) (таблиця 3). Вміст фосфатидилхоліну у плазмі крові кроликів дослідної групи перед забоєм ($P \leq 0,05$) вказує на пригнічення фосфоліпази Д - ферменту, що каталізує його гідроліз з утворенням фосфатидної кислоти (Corrotte M. Dynamics and function of phospholipase D and phosphatidic acid during phagocytosis / M. Corrotte, S. Chasserot-Golaz, P. Huang et al. // Traffic. - 2006. N 7. P. 365-377; Jenkins G. M. Phospholipase D: a lipid centric review / G. M. Jenkins, M. A. Frohman // Cell Mol. Life Sci. - - 2005. - - N 6. - P. 2305-2316).

Таблиця 3

Вміст фосфоліпідів у плазмі крові кроликів перед забоєм, % ($M \pm m$, $n=5$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Лізолецитин	3,81 \pm 0,30	10,04 \pm 1,05*
Сфінгомелін	8,19 \pm 1,05	9,14 \pm 0,99
Фосфатидилсерин	5,86 \pm 1,12	16,06 \pm 1,47*
Фосфатидилхолін	10,91 \pm 2,44	4,79 \pm 0,84*
Фосфатидилінозитол	16,62 \pm 2,41	9,58 \pm 1,24*
Фосфатидилетаноламін	18,72 \pm 2,56	12,48 \pm 2,08*
Кардіоліпін	19,08 \pm 3,62	18,91 \pm 1,45
Фосфатидна кислота	16,82 \pm 1,73	19,12 \pm 0,51**

Примітка: вірогідні різниці * - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$

Рівень фосфатидилінозитолу знизився майже вдвічі у плазмі крові кроликів дослідної групи ($P < 0,05$) порівняно з контролем. Відомо, що фосфоінозитолі залучені у процеси сигнальної трансдукції та є джерелом таких важливих посередників, як діацилгліцерол, інозитолфосфати та арахідонова кислота (Bance J. E. Phosphatidylserine и Phosphatidyl ethanolamine in mammalian cells: two metabolically related aminophospholipids syndrome / J. E. Bance // J. Lipid Res. - 2008. - № 49. - P. 1377-1387). Вміст фосфатидилетаноламіну зменшився на 33 % ($P \leq 0,05$), а фосфатидної кислоти збільшився - 14 % ($P < 0,01$) у плазмі крові кроликів дослідної групи. Фосфатидна кислота - продукт дії фосфоліпаз С та Д і виступає у клітинному матриксі як вторинний месенджер (Hodgkin M. Diacylglycerols and phosphatidates: which molecular species are intracellular messengers? / M. Hodgkin, T. Pettitt, A. Martin, R. Michell, A. Pemberton, M. Wakelam. - Biochem. Sci. - 1998. - № 23 (6). - P. 387-393).

Таким чином, виявлено вплив біологічно активних речовин, одержаних з екстракту селезінки із застосуванням ультразвуку, при передзабійному стресі на вміст окремих фракцій нейтральних ліпідів та підкласів фосфоліпідів у плазмі крові кроликів.

Запропонований спосіб використання біологічно активних речовини природного походження (екстракт селезінки) дозволяє на завершальній стадії відгодівлі кроликів нівелювати передзабійний стрес та підвищити резистентність організму, і тим самим дає можливість покращити якість м'яса.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб підвищення імунної реактивності та корекції стресового стану кроликів перед забоєм, що включає застосування тканинних препаратів, який **відрізняється** тим, що кроликам за п'ять днів до забою задають з кормом препарат 70° спиртового розчину екстракту селезінки, одержаного із застосуванням ультразвуку, якийносять на комбікорм аерозольним методом із розрахунку 1,4 мл препарату на тварину на добу.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601